



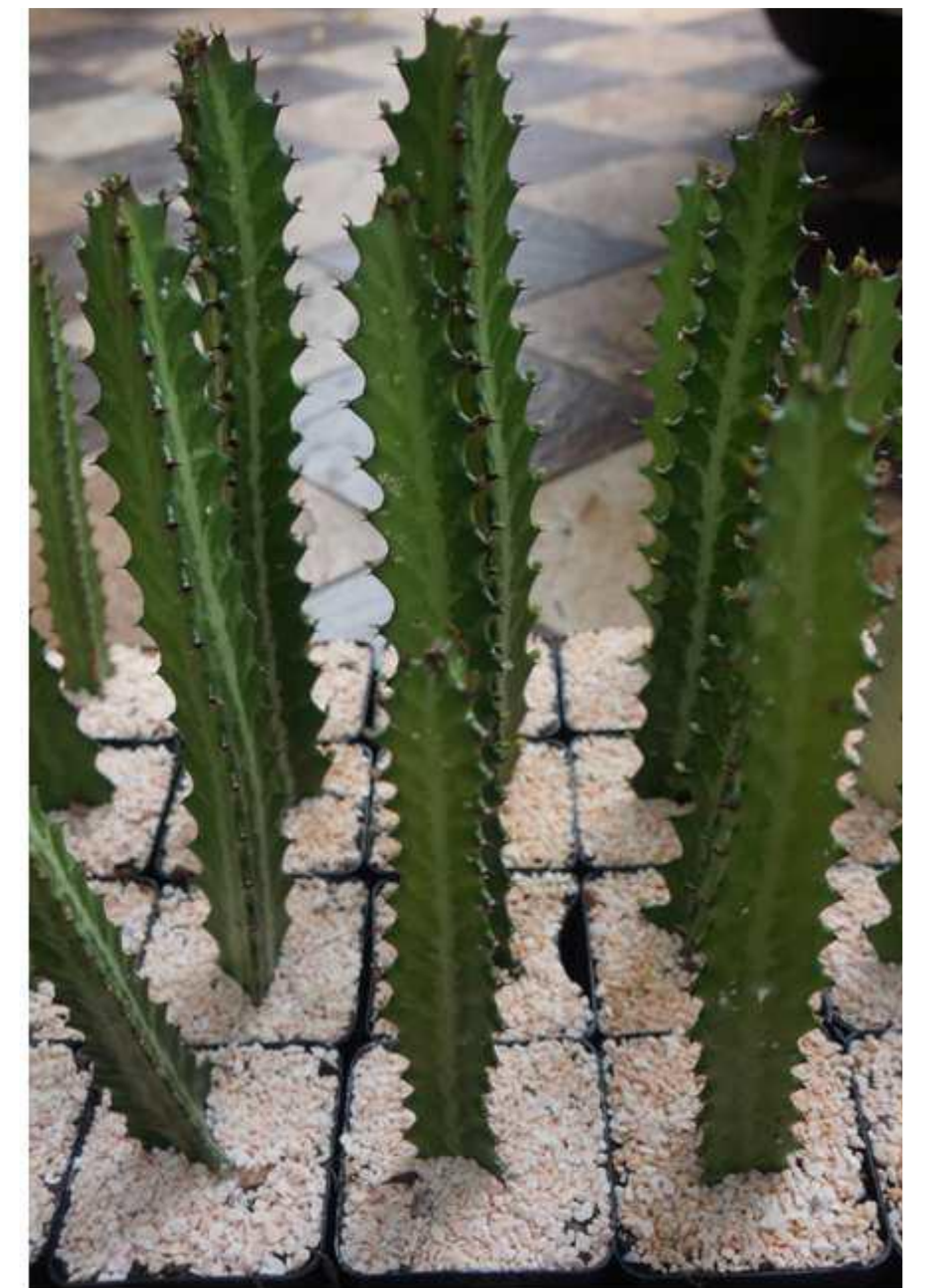
## ฤทธิ์ต้านมะเร็งในระดับหลอดทดลองของสารสกัดจากต้นสลัดไถลายเหลือง

