

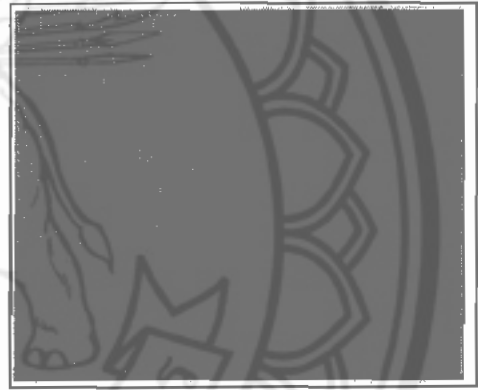
บทที่ 2
การปฐพีศน์วรรณกรรม

ข้อมูลทั่วไปของ brine shrimp (*Artemia salina* Leach.)⁽³⁾

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Class : Crustacea
Subclass : Branchiopoda
Order : Anostraca

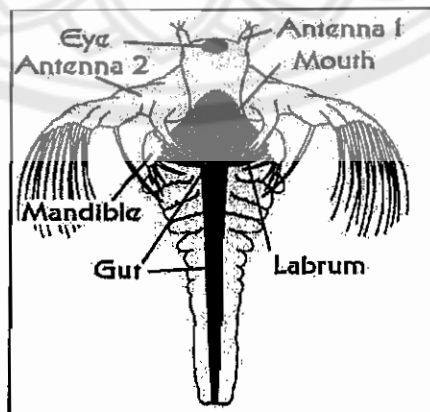


(ก)



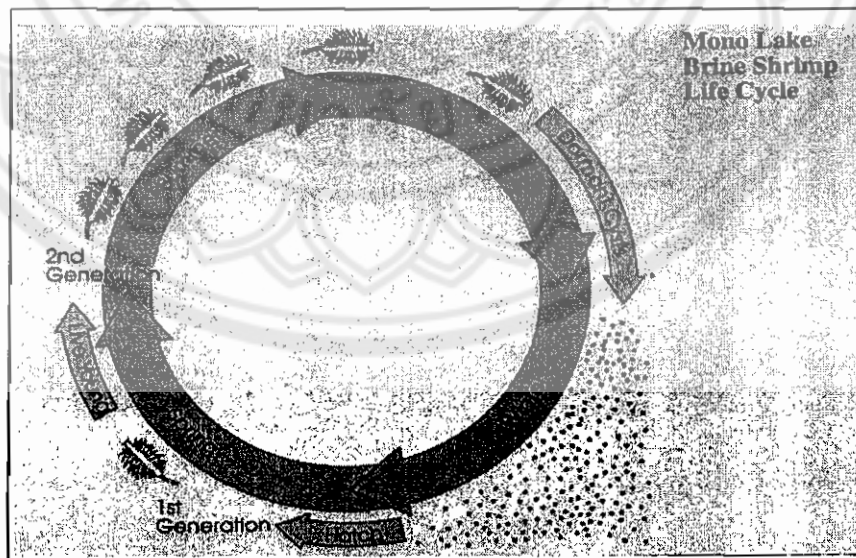
(ข)

รูปที่ 2-1 Brine shrimp (ก) ตัวอ่อนระยะแรก (ข) ตัวเต็มวัย



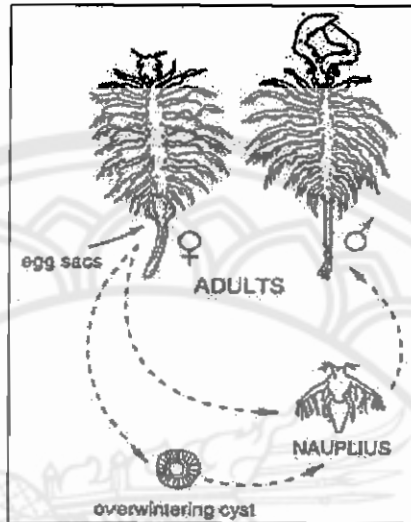
รูปที่ 2-2 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของตัวอ่อน brine shrimp

