ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดใบเชอร์รี (*Malpighia glabra* L.)

Cytotoxic and antimicrobial activities of the cherry leaf extract (*Malpighia glabra* L.)

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล

Vatcharaporn Prapasanobol

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เพชรบุรี 76000

Division of chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi 76000

Corresponding author; E-mail : vatcharaporn.pra@mail.pbru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 3 ชนิด (มะเร็งช่องปากชนิด KB มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และมะเร็งปอดชนิด NCI-H 187) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *Bacillus cereus* และฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* ของสารสกัดเฮกเซน เอทิล อะซิเตตและเมทานอลจากใบเชอร์รี พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตที่ความเข้มข้น 50.0 μg/ml แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB และ NCI-H187 ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นที่การยับยั้งร้อยละ 14.84 และ 11.54 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตต มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่ความเข้มข้น 50.0 μg/ml ในขณะที่สารสกัดเฮกเซน และเมทานอล ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพทั้งเชื้อ *B. cereus* และ *C. albicans* พบว่าสารสกัดทุกชนิดของใบเชอร์รีไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพทั้งสองชนิด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ จากสารสกัดใบเชอร์รีเพิ่มเติม จากข้อมูลที่ได้ในงานวิจัยนี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ทางยาจากใบเชอร์รีและพืชชนิดอื่นต่อไป

คำสำคัญ : ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านจุลชีพ เชอร์รี

Abstract

This research aims to study the cytotoxicity effect of hexane, ethyl acetate and methanol extracted from cherry on three types of human cancer cells (KB oral cancer, MCF-7 breast cancer

and NCI-H187 lung cancer cells). In addition, antibacterial activity against *Bacillus cereus* and antifungal activity against *Candida albicans* were also investigated. The results indicated that the ethyl acetate extract at 50.0 μg/ml showed inhibition percentage at 14.84 to KB oral cancer cell and 11.54 to small cell lung cancer (NCI-H187). This extract was more activity than the others. Moreover, the ethyl acetate extract was toxic to the Vero cells whereas, the hexane and methanol extract were non toxicity to cancer and Vero cells. Although, antimicrobial activity against *B. cereus* and *C. albicans* were not shown in both microorganisms, study on the other bioactivities of cherry extract should be further done. The data obtained from this study can be used as a scientific basis to guide the use of cherry leaf and other plants as medical plant.

Keywords: cytotoxic, antimicrobial, Cherry, *Malpighia glabra* L.

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากการที่เซลล์ปกติเกิดการกลายพันธุ์ระดับยีนและแปรสภาพกลายเป็นเซลล์มะเร็ง โดยมีลักษณะที่สำคัญคือเซลล์มีการแบ่งตัวอย่างควบคุมไม่ได้ ลุกลามไปยังเนื้อเยื่ออื่นที่อยู่รอบข้างและแพร่กระจายไปทั่วร่างกายได้ ซึ่งจากลักษณะต่าง ๆ นี้ทำให้นักวิจัยส่วนใหญ่พยายามศึกษาหาแนวทางในการรักษาโรคมะเร็งอย่างต่อเนื่อง แม้ว่าสารเคมีบำบัดส่วนใหญ่ที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันจะมีผลยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งในขั้นตอนต่าง ๆ ได้แต่ก็ยังไม่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งให้หมดไปได้ นอกจากนี้ยังอาจเกิดผลข้างเคียง เช่น การกดไขกระดูก เป็นต้น ดังนั้นการแสวงหาสารชนิดใหม่จากแหล่งต่างๆเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งจึงมีความจำเป็นอย่างมาก พืชสมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะเข้ามามีบทบาทในการรักษาโรคมะเร็งได้ ปัจจุบันยังมีความพยายามที่จะค้นหาสารชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติซึ่งนับว่าเป็นแหล่งที่สำคัญที่สืบเนื่องจากข้อมูลภูมิปัญญาพื้นบ้าน การศึกษาทดสอบพืชสมุนไพรอย่างมีระบบอาจนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพได้ [1] การที่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ (antibiotics) เนื่องจากการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่จำเพาะเจาะจง [2] นำมาสู่การรักษาที่ผิดพลาดและสถานะของเชื้อโรคซับซ้อนขึ้น เพื่อที่จะเอาชนะสิ่งที่เกิดขึ้นทำให้มีความจำเป็นจะต้องพัฒนาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่และปลอดภัยมาใช้ทดแทนยาสังเคราะห์ เนื่องจากสารต้านจุลชีพจากพืชไม่เกิดผลข้างเคียงและมีประสิทธิภาพดีกว่าเพื่อรักษาการติดเชื้อ [3] เชื้อรา Candida ที่ก่อโรคในมนุษย์มีประมาณ 11 สปีชีส์ และที่พบเป็นสาเหตุหลักของโรคติดเชื้อคือชนิด *Candida albicans* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบในคนปกติที่บริเวณเยื่อบุในช่องปาก ลำคอ ลำไส้และอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศหญิง โดยจะไม่ก่อโรคในผู้ที่มีสุขภาพดีแต่ในผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกัน

รังสีบำบัด เคมีบำบัดและผู้ที่ใช้สายสวนเป็นเวลานาน รวมถึงผู้ป่วยโรคเอดส์ สามารถก่อให้เกิดโรคได้กับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายและเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสในโรงพยาบาลในกลุ่มอาการของโรค candidiasis [4,5] การรักษาโรคติดเชื้อ *C. albicans* ทำได้โดยการใช้ยาต้านเชื้อรา ซึ่งยาต้านเชื้อราที่ใช้ ได้แก่ amphotericin B flucytocine ketoconazole miconazole และ nystatin เป็นต้น แต่การใช้ยาต้านเชื้อราในการรักษามีข้อจำกัดคือต้องใช้เวลานานและยาต้านเชื้อราส่วนใหญ่มีผลข้างเคียงสูงและราคาแพง นอกจากนี้พบว่าหากรักษาด้วยยาเคมีต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานอาจทำให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาและส่งผลให้เกิดการติดเชื้อซ้ำส่งผลข้างเคียงต่อตับและไต [6] จึงมีความพยายามที่จะหาแนวทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคติดเชื้อรา *C. albicans* ด้วยสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เช่น มีรายงานการวิจัยที่พบว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดของประเทศอิหร่านมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [7] มีการยอมรับกันอย่างกว้างขวางถึงความจำเป็นที่จะพัฒนาสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่เพื่อรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราซึ่งมักจะมีการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพมาตรฐานเพิ่มขึ้น [8]

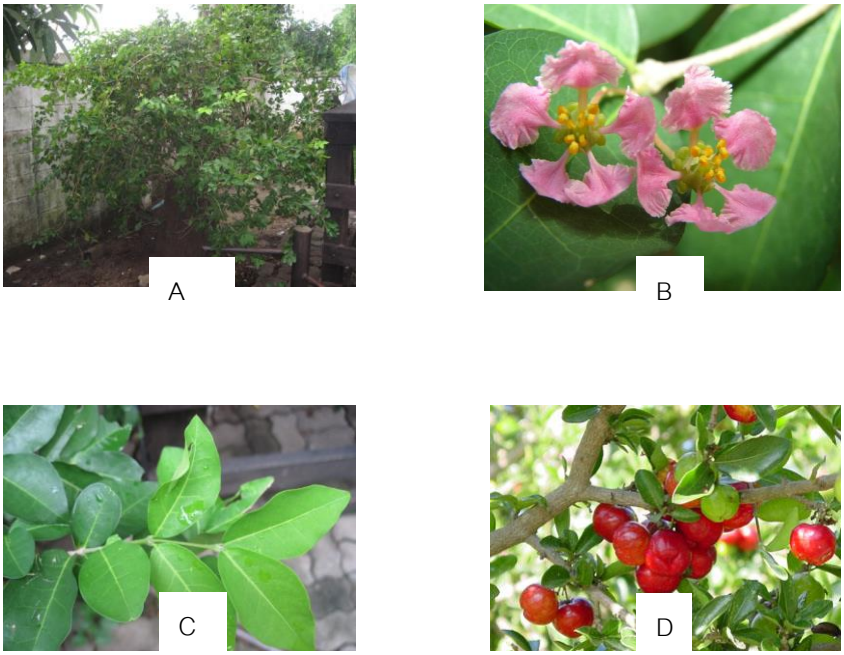

Figure 1 *Malpighia glabra* L. whole plant: A, flowers: B, leaves: C and fruit: D