*In vitro* anticancer activity of *Euphorbia lactea* HAW. extractsปริญทร์ เจริญสุขไส<sup>1,2</sup>, ปวริศ วงษ์ประยูร<sup>1,2</sup>, สุชารัตน์ ลีละสาสตร์<sup>3</sup>, กนกอร ระย้านิล<sup>4</sup>, ภาณุพันธ์ ลิ้มปชยาพร<sup>4</sup><sup>1</sup>ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร<sup>1</sup><sup>2</sup>กลุ่มวิจัยและพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทรัพยากรธรรมชาติเพื่อความเป็นเลิศทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร<sup>3</sup>คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร<sup>4</sup>ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

\*Corresponding author : E-mail: charoensuksai\_p@su.ac.th

## บทคัดย่อ

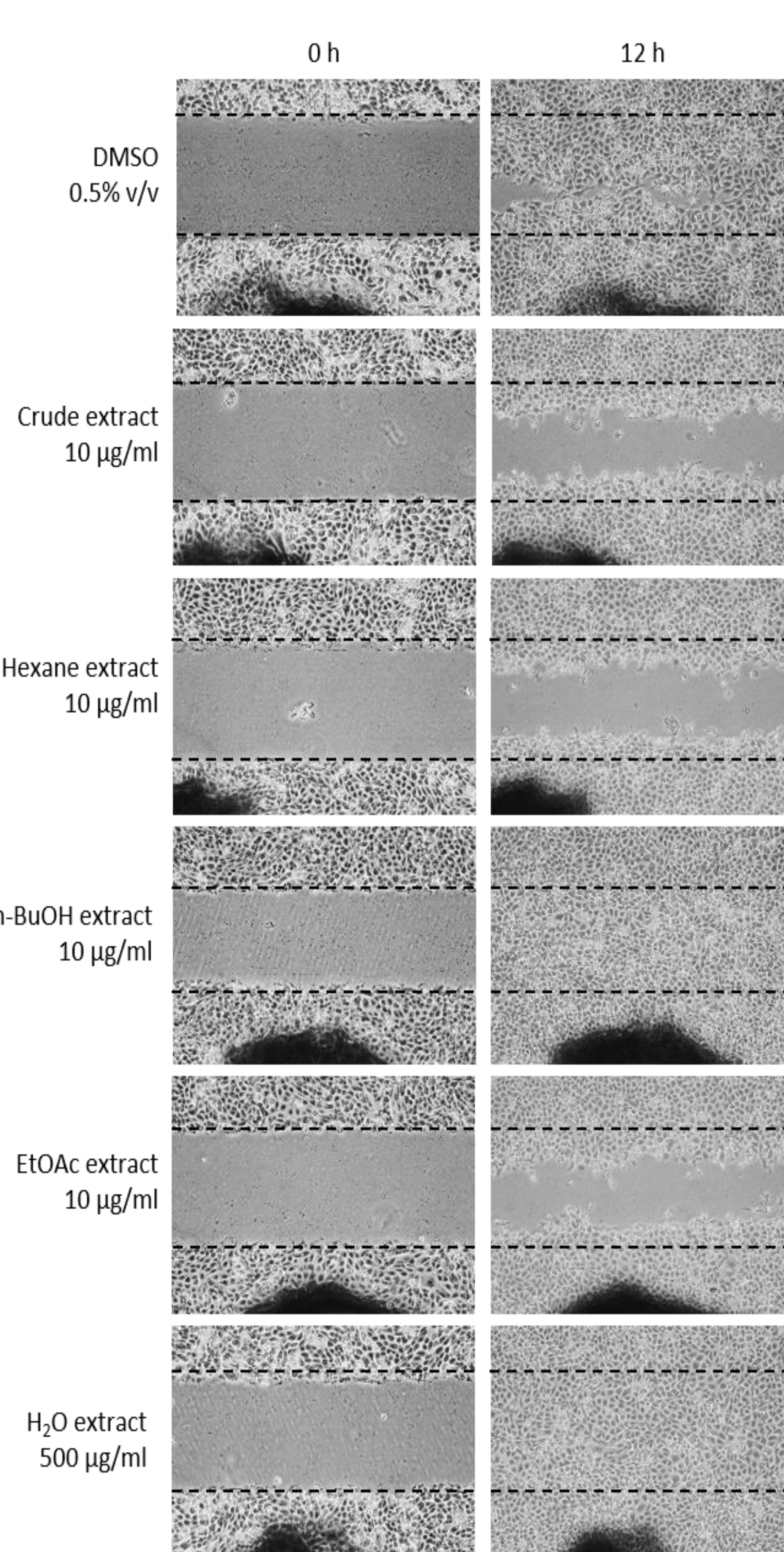
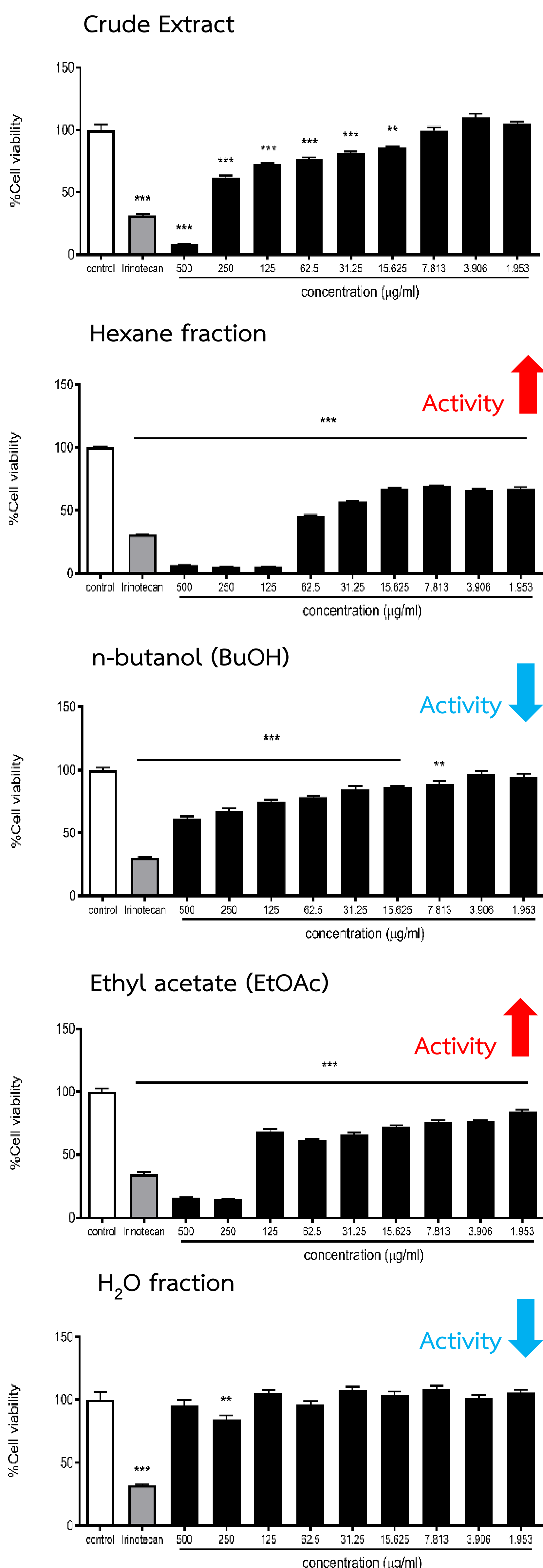
พืชในสกุล euphorbiaceae ถูกใช้งานเชิงสมุนไพรมาช้านานในหลายวัฒนธรรมเพื่อการรักษาโรคต่าง ๆ รวมทั้งโรคมะเร็ง ก่อนหน้านี้นักวิจัยได้รายงานฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากต้นสลัดไถลายเหลือง การศึกษาครั้งนี้มุ่งตรวจสอบฤทธิ์ดังกล่าวเพิ่มเติมโดยศึกษาสารสกัดชั้นต่าง ๆ (fractions) จากสลัดไถซึ่งเตรียมจากเทคนิค polarity-based fractionation สารสกัดหยาบเตรียมจากการสกัดพืชแห้งด้วย 95% ethanol จากนั้นแยกเป็นสารสกัดชั้นต่าง ๆ ด้วย hexane, n-butanol, ethyl acetate และน้ำ แล้วนำสารสกัดหยาบและสารสกัดชั้นต่าง ๆ ไปทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของปากและลำคอ (HN22) พบว่า ณ ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มล. สารสกัดหยาบสามารถยับยั้งการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็ง >90% นอกจากนี้ ชั้น n-butanol เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลดลงในขณะที่ชั้นน้ำไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตาม ชั้น hexane และ ethyl acetate มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบโดยสามารถยับยั้งการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งได้ >90% ณ ความเข้มข้น 125 ไมโครกรัม/มล. และ 250 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งพบว่าสารสกัดหยาบสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์ HN22 ไม่พบฤทธิ์ในชั้น n-butanol และน้ำ แต่พบว่าชั้น hexane และ ethyl acetate ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าสารสกัดชั้น hexane และ ethyl acetate มีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่น่าสนใจและสมควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาและสกัดแยกสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อไป