Brine shrimp หรือที่เรียกว่าไรทะเลหรือ ไรสีน้ำตาล จัดเป็นสัตว์จำพวกกุ้ง พบได้ในน้ำกร่อยจนถึงน้ำเค็ม มีความทนทานต่อความเค็มได้ในช่วงกว้าง (10-220 กรัม/ลิตร) ทำให้ง่ายต่อการเลี้ยงและการนำมาศึกษา มีวงจรชีวิตดังรูปที่ 2-3 เมื่ออยู่ในสภาวะน้ำเค็มจัด brine shrimp จะดำรงชีวิตอย่างแก่งแย่งแข่งขันหรืออยู่ในฐานะผู้ล่า จึงทำให้สามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้อย่างมากมายในแหล่งน้ำเค็ม ไซของ brine shrimp มีสีน้ำตาลขนาดเล็กประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ถ้าอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ไซเหล่านี้จะอยู่ในสภาวะพักและไม่มี การเจริญเติบโต สามารถทนอยู่ในสภาวะที่ไม่มีน้ำได้เป็นเวลานาน เมื่อนำไซ brine shrimp ที่แห้งมาแช่ในน้ำทะเล ไซจะเริ่มมีการดูดน้ำและเริ่มกระบวนการ embryogenesis และเสร็จสิ้นกระบวนการภายหลังจากที่ไซแช่อยู่ในน้ำเป็นเวลา 16-36 ชั่วโมง โดย embryo จะออกมาจากเปลือกไซ แต่ยังคงอยู่ใน hatching membrane แต่ไม่นานนักก็จะมีการพัฒนาของ antennae และ mandibles แล้วออกมาจาก hatching membrane อยู่ในสภาวะ active และเป็นตัวอ่อนที่ว่ายน้ำได้อย่างอิสระ ในการลอกคราบครั้งที่ 1 หรือ ครั้งที่ 2 ตัวอ่อนจะมีสีแดงเนื่องจากยังมีไซแดงอยู่ในระยะนี้ ตัวอ่อนจะมีระยะยง 3 คู่ ได้แก่ antennae, antennulae และ mandibles โดยที่ antennae จะเคลื่อนไหวตลอดเวลา ตัวอ่อนจะมีการเจริญเติบโต ถึง 15 ระยะ และสีแดงจะยังคงอยู่ได้นานถึง 3 วัน แสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนสามารถมีชีวิตอยู่รอดนานถึง 72 ชั่วโมง โดยไซไซแดงเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียว ในการเลี้ยงตัวอ่อนจึงจำเป็นต้องให้อีستหรือ สาหร่ายเซลล์เดียวเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนด้วย เมื่ออายุได้ 20-35 วัน brine shrimp จะมีความยาวของลำตัวประมาณ 8.5-9.5 มิลลิเมตร และมีเพศอย่างสมบูรณ์ แต่อย่างไรก็ตามความยาวของลำตัว brine shrimp อาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับระดับความเค็มของน้ำ การกินอาหารของตัวเต็มวัยจะอาศัยการพัดของกระแสน้ำและการเคลื่อนไหวเป็นจังหวะของขาที่ขงอกทั้ง 11 คู่ เพื่อกวาดให้อาหารเคลื่อนที่ไปยังส่วนหัว ดังนั้นจึงสามารถสังเกตการมีชีวิตของ brine shrimp โดยดูการเคลื่อนไหวของระยางค์บางส่วนได้⁽³⁾



รูปที่ 2-3 วงจรชีวิตของ brine shrimp

การสืบพันธุ์ของ brine shrimp มีทั้งการออกลูกเป็นไข่ และการออกลูกเป็นตัว ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณ chlorophyll ในอาหารและปริมาณออกซิเจนในสิ่งแวดล้อม ในสภาวะออกซิเจนต่ำและปริมาณ chlorophyll ในอาหารสูง brine shrimp ตัวเมียจะออกลูกเป็น overwintering cyst



รูปที่ 2-4 แสดงลักษณะการสืบพันธุ์ของ brine shrimp

ความสำคัญทางเภสัชวิทยา ⁽³⁻⁵⁾

การศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่พบในพืชหรือสารสกัดจากพืชในปัจจุบันมีวิธีการทดสอบต่าง ๆ มากมาย เช่น มีการนำเอาสัตว์ อวัยวะ หรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ มาใช้ในการทดลอง แต่วิธีการเหล่านี้มักมีความซับซ้อนและมีราคาสูง จึงมีผู้พยายามคิดค้นวิธีการทดสอบที่รวดเร็ว ง่าย และเหมาะสม