เชอร์รี (Cherry) เป็นพืชในวงศ์ Malpighiaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Malpighia glabra* L. (Figure 1) ผลเชอร์รีมีวิตามินซี แคโรทีน (carotene) ไทอะมีน (thiamin) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอะซิน (niacin) โปรตีน ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัสและแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ และมีการ

นำเชอร์รีไปใช้ประโยชน์ในการรักษาไข้หวัด โรคปอด โรคตับ ความผิดปกติของถุงน้ำดีและใช้รักษาโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคตับอักเสบ อีสุกอีใสและโปลิโอ [9] นอกจากนี้เชอร์รียังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราได้ [10] ผลเชอร์รีเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่ดีอาจเนื่องจากมีปริมาณวิตามินซีสูง (1,000-4,500 mg/ 100 g of pulp) ดังนั้นจึงมีการผลิตเป็นน้ำผลไม้ ผลิตภัณฑ์ด้านเภสัชวิทยา ด้านอาหารและผลิตภัณฑ์ในรูปของวิตามินซีอย่างแพร่หลาย [11] จากที่กล่าวมาจะเห็นว่าส่วนใหญ่มีการศึกษาและใช้ประโยชน์จากส่วนผลของเชอร์รี แต่การศึกษาวิจัยและการใช้ประโยชน์จากส่วนใบเชอร์รียังมีน้อยมาก กลุ่มผู้วิจัยเคยศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากใบเชอร์รี พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบเชอร์รีแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีที่สุด (IC_{50} 0.104 mg/ml) และมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงที่สุด (0.1006 ± 0.002 mg GAE /g ของสารสกัด) แม้ว่าสารสกัดชนิดต่าง ๆ ของใบเชอร์รีจะแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดแกลลิก (IC_{50} 0.0016 mg/ml) ก็ตาม และพบว่าสารสกัดจากใบเชอร์รีมีสารหลากหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ซาโปนิน คูมาริน สเตียร์รอยด์ แทนนินและฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ (แอนทราควิโนนไกลโคไซด์และ ไซยาโนจีนิคไกลโคไซด์) และแอลคาลอยด์ [12] สิ่งที่น่าสนใจคือสารแทนนินและฟีนอลิกที่พบในสารสกัดเมทานอลซึ่งจัดเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย [13,14] ด้วยข้อมูลดังกล่าวข้างต้นที่พบว่ามีกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นที่น่าสนใจและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย แต่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพในส่วนของใบน้อยมาก ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบเชอร์รี ได้แก่ ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 3 ชนิด ได้แก่ มะเร็งช่องปากชนิด KB มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และมะเร็งปอดชนิด NCI-H187 รวมถึงศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *Bacillus cereus* และฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* เพื่อเป็นข้อมูลทางด้านวิทยาศาสตร์สนับสนุนการใช้พืชสมุนไพรในการค้นหาทางเลือกใหม่ในการรักษาโรค ซึ่งหากสารสกัดแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีอาจนำไปประยุกต์ใช้งานจริงได้ในการรักษาเพื่อเป็นทางเลือกหรือทดแทนการใช้สารเคมีต่อไปในอนาคต

วิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี อุปกรณ์สำคัญที่ใช้ในการศึกษา เช่น เครื่องระเหยลดความดัน (rotary evaporator, Buchi B-500, สวิตเซอร์แลนด์) สารเคมีประเภทตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับการสกัดใช้ชนิด analytical grade

การเตรียมสารสกัดพืชตัวอย่าง ใบเชอร์รีเก็บจากบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี เดือนมกราคม พ.ศ. 2557 นำตัวอย่างใบเชอร์รีล้างทำความสะอาด หั่นให้มีขนาดเล็กและผึ่งลมให้แห้ง อบที่อุณหภูมิ 50-60°C บดให้ละเอียด เตรียมสารสกัดหยาบของใบเชอร์รีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล โดยชั่งใบเชอร์รีแห้งที่บดละเอียดแล้วน้ำหนัก 500 g นำมาแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนในโหลแก้ว

โดยใส่เฮกเซนให้ท่วมใบเชอร์รี่เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรอง นำสารสกัดมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยลดความดัน นำสารสกัดที่ได้แต่ละครั้งมารวมกันจะได้สารสกัดเฮกเซนใบเชอร์รี หลังจากนั้นนำกากส่วนที่เหลือจากการกรองมาแช่ตัวทำละลายเฮกเซนอีก 2 ครั้ง ทำการทดลองซ้ำดังข้างต้น เมื่อแช่ใบเชอร์รีในเฮกเซนครบ 3 ครั้ง จึงเปลี่ยนเป็นตัวทำละลายเป็นเอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ทดสอบโดยห้องปฏิบัติการศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) มีวิธีการดังนี้

ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดใช้วิธี Resazurin microplate assay (REMA) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ O' Brien และคณะ [15] เป็นการวัดสัญญาณการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์โดยใช้เครื่อง SpectraMax M5 multi-detection microplate reader (Molecular Devices, USA) และรายงานผลเป็น % inhibition ซึ่งคำนวณได้จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [1-(FU_T/FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T และ FU_C คือค่าเฉลี่ยของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์จากสภาวะที่เติมและไม่ได้เติมสารสกัดซึ่งเป็นการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในเบื้องต้นของสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากันคือ 50.0 μg/ml และเซลล์มะเร็งที่ใช้ทดสอบได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB (epidermoid carcinoma of oral cavity) เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 (breast adenocarcinoma) และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 (small cell lung cancer) โดยใช้ 0.5% v/v Dimethylsulfoxide (DMSO) เป็นชุดควบคุมผลลบและใช้ยา Ellipticine (5.0 μg/ml) Tamoxifen (10.0 μg/ml) และ Doxorubicin (0.10 μg/ml) เป็นชุดควบคุมผลบวก โดยทำการแปลผลดังนี้ ถ้าสามารถยับยั้งเซลล์ได้น้อยกว่าร้อยละ 50 แสดงว่าไม่มีฤทธิ์แต่ถ้าสามารถยับยั้งได้มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50 แสดงว่ามีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดใช้วิธี Green fluorescent protein (GFP) [16] โดยใช้ 0.5%v/v Dimethylsulfoxide (DMSO) เป็นชุดควบคุมผลลบและใช้ยา Ellipticine (1.0 μg/ml) เป็นชุดควบคุมผลบวก โดยทำการแปลผลดังนี้ ถ้าสามารถยับยั้งเซลล์ได้น้อยกว่าร้อยละ 50 แสดงว่าไม่มีฤทธิ์แต่ถ้าสามารถยับยั้งเซลล์ได้มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50 แสดงว่ามีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดใช้วิธี REMA [17] โดยนำสารสกัดมาละลายและเจือจางในอาหาร Muller Hinton Broth ด้วยวิธี two-fold serial dilution ใน 96-well microplates ปริมาตร 50 μl จากนั้นเตรียมเชื้อที่นำมาทดสอบปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland และเจือจาง 200 เท่าใส่ลงใน 96-well microplates ปริมาตร 50 μl นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยใส่ resazurin ปริมาตร 10 μl ลงใน plate และบ่มไว้ 2 ชั่วโมง ถ้าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้จะแสดงให้เห็นสีม่วงของ resazurin แต่ถ้าเชื้อยังเจริญเติบโตได้จะส่งผลให้สีของ resazurin เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีชมพูแสดงว่าสารสกัดไม่แสดงฤทธิ์ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ใช้ชุดควบคุมผลลบเป็น 0.5%DMSO และชุดควบคุมผลบวกคือ Vancomycin (2.000 μg/ml) โดยทำการแปลผลดังนี้

ถ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่าร้อยละ 90 แสดงว่าไม่มีฤทธิ์แต่ถ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ ส่วนฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ใช้ชุดควบคุมผลบวกคือ Amphotericin B (0.100 μg/ml) โดยทำการแปลผลดังนี้ ถ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่าร้อยละ 50 แสดงว่าไม่มีฤทธิ์แต่ถ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่าร้อยละ 50 แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อราและจะรายงานผลเป็นค่า IC_{50}

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการเตรียมสารสกัด จากการเตรียมสารสกัด ด้วยวิธีการแช่หมักในตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอล พบว่าได้สารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลตามลำดับ ในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งได้รายงานเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักของพืชแห้ง และยังพบว่าสารสกัดแต่ละชนิดยังมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน (Table 1) สารสกัดที่เตรียมได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม สารสกัดเมทานอลมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดเอทิลอะซิเตต และสารสกัดเฮกเซน ตามลำดับ เนื่องจากความมีขั้วของสารในส่วนใบของพืชส่วนใหญ่ความมีขั้วสูง จึงสกัดออกมาได้ด้วยเมทานอลเป็นส่วนใหญ่ ปริมาณของสารสกัดต่างจากพืชแต่ละชนิดเมื่อคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักพืชแห้งพบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 2.00-4.00 โดยที่สารสกัดเมทานอลมีปริมาณมากที่สุด(ร้อยละ 4.00) และสารสกัดเฮกเซนมีปริมาณน้อยที่สุด (ร้อยละ 2.00)

Table 1 Physical properties and quantities of the extracts

Extract	Properties / color/ weight (%w/w)
Hexane	viscous liquid / dark green / 10.00 (2.00)
Ethyl acetate	viscous liquid / dark green / 17.50 (3.50)
Methanol	viscous liquid / dark green and brown /20.00 (4.00)

ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเบื้องต้นของสารสกัดทุกชนิดที่ได้จากใบเชอร์รี ซึ่งได้จากการทดสอบที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดเท่ากันคือ 50.0 μg/ml และเซลล์มะเร็งที่เลือกสำหรับการทดสอบเบื้องต้นมีทั้งหมด 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 (Table 2) พบว่าสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลจากใบเชอร์รีไม่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ (ฤทธิ์ยับยั้งน้อยกว่าร้อยละ 50) นอกจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งแล้วยังมีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells) พบว่าสารสกัดเฮกเซนและเมทานอลไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ส่วนสารสกัดเอทิล อะซิเตตแสดงผลการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นและมียังแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติด้วย

Table 2 The cytotoxic activity of cancer extract at a concentration of 50.0 μg/ml

Extract	Cytotoxic activity		
	Oral cavity KB	Breast adenocarcinoma MCF-7	Small cell lung NCI-H187
	%Inhibition	%Inhibition	%Inhibition
Hexane	3.72	0.00	10.25
Ethyl acetate	14.84	0.00	11.58
Methanol	1.54	0.00	0.00

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดทุกชนิดที่ได้จากใบเชอร์รี โดยเชื้อจุลชีพที่เลือกสำหรับการทดสอบเบื้องต้นมี 2 ชนิด คือเชื้อแบคทีเรียชนิด *B. cereus* และเชื้อราชนิด *C. albicans* ผลการทดสอบ (Table 3) พบว่าทั้งสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลจากใบเชอร์รีที่ความเข้มข้น 50.0 μg/ml ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *B. cereus* และฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *C. albicans* แต่พบว่าสารสกัดเอทิล อะซิเตตมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารสกัดอีก 2 ชนิด แม้จะยังไม่จัดอยู่ในระดับที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อก็ตาม

Table 3 Antimicrobial activities of the leaf extracts of cherry at concentration of 50.0 μg/ml

Extract	Antimicrobial activities	
	Antibacteria (*B. cereus*)	Antifungal (*C. albicans*)
	%Inhibition	%Inhibition
Hexane	0.00	7.75
Ethyl acetate	55.92	27.43
Methanol	0.00	15.98

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบเชอร์รี ได้แก่ ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 3 ชนิด ได้แก่ มะเร็งช่องปากชนิด KB มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และมะเร็งปอดชนิด NCI-H187 ฤทธิ์ต้านจุลชีพซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *B. cereus* และฤทธิ์ต้าน

เชื้อราชนิด *C. albicans* ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลจากใบเชอร์รีไม่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *B. cereus* และฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *C. albicans* ที่ใช้ในการทดสอบ ดังนั้นควรศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นที่น่าสนใจดังนี้ ควรนำสารสกัดของใบเชอร์รีไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ โดยแยกสารสกัดให้มีความ บริสุทธิ์ขึ้นหรือแยกคลอโรฟิลด์ออกจากสารสกัดก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเนื่องจากส่วนใบของพืชมีปริมาณคลอโรฟิลด์สูงอาจบดบังการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในใบพืชได้ ซึ่งข้อมูลที่ได้อาจเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป และควรศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อแยกสารให้บริสุทธิ์และศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้ ซึ่งอาจเป็นการค้นพบสารชนิดใหม่ที่ได้จากพืชสมุนไพรไทยสำหรับการพัฒนาสู่การเป็นยารักษาโรคในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีที่สนับสนุน เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Tomoko, N., Takashi, A., Hiromu, T., Yuka, I., Hiroko, M.,Munekazu, I., Totshiyuki, T., Tetsuro, I., Fujio, A., Iriya, I., Tsutomu, N. and Kazuhito, W. 2002. Antibacterial activity of extracts prepared from tropical and subtropical plants on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Health Science*. 48(3) :273–276.

2. Sieradzki, K., Roberts, R.B., Haber S.W. and Tomasz, A. 1999. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *The New England Journal of Medicine*. 340: 517–523.

3. Iwu, M.W., Duncan, A.R. and Okunji, C.O. 1999. New Antimicrobials of Plant Origin. *In: Janice J.(ed.): Perspectives on New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA: 457–462.

4. กัญญา ปรีชาศุทธิ์, ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว, บงกชวรรณ สุตะพาหะ. 2547. *เชื้อราที่สำคัญทางการแพทย์*. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,เชียงใหม่.

5. กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2541. *โรคติดเชื้อ*. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์โฮลิสติก, กรุงเทพ ฯ.

6. Jainkittivong, A., Butsarakamruha, T., Robert, P. 2009. Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 108:394-8.

7. Naeini, A., Khonsravi, A.R., Chitsaz, M., Shokri, H.,Kamlnejad, M. 2009. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal of Medical Mycology*. 19:168-72.

8. Purohit, M. C. and Purohit, R. 2011. Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities of bark of *Jatropha gossypifolia*. *World Journal of Science and Technology*. 1(10) : 1–5.

9. Gonzaga,N.L., Amaral, M.G. and Saueressig, M.E. 1996. Enxertia por garfagem e borbulia em acerola sob telado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 31:635-638

10. Caceres, A., Lopez, B.,Juarez, X., Del Aguila, J. and Garcia, S. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infection 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 40: 207-213.

11. Maciel, M.I., Melo, E., De Lima, V., Da Silva, M. and Da Silva, I. 1999. Processing and storage of acerola (Malpighia sp) fruit and its products. *Journal of Food Science and Technology*. 36: 142-146.

12. วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล ชุลี สัมพดามณัฐฐนันท์ แย้มพุกและจิรพร กิติยายาม. 2559. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของใบเชอร์รี่. *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม* ครั้งที่ 8 วันที่ 31 มีนาคม- 1 เมษายน 2559, นครปฐม, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

13. พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2549. การใช้สารประกอบฟีนอลิกของพืชเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย*. 26(3): 222-238.

14. พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. 2548. บทบาทของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการป้องกันและรักษามะเร็ง. *ศรีนครินทร์เวชสาร*. 20(3): 180-189.

15. O' Brien, J., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) Fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*. 267(17): 5421-5426.

16. Iwase, Y., Tsutsui, N. 2007. HL-60 ATP assay for predicting rat oral toxicity study. *Alternatives to Animal Testing and Experimentation Journal*. 14: 699-703.

17. Sarker, S. D., Nahar, L. and Kumarasamy, Y. 2007. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 321-324.