*Euphorbia lactea* HAW.

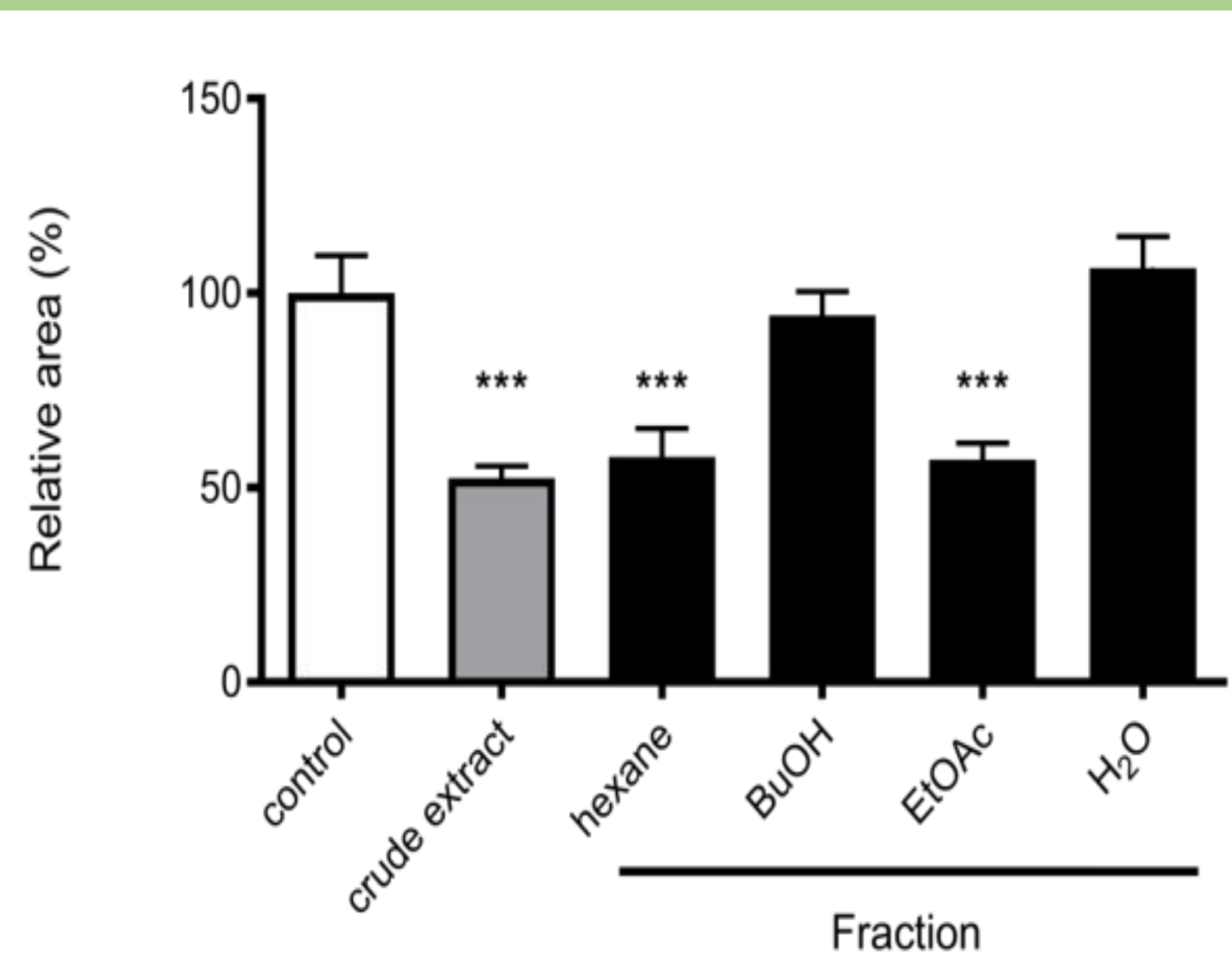
## Cell viability assay against HN22 cell line

