บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้เป็นศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) ในห้องปฏิบัติการ วัตถุประสงค์เพื่อวัดปริมาณสารสำคัญ ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตในเซลล์มะเร็ง และพิษวิทยาของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน นำพืชตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และนำเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ตารางประกอบคำอธิบาย โดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก ดังนี้

1. เพื่อวัดปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตในเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน
3. เพื่อศึกษาพิษวิทยาต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน

ส่วนที่ 1 การวัดปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติของสารสกัดหยาบจากใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย

พืช และวิธีการสกัด	Solvent	% ความชื้น	น้ำหนักแห้ง	ปริมาณ	% Yield
สกัดใบเปล้าใหญ่ ด้วยการ Stirring	95% Ethanol	4.65%	50g	5.0096 g	10.02%
สกัดผลมะเม่าควายอ่อนด้วยการ Stirring	95% Ethanol	6.24%	120g	10.1163 g	8.43%
สกัดผลมะเม่าควายแก่ด้วยการ Stirring	95% Ethanol	6.46%	150g	2.1017 g	1.40%

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการสกัดใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควายที่ผ่านการตากแห้งโดยมีระดับความชื้น 4.65%-6.46% และสกัดด้วย 95% เอทานอล ด้วยวิธีการกวน (Stirring) โดยการใช้เครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ (Rotary evaporator) พบปริมาณของผลิตภัณฑ์ (% yield) ของสารกัดใบเปล้าใหญ่ให้ปริมาณ % yield สูงที่สุด รองลงมาคือ มะเม่าควายอ่อน และมะเม่าควายแก่ ตามลำดับ โดยมี % yield ของ สารสกัดหยาบเท่ากับ 10.02, 8.43, 1.40 w/w ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารพฤษเคมีเบื้องต้น (เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอลคาลอยด์ แทนนิน) ของสารสกัดใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย

พืช	เทอร์ปีนอยด์	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แอลคาลอยด์	แทนนิน
สารสกัดใบเปล้าใหญ่	++	++	++	+	++
สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน	+	+	+++	+	++
สารสกัดผลมะเม่าควายแก่	+++	++	+	+	+++

หมายเหตุ + หมายถึง ตรวจสอบพบน้อย
++ หมายถึง ตรวจสอบพบปานกลาง
+++ หมายถึง ตรวจสอบพบมาก

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณสารพฤษเคมีเบื้องต้น 5 ชนิด ได้แก่ เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอลคาลอยด์ และแทนนิน ของสารสกัดใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย พบว่า ในสารสกัดใบเปล้าใหญ่พบสารเทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนินในระดับปานกลาง และพบสารแอลคาลอยด์ในระดับน้อย ในสารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน พบสารซาโปนินในระดับมาก สารแทนนินในระดับปานกลาง และฟลาโวนอยด์ และสารแอลคาลอยด์ในระดับน้อย ในสารสกัดผลมะเม่าควายแก่ พบสารเทอร์ปีนอยด์ และแทนนินในระดับมาก ฟลาโวนอยด์ในระดับปานกลาง ซาโปนิน และแอลคาลอยด์ ในระดับน้อย

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิของสารสกัดใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย

พืช	Mean±SD Total Phenolic Content mg GAE/g crude extract
สารสกัดใบเปล้าใหญ่	43.40±1.36
สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน	193.47±4.63
สารสกัดผลมะเม่าควายแก่	37.16±0.59

ตารางที่ 4.3 แสดงการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเปล้าใหญ่ และมะเม่าควาย ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่สำคัญซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid พบว่า มีปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด ในช่วง 37.16±0.59 - 193.47±4.63 mg GAE/g crude extract โดยสารสกัดผลมะเม่าควายอ่อนด้วย 95% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 193.47±4.63 mg GAE/g crude extract รองลงมา คือ สารสกัดใบเปล้าใหญ่ด้วย 95% เอทานอล คือ 43.40±1.36 mg GAE/g crude extract และสารสกัดสารสกัดผลมะเม่าควายแก่ด้วย 95% เอทานอล คือ 37.16±0.59 mg GAE/g crude extract

ส่วนที่ 2 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตในเซลล์มะเร็ง และพิษวิทยาต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH free radical inhibition) ของสารสกัดหยาบใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย เทียบสารมาตรฐานวิตามินซี กรดแกลลิก และบิวทิเลเตด ไฮดรอกซีโทลูอีน ด้วยวิธี DPPH assay

พืช	**DPPH** IC_{50} **(μg/ml)**
สารสกัดใบเปล้าใหญ่	>1,000
สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน	51.50 ± 3.30
สารสกัดผลมะเม่าควายแก่	569.19 ± 10.91
L-ascorbic acid	14.5 ± 0.78
Gallic acid	6.46 ± 0.48
BHT	400.98 ± 3.39

ตารางที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย เทียบสารมาตรฐานวิตามินซี กรดแกลลิก และบิวทิเลเตด ไฮดรอกซีโทลูอีน ด้วยวิธี DPPH assay รายงานค่าเป็น IC_{50} ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 (% DPPH free radical inhibition) โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง พบว่า สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (51.50 ± 3.30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) รองลงมา คือ สารสกัดผลมะเม่าควายแก่ (569.19 ± 10.91 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดใบเปล้าใหญ่ (>1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของของสารสกัดหยาบใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควาย เทียบสารมาตรฐานบิวทิเลเตด ไฮดรอกซีโทลูอีน วิตามินซี และโทรลอกซ์ ด้วยวิธี FRAP assay

Plant	Mean±SD FRAP value μM/g crude extract
สารสกัดใบเปล้าใหญ่	369.84±2.39
สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน	1905.88±13.04
สารสกัดผลมะเม่าควายแก่	1063.30±6.54
100 ug/ml BHT	590.24±2.67
100 ug/ml Ascorbic acid	964.67±5.88
100 ug/ml Trolox	559.61±3.13

ตารางที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของของสารสกัดหยาบใบเปล้าใหญ่และผล มะเม่าควาย เทียบสารมาตรฐานบิวทิเลเตด ไฮดรอกซีโทลูอีน วิตามินซี และโทรลอกซ์ ด้วยวิธี FRAP assay ที่แสดงถึงสามารถรีดิวซ์สาร ประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe3+-TPTZ (ferric tripyridyltriazine) หรือไม่ ถ้าสารใดมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จะได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe2+-TPTZ (ferrous tripyridyltriazine) พบว่า สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน มีค่า FRAP value เท่ากับ 1905.88±13.04 ไมโครโมลาร์/กรัม ของสารสกัดหยาบ รองลงมา คือ สารสกัดผลมะเม่าควายแก่ เท่ากับ 1063.30±6.54 ไมโครโมลาร์/กรัม ของสารสกัดหยาบ และสารสกัดใบเปล้าใหญ่ เท่ากับ 369.84±2.39 ไมโครโมลาร์/กรัม ของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของด้วยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 4.6 การทดสอบความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งแสดงด้วยค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควายในหลอดทดลอง ด้วยวิธี MTT Assay

ชนิดของเซลล์	IC_{50} (µg/mL)											
	สารสกัดใบเปล้าใหญ่		สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน		สารสกัดผลมะเม่าควายแก่		5-Fluorouracil		Doxorubicin		Cisplatin	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)	169.28±1.95	138.73 ±10.55	>500	>500	>500	>500	>100	91.74	16.21	2.24	-	-
เซลล์มะเร็งลำไส้ ($CaCO_2$)	86.86 ±2.31	113.32 ±1.24	>500	318.58±12.01	201.29 ±0.10	194.58 ±11.57	>100	>100	>100	7.91	-	-
เซลล์มะเร็งตับ ($HepG_2$)	127.34 ±8.61	113.63±12.20	>500	355.76±7.86	245.28 ±4.84	145.06 ±1.99	-	-	-	-	2.71	1.19
เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187)	>500	>500	>500	>500	>500	>500	-	-	-	-	3.63	1.31

จากตารางที่ 4.6 จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตในเซลล์มะเร็ง และพิษวิทยาต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูนของสารสกัดจากใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควายในหลอดทดลอง เทียบกับยามาตรฐาน 5-Fluorouracil Doxorubicin และ Cisplatin ด้วยวิธี MTT Assay ที่มีความเข้มข้น 0.1, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25 และ 50 µg/mL เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ โดยทำการวิเคราะห์จากค่า IC_{50} ที่ให้ค่าน้อยจะถือว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง มากกว่าค่า IC_{50} สูง ๆ ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เซลล์มะเร็งลำไส้ ($CaCO_2$) เซลล์มะเร็งตับ ($HepG_2$) และเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187)

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) พบว่า สารสกัดจากใบเปล้าใหญ่ มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ 169.28±1.95 µg/mL และ IC_{50} = 138.73 ±10.55 µg/mL สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อนและผลมะเม่าควายแก่มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ >500 µg/mL ทั้งเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งลำไส้ ($CaCO_2$) พบว่า สารสกัดจากใบเปล้าใหญ่ มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ 86.86 ±2.31 µg/mL และ IC_{50} = 113.32 ±1.24 µg/mL สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อนมีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ >500 µg/mL และ IC_{50} = 318.58±12.01 µg/mL สารสกัดผลมะเม่าควายแก่มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ 201.29 ±0.1 µg/mL และ IC_{50} = 194.58 ±11.57 µg/mL

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งตับ ($HepG_2$) พบว่า สารสกัดจากใบเปล้าใหญ่ มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ 127.34 ±8.61µg/mL และ IC_{50} = 113.63±12.20 µg/mL สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อนมีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ >500 µg/mL และ IC_{50} = 355.76±7.86 µg/mL สารสกัดผลมะเม่าควายแก่มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ 245.28 ±4.84µg/mL และ IC_{50} = 145.06 ±1.99 µg/mL

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) พบว่า สารสกัดจากใบเปล้าใหญ่ ผลมะเม่าควายอ่อน และผลมะเม่าควายแก่ มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) ที่ >500 µg/mL

ส่วนที่ 3 เพื่อศึกษาพิษวิทยาต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูล *Euphorbiaceae* ในพื้นที่ลุ่มน้ำลี้ จังหวัดลำพูน

ตารางที่ 4.7 การทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ปกติแสดงด้วยค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควายในหลอดทดลอง ด้วยวิธี MTT Assay

ชนิดของเซลล์	IC_{50} (µg/mL)					
	สารสกัดใบเปล้าใหญ่		สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อน		สารสกัดผลมะเม่าควายแก่	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
เซลล์ปกติ (hTERT-HME1)	47.19±1.84	42.64 ±0.91	>500	>500	293.51±13.76	131.99 ±6.21

จากตารางที่ 4.7 การทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ปกติแสดงด้วยค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบเปล้าใหญ่และผลมะเม่าควายในหลอดทดลอง ด้วยวิธี MTT Assay ในเซลล์ปกติ (hTERT-HME1) พบค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนี้ เ สารสกัดผลมะเม่าควายอ่อนมีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์ปกติ (IC_{50}) ที่ >500 µg/mL และสารสกัดผลมะเม่าควายแก่มีค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์ปกติ (IC_{50}) ที่ 293.51±13.76 และ IC_{50} = 131.99 ±6.21 µg/mL