การใช้ brine shrimp ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือที่เรียกว่า Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) จัดเป็นการทดสอบฤทธิ์ของสารในเบื้องต้น (primary screening bioassays) ซึ่งเป็นวิธีการ ที่ง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ผู้ทดสอบไม่ต้องมีความชำนาญมากเป็นพิเศษ รวดเร็ว ต้นทุนต่ำ และใช้สารในการทดสอบน้อย มักจะใช้ทดสอบควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากพืชและสารสกัดจากสิ่งมีชีวิตในทะเล นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ในการศึกษาด้านต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวางเช่น การตรวจสอบสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลง การใช้ brine shrimp ในการศึกษาด้านสิ่งแวดล้อม เช่น มลพิษทางอากาศ เป็นต้น

ลักษณะของพืชสมุนไพร⁽⁶⁾

1. พืชสมุนไพรวงศ์ Annonaceae

พืชที่อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นพันธุ์พืชที่เป็นไม้เนื้อแข็งมีทั้งไม้ยืนต้น ไม้พุ่ม และไม้เลื้อย ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ขอบใบเรียบ โคนก้านใบโค้ง แตกออกสองข้างเรียงสลับในระนาบเดียวกัน ไม่มีหูใบ (stipule) ดอก regular มีสองเพศ (bisexual flower) มีกลีบดอก (perianth) จัดเรียงเป็นวงค์ ๆ ละ 3 กลีบ เกสรตัวผู้ (stamen) มีจำนวนมาก (numerous) ก้านเกสรสั้น รังไข่ (ovary) เป็นแบบ superior แต่ละรังไข่เกิดจาก 1 carpel ซึ่งเป็นแบบ apocarpus ผล เป็นผลกลุ่ม (aggregate fruit) ผลบางชนิดอัดอยู่กันแน่น ทำให้ดูคล้ายกับเป็นผลใหญ่ผลเดี่ยว เช่น ผลน้อยหน่า ผลบางชนิดไม่อัดอยู่กันแน่นแยกเป็นผลเล็ก ๆ เช่น ผลกระดังงา การเวก เมล็ดมีขนาดใหญ่ มีวุ้นหุ้มเมล็ดแข็งและเป็นมัน

ตัวอย่างพืชสมุนไพรไทยที่อยู่ในวงศ์ Annonaceae แสดงดังตารางที่ 2-1 จากการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic activity) ของพืชที่อยู่ในวงศ์ Annonaceae โดยใช้วิธี brine shrimp lethality test พบว่า มีพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ดังกล่าว เช่น สารสกัดเมธานอลจากเมล็ดแห้งของ *Annona muricata*, สารในกลุ่ม acetogenins ที่สกัดจากเปลือกต้นของ *Annona squamosa* ด้วยเอธานอล, สารสกัดจากเมล็ดแห้งของ *Artabotrys siamensis* (*Annona purpurea*) ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเมธานอลในอัตราส่วน 1:1, สารสกัดเอธานอล จากเปลือกต้นของ *Goniothalamus giganteus* มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ของ brine shrimp

2. พืชสมุนไพรวงศ์ Meliaceae

เป็นพืชสมุนไพรที่มีลักษณะนิสัยเป็นไม้ยืนต้น (tree) และเป็นไม้พุ่ม (shrub) ใบเรียงตัวแบบขนนก (pinnate) โคนก้านใบโค้งพองออกสังเกตเห็นได้ชัดเจน ดอกเป็นช่อแบบ panicle ออกตามซอกระหว่างก้านใบกับกิ่ง ดอก regular ดอกแยกเพศ (unisexual flower) ในต้นหนึ่งอาจมีดอกเพศเดียวหรือมีทั้งสองเพศ กลีบดอกชั้นนอก (sepal) และกลีบดอกชั้นใน (petal) มีจำนวน 4-5 ก้านชูเกสรตัวผู้ (filament) รวมกันเป็น column รังไข่ (ovary) แบบ superior มี 3-5 cell ผลเป็นแบบ berry หรือ drupe เมล็ดมีปีก ซึ่งมีพืชสมุนไพร เช่น สะเดา กระท่อน มะฮอกกานี เป็นต้น

ตัวอย่างพืชสมุนไพรไทยที่อยู่ในวงศ์ Meliaceae แสดงดังตารางที่ 2-1 จากการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic activity) ของพืชที่อยู่ในวงศ์ Meliaceae โดยใช้วิธี brine shrimp lethality test พบว่า มีพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ดังกล่าว เช่น สารในกลุ่ม limonoids ที่สกัดจากรากของ *Melia azedarach*, สารในกลุ่ม triterpene ที่สกัดจากรากเปลือกของ *Melia volkensii* มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ของ brine shrimp

ตารางที่ 2-1 แสดงฤทธิ์ cytotoxic และ brine shrimp lethality ของพืชสมุนไพรไทยในวงศ์ Annonaceae และวงศ์ Meliaceae

วงศ์	พืชสมุนไพร ⁽⁷⁾	ชื่อวิทยาศาสตร์ ⁽⁷⁾	Cytotoxicity/ Part used	BSLT/ Part used
Annonaceae	จำปูน	<i>Anaxagorea javanica</i>	-	-
	ทุเรียนเทศ	<i>Annona muricata</i>	R ₈ /เมล็ด	R ₈ /เมล็ด
	น้อยโหน่ง	<i>Annona reticulata</i>	R ₈ /เมล็ด	-
	น้อยหน่า	<i>Annona squamosa</i>	R ₁₀ /เปลือกต้น	R ₁₀ /เปลือกต้น
	นมวัว	<i>Anomianthus dulcis</i>	-	-
	นมขะนี	<i>Artabotrys burmanicus</i>	-	-
	การเวก	<i>Artabotrys siamensis</i> (<i>Annona purpurea</i>)	R ₁₁ /เมล็ด	R ₁₁ /เมล็ด
	นาวน้ำ	<i>Artabotrys spinosus</i>	-	-
	กำย (อากาศไก่อ)	<i>Artabotrys suaveolens</i>	-	-
	สะบันงาเครือ	<i>Artabotrys vanpruzil</i>	-	-
	กระดังงา สงขลา	<i>Cananga fruticosa</i>	-	-
	สะแกแสง	<i>Cananga latifolia</i>	-	-
	กระดังงาไทย	<i>Cananga odorata</i>	R ₁₂ /ผล	-
	บุหง	<i>Dasymaschalon blumei</i> var. <i>wallichii</i> (Hook f. and Thomson)	-	-
	บุหงก้านยาว	<i>Dasymaschalon filipes</i>	-	-
	โปรงกิว	<i>Dasymaschalon</i> <i>lomentaceum</i>	-	-
	ติงฟ้า	<i>Dasymaschalon</i> <i>macrocalyx</i>	-	-
	สะบันงาเกลียว	<i>Dasymaschalon</i> <i>sootepense</i>	-	-
	สายหยุด	<i>Desmos chinensis</i>	-	-
	สาเหล้ม	<i>Desmos cochinchinensis</i>	-	-
	หนวดปลาชุก	<i>Desmos crinitus</i>	-	-
	ตีนตั้ง	<i>Desmos dumosus</i>	-	-
	สายหยุดใหญ่	<i>Desmos macrocarpus</i>	-	-

ตารางที่ 2-1 ต่อ

วงศ์	พืชสมุนไพร ⁽⁷⁾	ชื่อวิทยาศาสตร์ ⁽⁷⁾	Cytotoxicity/ Part used	BSLT/ Part used
Annonaceae	นมแมวป่า	<i>Ellepeiospis cherrvensis</i>	-	-
	หนังหนาดอก ใหญ่	<i>Enicosanthum membranaceum</i>	-	-
	บุหงาเชิง	<i>Friesolielsia desmoides</i>	-	-
	ปาหนันช้าง	<i>Goniothalamus giganteus</i>	R ₁₃ /เปลือกต้น	R ₁₃ /เปลือกต้น
	สะบันงาป่า	<i>Goniothalamus griffithii</i>	-	-
	ปาหนันพู	<i>Goniothalamus malayanus</i>	-	-
	ข้าวหลาม	<i>Goniothalamus marcanii</i>	R ₁₄ /เปลือกต้น	-
	ยายปลวก	<i>Meiogyne monosperma</i>	-	-
	นมควาย	<i>Melodorum hahnii</i>	-	-
	นมแมว	<i>Melodorum siamense</i>	-	-
	หัวเต่า	<i>Mezzettia parviflora</i>	-	-
	จิงจาบ	<i>Milusa mollis</i>	-	-
	จิ้งหิ้นเหลือง	<i>Milusa sparsior</i>	-	-
	หมาดำ	<i>Milusa thorelii</i>	-	-
	กั้งขี้	<i>Mitrephora collinsae</i>	-	-
	สังหยู	<i>Mitrephora javanica</i>	-	-
	ปอขี้แฮด	<i>Mitrephora maingayi</i>	-	-
	ฝางโตน	<i>Polyalthia asteriella</i>	-	-
	หลังโกง	<i>Polyalthia bullata</i>	-	-
	จำปาหอม	<i>Polyalthia cauliflora</i>	-	-
	กะเจียน	<i>Polyalthia cerasoides</i>	-	-
	กล้วยเต่า	<i>Polyalthia debilis</i>	-	-
	ตารา	<i>Polyalthia glauca</i>	-	-
	กระดังงาป่า	<i>Polyalthia lateriflora</i>	-	-
	อโศกเซนคา เบรียล	<i>Polyalthia longifolia</i>	-	-
	ยางดง	<i>Polyalthia obtusa</i>	-	-
	กำลั่งวัวเกลิง	<i>Polyalthia parviflora</i>	-	-
	กล้วยไม้	<i>Polyalthia sclerophylla</i>	-	-
	กลิ้งกล่อม	<i>Polyalthia suberosa</i>	-	-

ตารางที่ 2-1 ต่อ

วงศ์	พืชสมุนไพร ⁽⁷⁾	ชื่อวิทยาศาสตร์ ⁽⁷⁾	Cytotoxicity/ Part used	BSLT/ Part used
Annonaceae	ยางโชน	<i>Polyalthia viridis</i>	-	-
	ลำดวน	<i>Popowia aberrans</i> <i>Melodorum fruticosum</i>	R ₁₅ /ผล	-
	ตับเต่า	<i>Popowia bialata</i>	-	-
	ลดาดง	<i>Popowia spectabilis</i>	-	-
	เปล้า	<i>Pyramidanthe prismatica</i>	-	-
	กระโมกเขา	<i>Sageraca elliptica</i>	-	-
	จำงาอะ	<i>Stelechocarpus cauliflorus</i>	-	-
	พืพวนน้อย	<i>Uveria rufa</i>	-	-
	ทุเรียนบก	<i>Xylopia ferruginea</i>	-	-
Meliaceae	ประยงค์	<i>Aglaiia adorata</i>	R ₁₆ /ใบ	-
	สังเคียดกล้อง	<i>Aglaiia argentea</i>	R ₁₇ /ใบ	-
	ประยงค์ใบใหญ่	<i>Aglaiia chaudocensis</i>	-	-
	กลางสาด	<i>Aglaiia domestica</i>	-	-
	กระดุกเขียด	<i>Aglaiia hoensis</i>	-	-
	จันทร์ชะมด	<i>Aglaiia silvestris</i>	-	-
	แดงน้ำ	<i>Amoora cucullata</i>	-	-
	ตาเสือ	<i>Aphamamixis polystachya</i>	-	-
	สะเดาอินเดีย	<i>Azadirachta indica</i>	R ₁₈ /ใบสด	-
	สะเดาบ้าน	<i>Azadirachta indica</i> var. <i>siamensis</i>	-	-
	ยมใหญ่	<i>Chisocheton ceramicus</i>	-	-
	ยมมะกอก	<i>Chisocheton cumingianus</i>	-	-
	หมามุ่ยข้าง	<i>Chisocheton penduliflorus</i>	-	-
	ยมยอด	<i>Chisocheton pentandrus</i>	-	-
	ยมหิน	<i>Chukrasia velutina</i>	-	-

ตารางที่ 2-1 ต่อ

วงศ์	พืชสมุนไพร ⁽⁷⁾	ชื่อวิทยาศาสตร์ ⁽⁷⁾	Cytotoxicity/ Part used	BSLT/ Part used
Meliaceae	แพะพาน	<i>Cipadessa baccifera</i>	-	-
	ตาเลื้อขาว	<i>Dysoxylum andamanicum</i>	-	-
	จางจีด	<i>Heynea trijuga</i>	-	-
	เลี่ยน	<i>Melia azedarach</i>	R ₁₉ /เปลือกกราก	-
	กระท้อน	<i>Sandoricum indicum</i>	R ₂₀ /เปลือกต้น	-
	มะฮอกกานี	<i>Swietenia macrophylla</i>	-	-
	ใบใหญ่			
	ยมหอม	<i>Toona ciliata</i>	-	-
	สุเหรียน	<i>Toona sureni</i>	-	-
	มูกเตี้ย	<i>Turraea pubescens</i>	-	-
	แก้วลาว	<i>Walsura pinnata</i>	-	-
	ซ้อาย	<i>Walsura robusta</i>	-	-
ตะบัน	<i>Xylocarpus gangeticus</i>	-	-	

ตารางที่ 2-2 แสดงสารสำคัญ, ED₅₀, LC₅₀ ของพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ cytotoxic และ brine shrimp lethality ที่ได้มีการศึกษาวิจัยไว้แล้ว (พืชสมุนไพรในตารางเป็นพืชที่ทำการวิจัยในครั้งนี้)

ชื่อพืช (ส่วนที่ใช้)	สารสำคัญ	activity						BSLT LC ₅₀ (µg/ml)
		Cytotoxicity ED ₅₀ (µg/ml)						
น้อยหน่า ⁽¹⁰⁾ (เปลือกต้น)	4-deoxyannonreticuin	A-549	MCF-7	HT-29	A-498	PC-3	PACA 2	8.93
		3.87	2.23	1.69	2.23	2.66	2.88	
	cis-4-deoxyannonreti cuin	1.99	1.74	1.42	1.84	2.08	1.09	6.75
	2,4-cis and trans)- squamoxinone	1.89	1.71	1.44	1.48	2.22	0.0045	2.70
สะเดา อินเดียน ⁽¹⁸⁾ (ใบสด)		Fourth instar larvae of the mosquito (ppm)						-
	22,23dihydranimocinol	60						
	desfurano-6-alpha-hy droxyazadiradione	43						

ตารางที่ 2-2 (ต่อ)

ชื่อพืช	สารสำคัญ	activity					BSLT LC ₅₀ (µg/ml)
		cytotoxicity IC ₅₀ (µg/ml)					
สะเดาบ้าน	-	-					-
มะฮอกกานี ใบใหญ่	-	-					-
เลี่ยน ⁽¹⁹⁾ (เปลือกรก)	1-tigloyl-3,20-diacetyl- 11-methoxymeliacarpinin	P388					-
		100.0					
		3-tigloyl-1,20-diacetyl-11- methoxymeliacarpinin					
		48.0					
		1.5					
เลี่ยน (รก)	1-methacrylyl-3-11- methoxymeliacarpinin	1-deoxy-3-methacrylyl-11- methoxy-meliacarpinin					R ₂₁
		47.0					
		1-cinnamoyl-3-acetyl-11- methoxymeliacarpinin					
		10.5					
		-					
เลี่ยน (รก)	1-methacrylyl-3-11- methoxymeliacarpinin	1-(2-methylpropanoyl)-3- acetyl-11- methoxymeliacarpinin					R ₂₁
		-					
		meliacarpinin D					
		melianin B					
		2 beta,3beta-dihydroxy-5 alpha-pregn-17(20)-(Z)-en- 16-one					
กระท้อน ⁽²⁰⁾ (เปลือกต้น)		P388/S	P388/ VCR(-)	P388/ VCR(+)	P388/ ADR(-)	P388/ ADR(+)	-
	triterpenoid acids	16	10	9	9	9	-
	triterpenoid acids	>25	16	16	18	>25	-
	triterpenoid acids	>25	>25	>25	>25	>25	-
	triterpenoids	>25	>25	>25	>25	>25	-

ตารางที่ 2-2 ต่อ

ชื่อพืช	สารสำคัญ	activity					BSLT LC ₅₀ (µg/ml)
		cytotoxicity ED ₅₀ (µg/ml)					
กระท้อน ⁽²⁰⁾ (เปลือกต้น)		P388/S	P388/ VCR(-)	P388/ VCR(+)	P388/ ADR(-)	P388/ ADR(+)	-
	triterpenoids	>25	>25	>25	>25	>25	-
	triterpenoids	>25	25	16	>25	>25	-
	triterpenoids	>25	12	12	>25	>25	-
	triterpenoids	>25	>25	>25	>25	>25	-

- = ยังไม่พบว่ามีฤทธิ์ cytotoxic และ brine shrimp lethality test

* = Insecticidal Activity