## Migration inhibition assay (wound-healing)

## Material and methods



## Quantitation of Migration inhibition assay



- การสกัดแยกสารสกัด สกัดต้นสกัดต้นสลัดไถลายเหลือง (แห้ง) ด้วย 90% ethanol จนได้เป็นสารสกัดหยาบ สกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลายตามลำดับสภาพขั้ว ด้วยตัวทำละลาย hexane, n-butanol, ethyl acetate และน้ำ
- การเพาะเลี้ยงเซลล์และ MTT assay<sup>1</sup> เพาะเลี้ยงเซลล์ HN22 ให้สารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ กับเซลล์เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยมี 0.5% DMSO เป็นกลุ่มควบคุมแบบ negative control และ irinotecan ความเข้มข้น 20 µM เป็นกลุ่มควบคุมแบบ positive control วัดการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) ด้วย MTT assay
- Migration inhibition assay<sup>1</sup> เพาะเลี้ยงเซลล์ HN22 ให้เพิ่มจำนวนจนได้เซลล์เรียงตัวชั้นเดียวหนาแน่นเต็มพื้นผิวจานเพาะเลี้ยง จากนั้นขีดพื้นผิวเป็นรอยแฉกแนวเส้นตรงจำนวน 3 เส้น บ่มเซลล์ ถ่ายรูปเซลล์ที่เวลา 0 และ 12 ชั่วโมงที่บริเวณเดียวกัน คำนวณพื้นที่ของรอยแฉกซึ่งถูกแทนที่ด้วยเซลล์ที่เคลื่อนที่ในเชิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

## Conclusion &amp; Discussion

- สารสกัดหยาบจาก *E. Lactea* สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง HN22 ทั้งด้านความมีชีวิตของเซลล์และการเคลื่อนที่ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้า<sup>1</sup> และรายงานจากพืชชนิดอื่นในจีนัสเดียวกัน<sup>2-3</sup>
- สารสกัดชั้น Hexane และ ethyl acetate มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบ เป็นไปได้ว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์พิษต่อเซลล์มะเร็งเป็นสารกลุ่มที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายทั้งสอง ทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการสกัด
- สารสกัดชั้น hexane และ ethyl acetate ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่าสารสกัดหยาบเป็นไปได้อาจเกิดจากสารเคมีหลายชนิดทำงานร่วมกัน
- สารสกัดชั้น hexane และ ethyl acetate มีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่น่าสนใจและสมควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาและสกัดแยกสารบริสุทธิ์ต่อไป

## References

1. Wongprayoon, P. and P. Charoensuksai, Cytotoxic and anti-migratory activities from hydroalcoholic extract of *Euphorbia lactea* Haw. against HN22 cell line Thai Bull Pharm Sci, 2018. 13(1): p. 69-77.
2. El Manawaty, M., et al., High-throughput screening of 75 euphorbiaceae and myrtaceae plant extracts for in-vitro antitumor and pro-apoptotic activities on human tumor cell
3. Wongrakpanich, A. and P. Charoensuksai, Induction of apoptosis in cancer cells by plants in the genus euphorbia. Thai Bull Pharm Sci, 2018. 13(2): p. 1-11.

## Acknowledgement

ผลงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย “การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการรักษาโรคสำหรับผู้สูงอายุ” ซึ่งได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2562 โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง HN22 ได้รับจาก ศ.ดร. ปราณดี โปณะโสภิต ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร