ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสมุนไพรท้องถิ่น 8 ชนิด

Antimutagenicity of Eight Indigenous Medicinal Plants

บังอร ศรีพานิชกุลชัย (Bungorn Sripanidkulchai) อัญชลี ตัตตะวะศาสตร์ (Unchalee Tattawasart)***
*พิสมัย เหล่าภัทรเกษม (Pisamai Laupatarakasem)*** อารมย์ ตัตตะวะศาสตร์ (Arom Tattawasart)*****
*กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย (Kittisak Sripanidkulchai)******

บทคัดย่อ

การศึกษาสมุนไพรท้องถิ่น 8 ชนิด ซึ่งเป็นสมุนไพรที่รับประทานได้และใช้เป็นอาหาร 4 ชนิด คือ กระเทียม ขมิ้นชัน ตะไคร้ ว่านหางจระเข้ และอีก 4 ชนิด เป็นสมุนไพรที่มีข้อบ่งใช้ว่า มีสรรพคุณสามารถรักษาโรคได้ คือ คำฝอย มังคุด ฟ้าทะลายโจร และหญ้าปักกิ่ง โดยการนำส่วนสกัด 50% methanol มาทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ และฤทธิ์กลายพันธุ์ โดยวิธี preincubation short-term assay กับเชื้อ ***Salmonella typhimurium*** TA 98 และ TA 100 พบว่า ส่วนสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดไม่มีฤทธิ์กลายพันธุ์ แต่ทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์จากสารก่อกลายพันธุ์ 2-aminoanthracene (2-AA) ในภาวะที่มี metabolic activation หรือ S9 mix และเฉพาะส่วนสกัดของ ขมิ้นชัน ตะไคร้ คำฝอย มังคุด และหญ้าปักกิ่ง มีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์จาก 2-(2-furyl-3 (5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF2) ในภาวะที่ไม่มี metabolic activation

Abstract

Eight indigenous medicinal plants were selected and used in this study. They were four edible plants including ***Alliums sativum*** Linn. (garlic), ***Curcuma longer*** Linn. (curcuma), ***Cymbopogon citratus*** Stapf. (lemon grass) and ***Aloe barbadensis*** Mill (aloe); and the other four plants that were reported to have therapeutic effects were ***Carthamus tinctorium*** Linn. (safflower), ***Garcinia angostana*** Linn. (mangosteen), ***Andrographis paniculata*** Wall ex Nees (Fatalaijon) and ***Murdannia loriformis*** (Hassk.) ***Rolla et Kammathy*** (Peking grass). By using preincubation short-term assay with ***Salmonella typhimurium*** TA98 and TA 100, 50% methanol extracts of eight plants had no mutagenicity but did exert antimutagenicity against a standard mutagen, 2-aminoanthracene (2AA), in the presence of metabolic activation (S9mix), whereas only extracts from curcuma, lemon grass, safflower, mangosteen and Peking grass revealed antimutagenic activities against 2-(2-furyl-3(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF2) in the absence of metabolic activation.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์, ฤทธิ์กลายพันธุ์, มะเร็ง, สมุนไพร, กระเทียม, ขมิ้นชัน, ตะไคร้, คำฝอย, มังคุด, ว่านหางจระเข้, ฟ้าทะลายโจร, หญ้าปักกิ่ง

Keywords: Antimutagenicity, Mutagenicity, cancer, medicinal plants, garlic, curcuma, lemon grass, safflower, mangosteen, aloe, andrographis, Peking grass

* รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
**** อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
***** รองศาสตราจารย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ความสัมพันธ์ระหว่างอาหารกับมะเร็งเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจ เพื่อนำไปสู่การป้องกันการเกิดมะเร็ง การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นชี้แนะว่า การเตรียมอาหารโดยการเผาย่างและรมควันทำให้เกิดผลิตผลที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและสามารถทำให้สัตว์เป็นมะเร็งได้ ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งในคน (Furihata and Matsushima, 1986) นอกจากนี้การสัมผัสกับสารเคมีในสิ่งแวดล้อม (Sugimura, 1986) และการเลือกรับประทานพืช ผัก และผลไม้ที่มีสีเขียวก็มีความสัมพันธ์กับแนวโน้มการเกิดมะเร็ง (Herrog et al., 1993; Key 1994) ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีพืช ผัก และผลไม้มากมายหลายชนิดที่ใช้เป็นอาหาร และหลายชนิดมีข้อบ่งใช้เป็นยารักษาโรคในตำรายาแผนโบราณ นอกจากนี้ยาแผนปัจจุบันบางชนิดที่ใช้รักษามะเร็งมีแหล่งที่มาเริ่มต้นจากพืช เช่น colchicines, vincristine และ vinblastin (เอมอร, 2534) ดังนั้นการค้นหาสมุนไพรที่อาจมีศักยภาพป้องกันหรือรักษามะเร็งได้โดยเฉพาะสมุนไพรที่รับประทานได้จึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาศักยภาพสมุนไพรไทย

แม้ว่ากลไกการเกิดมะเร็งมีความสลับซับซ้อนแตกต่างกันไป แต่กระบวนการเกิดมะเร็งจากสารเคมีแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ 1)initiation 2)promotion และ 3)progression (Wood and Sedgwick, 1986; Maronpot, 1991) โดยที่ initiation จัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุด เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ DNA ถ้าเซลล์ขาดระบบซ่อมแซมที่ดีก็จะเกิดการกลายพันธุ์และถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็งได้เมื่อมีปัจจัยอื่น ๆ มาเสริม ถ้าสามารถยับยั้งขั้นตอนนี้ได้ก็สามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้

Ames (1972) ได้พัฒนาวิธีทดสอบการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียโดยนำ plasmid ใส่เข้าไปใน DNA ของเชื้อ *Salmonella* ทำให้แบคทีเรียต้องพึ่งกรดอะมิโน L-histidine ในการเจริญเติบโตและการกลายพันธุ์นี้เป็นลักษณะย้อนกลับได้ เมื่อแบคทีเรียได้รับสารก่อกลายพันธุ์ที่มีผลต่อยีนแบคทีเรียกลายพันธุ์เป็น revertants ที่เจริญได้ในภาวะที่ไม่มี L-histideine วิธีนี้นิยมใช้ตรวจสอบการกลายพันธุ์แบบระยะสั้น และกำหนดให้ใช้เป็นวิธีแรกในการตรวจสอบการกลายพันธุ์จากผลของสารเคมีทางการแพทย์และทางเกษตรกรรม ซึ่งมีความสัมพันธ์และสอดคล้องกับผลการก่อมะเร็งของสารเคมีทั้งในสัตว์ทดลองและในคน (Montesano et al., 1989) ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีทดสอบเรียกว่า Preincubation short-term assay ให้สามารถตรวจสอบสารเคมีบางชนิดที่จำเป็นต้องถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ใน microsomal fraction (หรือ S9) ของตับหนูก่อนจึงจะมีฤทธิ์กลายพันธุ์ (Maron and Ames, 1983; Akari et al., 1984) วิธีดังกล่าวสามารถนำมาใช้ทดสอบส่วนสกัดสมุนไพรได้เช่นการศึกษาฤทธิ์กลายพันธุ์ของหอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) (Vinitket-kumneun et al., 1991) และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum. Et Thonn) (Sripanidkulchai et al., 1991a) ซึ่งสัมพันธ์กับรายงานที่มาพบว่าส่วนสกัดจากลูกใต้ใบมีฤทธิ์ต้านการทำลายสาย DNA ในแฮมเตอร์ที่ได้รับสารก่อมะเร็ง dimethyl nitrosamine (Sripanidkulchi, et al., 1991b) การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาฤทธิ์กลายพันธุ์และต้านการกลายพันธุ์ของสมุนไพร 8 ชนิด เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาเป็นสมุนไพรต้านมะเร็งต่อไป

วิธีการวิจัย

การคัดเลือกสมุนไพร

การวิจัยครั้งนี้ได้กำหนดเกณฑ์การเลือกสมุนไพรดังนี้ 1)อยู่ในบัญชีรายการสมุนไพรของโครงการสาธารณสุขมูลฐาน (คู่มือสมุนไพร, 2527) 2)เป็นอาหาร 3)มีสรรพคุณบ่งชี้เกี่ยวกับการรักษามะเร็ง (พร้อมจิต, 2535) และ 4)หาได้ง่ายในท้องถิ่น

การเตรียมส่วนสกัดสมุนไพร

นำส่วนของสมุนไพร 7 ชนิด ที่ได้มาจากแหล่งต่าง ๆ ตามรายละเอียดในรูปที่ 1 และตารางที่ 1 (ยกเว้นว่านหางจระเข้) มาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งและอบแห้งที่ 40-50 °C จนน้ำหนักคงที่ บดให้ละเอียดและนำไปสกัดด้วย 50% methanol แช่ค้างคืนไว้ 1 คืน

นำส่วนที่กรองผ่านผ้าขาวบางไปปั่นเหวี่ยงที่ 1000 g. 5 นาที นำส่วนที่เป็นสารละลาย ไปทำให้แห้งด้วย เครื่อง lyophilizer สำหรับว่านหางจระเข้ เมื่อล้างน้ำให้สะอาด แล้วปอกเปลือก เอาเฉพาะส่วนวุ้นมาปั่นใน blender ให้เป็นเนื้อเดียวกันนำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง และทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer เก็บส่วนสกัดแห้งสมุนไพรทั้งหมดในภาชนะทึบแสงปิดสนิทที่ 4°C

สารเคมี

2-aminoanthracene (2AA), 2-(2-furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF2), 5,6-napthoflavone ได้รับอภินันทนาการจาก Professor T. Matsushima, Japan Bioassay Laboratory; NADH, NADPH, G-6-P(Sigma Chemical Co.); Bacto Agar (Difco); Oxoid nutrient (Unipath), สารเคมีอื่น ๆ (AR grade, Merck หรือ BDH)

การเตรียม S9 mix

S9 mix ประกอบด้วย 10% ของ microsomal fraction (S9) ที่เตรียมจากตับของหนูขาว (Sprague Dawley rat) เพศผู้ โดยวิธีของ Matsushima et al. (1976) ซึ่งมีค่าโปรตีนประมาณ 35 mg/ml, 33 mM KCl, 8 mM $MgCl_2$, 5 mM G-6-P, 4 mM NADPH, 4 mM NADH, 100 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4

การทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์

ใช้วิธี preincubation short-term assay (Araki et al., 1984., Sripanidkulchai et al., 1994) โดยนำส่วนสกัดสมุนไพรแห้งที่เตรียมได้มาละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำสารละลายสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในปริมาตร 0.1 ml ผสมกับเชื้อ *Salmonella typhimurium* (strain TA98 หรือ TA100) 0.1 ml, และสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน 0.1 ml โดยใช้ 2-AA (0.5 mg) และ 0.5 ml ของ S9 mix (ภาวะ +S9) หรือ AF2 (0.1 μg สำหรับ TA98 หรือ 0.01 μg สำหรับ TA100) และ 0.5 ml ของ phosphate buffer (ภาวะ-S9) ภายหลังจาก incubated ที่ 20°C เป็นเวลา 30 นาที นำมาเติม top agar 2 ml ผสมให้เข้ากันและเทลงบน minimal glucose agar plate, หลังจาก incubated ที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำแต่ละ plate มานับ revertant colony ที่เกิดขึ้นและตรวจสอบ background lawn ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อดู toxicity และ histidine effect ที่อาจส่งผล false positive (Sripanidkulchai et al., 1991c) สำหรับ positive control ประกอบด้วยสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน เชื้อแบคทีเรียและสารอื่น ๆ ยกเว้นสารละลายสมุนไพร ส่วน background หมายถึงการทดลองที่มี DMSO แทนสารละลายสมุนไพรในภาวะที่ไม่มีสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน

การทดสอบฤทธิ์กลายพันธุ์

ใช้วิธีเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ โดยทดสอบสารละลายสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับเชื้อ Salmonella typhimurium TA98 และ TA 100 ในภาวะที่มีและไม่มี S9 mix โดยไม่ต้องเติมสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่า revertants ที่ทำ duplicate มาเฉลี่ยและหักค่า background ออก และแสดงผลฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์เป็นค่า % inhibition ที่เกิดจากสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเกิด revertant ในภาวะที่มีสารก่อกลายพันธุ์ในรูป dose response relationship (% inhibition = $[a-b]\,100/a$ โดย a = ค่าเฉลี่ยจำนวน revertants ในภาวะที่มีสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานและ b = ค่าเฉลี่ยจำนวน revertants ในภาวะที่มีสารกลายพันธุ์มาตรฐาน และส่วนสกัดสมุนไพร) สำหรับฤทธิ์กลายพันธุ์ใช้หลักเกณฑ์ว่า positve เมื่อจำนวน revertants มีค่ามากกว่า 2 เท่า ของค่า background

ผลการวิจัย

% yield ของส่วนสกัดสมุนไพร

เมื่อนำค่าน้ำหนักแห้งของส่วนสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด เปรียบเทียบกับน้ำหนักแห้งของสมุนไพรก่อนสกัดหรือปริมาตรของวุ้นในกรณีของว่านหางจระเข้ พบว่ามีค่า % yield แตกต่างกันไปตามความสามารถในการละลายใน 50% methanol คือ 0.63-24% (ตารางที่ 1) โดยพบว่าหัวกระเทียมให้ yield สูงสุดและว่านหางจระเข้ให้ค่าต่ำสุด

ฤทธิ์กลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพร

ผลการทดสอบสมุนไพร 8 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1-10 mg/plate กับ ***Salmonella typhimurium*** strain TA98 และ TA100 ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี S9 mix ไม่พบการกลายพันธุ์ และไม่พบ histidine effect ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ แต่พบว่าส่วนสกัดสมุนไพร 3 ชนิด มีพิษแสดง killing effect ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นสูง คือตั้งแต่ที่ 1.25 mg/plate สำหรับขมิ้นชันและ 5 mg/plate สำหรับมังคุดและฟ้าทะลายโจร (ตารางที่ 2)

ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพร

จากการใช้สมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์พบว่าในภาวะที่มี S9 mix สมุนไพรทั้ง 8 ตัวมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของ 2AA ทั้งต่อเชื้อ ***Salmonalla typhmurium*** strain TA98 และ TA100 ส่วนในภาวะที่ไม่มี S9 mix สมุนไพร 5 ชนิดคือขมิ้นชัน ตะไคร้ ค่าฝอย มังคุด และหญ้าปักกิ่งมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของ AF2 ทั้งต่อ TA98 และ TA100 (ตารางที่ 3)

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพรในภาวะที่มี S9 mix ต่อเชื้อทั้ง 2 strains พบว่าเชื้อ TA98 มีความไวต่อสมุนไพร 4 ชนิดมากกว่า TA100 คือ กระเทียม (รูปที่ 2.1) ขมิ้นชัน (รูปที่ 2.2) ตะไคร้ (รูปที่ 2.3), และหญ้าปักกิ่ง (รูปที่ 2.8) ส่วนเชื้อ TA100 มีความไวต่อฟ้าทะลายโจรมากกว่า TA98 (รูปที่ 2.7) ส่วนสมุนไพรอีก 3 ชนิด คือ ค่าฝอย มังคุด และว่านหางจระเข้ มีผลยับยั้งการเกิด revertant ของเชื้อ TA98 และ TA100 ได้คล้ายคลึงกันในภาวะที่มี S9 mix (รูปที่ 2.4, 2.5 และ 2.6) สำหรับภาวะที่ไม่มี S9 mix พบว่าเชื้อ TA100 มีความไวต่อขมิ้นชันและมังคุดมากกว่า TA98 (รูปที่ 2.2 และ 2.5) และ TA98 ไวต่อหญ้าปักกิ่งมากกว่า TA100 (รูปที่ 2.8) สำหรับสมุนไพรที่มีผลยับยั้งการเกิด revertant ของเชื้อ TA98 ไม่แตกต่างจาก TA100 คือ ตะไคร้ และค่าฝอย (รูปที่ 2.3 และ 2.4) และสมุนไพรที่ไม่มีผลยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดในภาวะที่ไม่มี S9 mix คือ กระเทียม ว่านหางจระเข้ และ ฟ้าทะลายโจร (รูปที่ 2.1, 2.6 และ 2.7) สำหรับสมุนไพรที่มีผลทำให้เกิด killing effect ต่อเชื้อทั้ง TA98 และ TA100 คือ ขมิ้นชันและมังคุด ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/plate และ 5 mg/plate ตามลำดับ (รูปที่ 2.2 และ 2.5)

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้วิธีตรวจสอบฤทธิ์กลายพันธุ์โดยวิธี Preincubation short-term ทำให้สามารถศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญในส่วนสกัดสมุนไพรทั้งในภาวะที่ถูกและไม่ถูกเมแทบอไลซ์โดยเอนไซม์จาก microsomal fraction ของตับหนูขาวคือมีและไม่มี S9mix ได้เนื่องจากสารสำคัญบางชนิดเมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายแล้ว อาจมีฤทธิ์แตกต่างจากสารเดิมและสามารถก่อกลายพันธุ์ได้ การเลือกใช้ 2-2 (furyl-3 (5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF2) และ 2-aminoanthracene (2AA) เป็นสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน ทดสอบในภาวะที่ไม่มีและมี S9 mix เนื่องจากเชื้อ TA98 และ TA100 มีความไวต่อ AF2 ในภาวะที่ไม่มี S9 mix ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.01g/plate ตามลำดับ ในภาวะที่มี S9mix ทั้ง TA98 และ TA100 มีความไวต่อ 2AA ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/plate ซึ่งเป็นภาวะที่นิยมใช้สำหรับการทดสอบการ กลายพันธุ์และการต้านการกลายพันธุ์แบบระยะสั้น (Matsushima et al., 1980; Maron and Ames, 1983; Sugimura, 1988)

การสกัดสมุนไพรด้วย 50% methanol ที่ใช้ในการวิจัยนี้ เพื่อให้ได้สารสำคัญทั้งที่ละลายและไม่ละลายน้ำ เป็นวิธีที่นิยมใช้สำหรับการศึกษาส่วนสกัดสมุนไพรระยะเริ่มต้นก่อนศึกษาสารประกอบสำคัญ สมุนไพรทั้ง 8 ชนิดที่นำมาศึกษาโดยใช้เกณฑ์ 4 ข้อ นั้น ด้วยเหตุผลว่า หากได้ผลแล้วสามารถนำมาพัฒนาได้สะดวกโดยเฉพาะสมุนไพรที่ใช้รับประทานอยู่แล้ว 4 ชนิด คือ กระเทียม ขมิ้นชัน ตะไคร้ และว่านหางจระเข้ ส่วนสมุนไพรอีก 4 ชนิด คือ มังคุด ฟ้าทะลายโจร ค่าฝอย และหญ้าปักกิ่ง ได้มีการบ่งชี้ถึงสรรพคุณ ในการรักษาโรคติดเชื้อ ลดไขมันในเลือดและรักษามะเร็ง (ยาสมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน, 2537; พร้อมจิต, 2535)

ผลการตรวจสอบที่พบว่าสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ไม่มีฤทธิ์กลายพันธุ์ ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี S9 mix ชี้แนะว่าสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด นี้มีความปลอดภัยในแง่การส่งผลเปลี่ยนแปลง DNA หรือยีนที่อาจส่งผลก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเกิดมะเร็งจากสารเคมี สำหรับการพบ killing effect ของสมุนไพร 3 ชนิด คือ ขมิ้นชัน มังคุด และฟ้าทะลายโจร ช่วยยืนยันผลฆ่าแบคทีเรียที่เคยมีการรายงานได้ (พร้อมจิต, 2535)

ผลจากการศึกษาพบว่าสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดมีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ ในภาวะที่มี S9 mix โดยทุกตัวให้ dose-response curve ที่แสดงถึงความสามารถที่แตกต่างกันไปคือ สมุนไพรที่มีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ที่แรงมากหรือใช้ความเข้มข้นต่ำเรียงไปหาที่มีฤทธิ์น้อยหรือใช้ความเข้มข้นสูง คือ ขมิ้นชัน → มังคุด → ฟ้าทะลายโจร → หญ้าปักกิ่ง → ตะไคร้ → คำฝอย → ว่านหางจระเข้ → กระเทียม ส่วนฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ในภาวะที่ไม่มี S9 mix พบเฉพาะใน ขมิ้นชัน ตะไคร้ คำฝอย มังคุด และหญ้าปักกิ่ง แสดงว่าส่วนสกัดสมุนไพรที่ได้จากกระเทียม ว่านหางจระเข้ และฟ้าทะลายโจร ไม่มีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ และเมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์จากตับจึงมีฤทธิ์ ซึ่งพบได้กับสารเคมีหลายชนิด เช่น benzo (a) pyrene ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่ม polycyclic aromatic hydrocarbon ก็ต้องถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ก่อนแสดงฤทธิ์ก่อมะเร็ง (Yamazoe and Kato, 1993) ฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ในภาวะไม่มี S9mix ของสมุนไพรเรียงลำดับจากความแรงมากไปหาแรงน้อย คือ ขมิ้นชัน → มังคุด → คำฝอย → ตะไคร้ → หญ้าปักกิ่ง แม้ว่าการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นแต่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสมุนไพรหลายตัวที่อาจมีฤทธิ์ด้านมะเร็งได้ โดยมีผลยับยั้งการกลายพันธุ์ของ DNA จากสารเคมีในขั้นตอน initiation ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเกิดมะเร็งจากสารเคมี และควรได้ศึกษาละเอียดในแง่ฤทธิ์และสารสำคัญในสมุนไพรเหล่านี้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ Professor T. Matsushima, ที่ให้แรงจูงใจและสนับสนุนงานวิจัยอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คู่มือสมุนไพร เล่มที่ 1. 2527. กรุงเทพฯ: โครงการสมุนไพรกับการสาธารณสุขมูลฐาน สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข.

พร้อมจิต ศรลัมพ์. 2535. สมุนไพรสวนสิริรุกขชาติ กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล อมรินทร์พรินติ้งกรุ๊ฟ จำกัด.

ยาสมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน. 2537. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน โรงพิมพ์องค์การส่งเสริม

เอมอร โสมมะพันธุ์. 2534. สารธรรมชาติกับโรคมะเร็งและโรคเอดส์ในยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล หน้า 330-358.

Ames, B.N. 1972. A bacterial system for detecting mutagens and carcinogens. In Sutton, H.E. and Hares, M.I. (eds.) **Mutagenic effects of environmental contaminants.** Academic Press, New York. pp. 57-66.

Araki, A; Marumatsu, M. and Matsushima, T. 1984. Comparison of mutagenicities of N-nitrosamines on Salmonella typhimurium TA100 and *Escherichia coli* wp 2 uvrA/pkm 101 using rat and hamster liner S9. Gann 75: 8-16.

Furihata, C. and Matsushima, T. 1986. Mutagens and carcinogens in food. Ann. Rev. Nutr. 6: 67-94.

Hertog, M.G.; Hollman, Katau, P.C.; M.B. and Kromhout, D. 1993. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutr. Cancer*, 20(1): 21-29.

Key, T. 1994. Micronutrients and cancer actiology: the epidemiological evidence. ***Proc. Nutr. Soc.***, 53(3):605-614.

Maron, M.D and Ames, B.N. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. **Mutat. Res**, 113:173-215.

Marorpot, R.R. 1991. **Chemical carcinogenesis: Handbook of Toxicologic Pathology.** Academic Press, New York, pp. 91-129.

Matsushima, T.; Sawamura, M.; Hara, K. and Sugimura, T. 1976. A Safe substitute for polychlorinated biphenyls as an inducer of metabolic activation system. In De Serres, F.J.; Eouts, J. R.; Bend, J.R. and Philpots, R.M. (eds.) **In vitro metabolic activation in mutagenesis testing.** Elsevier / North-Holland, Amsterdam, pp. 85-88.

Matsushima, T; Sugimura T.; Nagao, T.; Shirai, A. and Sawamura, M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial tests. In Norpoth, K.H. and Garner, R.C. (eds.) **Short-term test systems for detecting carcinogens.** Springer, Berlin, pp. 273-285.

Montesano, R.; Parkin D.M. and Tomatis L. 1989. Ethiology of human cancer. **Proceedings of the 2nd Southeast Asian Workshop on Short-term assays for detecting environmental mutagens, carcinogens and teratogens.** 6-17 Feb, 1989, Bangkok-Chiangmai, pp.303-309.

Sripanidkulchai, B.; Tattawasart, U; Lauputarakem, P.; Vinitketkumneun U.; Furihata, C. and Matsushima, T. 1991a. Antimutagenic and anticarcinogenic effects of Thai herbal Medicine. **Proceeding of the first cancer research symposium.** 24, Jan 1991. Khon Kaen University, Khon Kaen pp.103-117.

Sripanidkulchai, B.; Furihata, C.; Hirose, K. and Matsushima, T. 1991b. Detection of DNA single-strand breaks in hamster liver treated with carcinogen. **Thai J. Toxicol.** 7:23-30.

Sripanidkulchai, B.; Vinetketkumneun, U.; Sasakawa, C. and Matsushina, T. 1991c. Effect of histidine on interpretation of positive mutagenicity assay of fermented fish. **Research Abstracts : Mutagenicity, Carcinogenicity, Teratogenicity and Environmental Toxins.** 4-8 Nov, 1991, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Chiangmai, pp. 12-13.

Sripanidkulchai, B., Tattawasart, U. and Vinitketkumnuen, V. 1994. Bacterial Mutation Assay. **Third Southeast Asian Workshop on Environmental Mutagens and Carcinogens,** 7-11 Feb, 1994. Khon Kaen University, Khon Kaen, pp.97-110.

Sugimura, T. 1986. Studies on environmental chemical carcinogenesis in Japan. **Science** 233:312-318.

Sugimura, T. 1988. Successful use of short-term tests for academic purposes: their use in identification of new environmental carcinogen with possible risk for humans. **Mutat. Res.** 205:33-39.

Viniitketkenmneun, U.; Pantasri, P. and Matsushima, T. 1991. The mutagenicity of methanol extract of shallst (*Allium ascalonicum* Linn.) and modulation of its mutagenicity. **International conference on environmental and industrial toxicology: Research and application,** 22-26 July, 1991, Bangkok, pp.35.

Wood , R.D. and Sedgwich, S.G. 1986. Molecular aspects of mutagenesis. **Mutagenesis** 1: 399-405.

Yamazoe, Y. and Kato, R. 1993. Activation of chemical carcinogens. In. Omura, T.; Ishimura, Y. and Fujii-Kuriyama, Y. (eds.). **Cytochrom P-450.** 2nd ed, Kodansha, Tokyo, pp. 159-170.

รูปที่ 1 สมุนไพร 8 ชนิด ที่นำมาศึกษา

1. กระเทียม (*Allium sativum* Linn.)
2. ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.)
3. ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapl.)
4. คำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.)
5. มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.)
6. ว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis* Mill)
7. ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* Wall ex Nees)
8. หญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk. Rolla et Kammathy)

ตารางที่ 1 แหล่งที่มา ส่วนที่ใช้ และ %yield ของสมุนไพร 8 ชนิด

ชื่อไทย, ชื่อวิทยาศาสตร์ (ชื่ออังกฤษ, Family)	แหล่งที่มา	ส่วนที่ใช้	%yield *
กระเทียม *Allium sativum* Linn. (Garlic, Alliaceae)	ขอนแก่น	หัว	24
ขมิ้นชัน *Curcuma longa* Linn. (Curcuma, Zingiberaceae)	ขอนแก่น	เหง้า	7.75
ตะไคร้ *Cymbopogon citratus* Stapl. (Lemon grass, Graminae)	ขอนแก่น	ทั้งต้น	7.5
คำฝอย *Carthamus tinctorius* Linn. (Safflower, Compositae)	เชียงใหม่	ดอก	22.5
มังคุด *Garcinia mangostana* Linn. (Mangosteen, Guttiferae)	จันทบุรี	เปลือกผล	10.5
ว่านหางจระเข้ *Aloe barbadensis* Mill (Aloe, Liliaceae)	ขอนแก่น	ลำต้น	0.63
ฟ้าทะลายโจร *Andrographis paniculata* Wall ex Nees (Acanthaceae)	ขอนแก่น	ใบ	11.65
หญ้าปักกิ่ง *Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla et Kammathy (Peking grass, Commelinaceae)	ขอนแก่น	ใบ	11

* หน่วย g น้ำหนักแห้งต่อ 100 g สมุนไพรก่อนสกัด หรือต่อ 100 ml ของวุ้นจากว่านหางจระเข้

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์กลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพร

สมุนไพร	ความเข้มข้นที่ทดสอบ (mg/plate)*	TA98		TA100		ความเข้มข้นที่พบ toxicity (mg/plate)*
		-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	
กระเทียม *A. sativum*	1-10	-	-	-	-	-
ขมิ้นชัน *C. longa*	0.25-10	-	-	-	-	≥ 1.25
ตะไคร้ *C. citratus*	1-10	-	-	-	-	-
คำฝอย *C. tinctorius*	1-10	-	-	-	-	-
มังคุด *G. mangostana*	0.5-10	-	-	-	-	≥ 5
ว่านหางจระเข้ *A. barbadensis*	1-10	-	-	-	-	-
ฟ้าทะลายโจร *A. paniculata*	0.5-10	-	-	-	-	≥ 5
หญ้าปักกิ่ง *M. loriformis*	1-10	-	-	-	-	-

* mg ของส่วนสกัดสมุนไพรแห้งที่ทดสอบกับเชื้อต่อ plate

- = ไม่มีฤทธิ์กลายพันธุ์หรือ ไม่พบ killing effect ในความเข้มข้นที่ทดสอบ

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพร

สมุนไพร	ความเข้มข้นที่ทดสอบ (mg/plate)*	Antimutagenicity			
		-S9 mix (AF2)		+S9 mix (2AA)	
		TA98	TA100	TA98	TA100
กระเทียม	1-10	-	-	+	+
A. sativum		(22)	(164)	(32)	(144)
ขมิ้นชัน	0.25-2.5	+	+	+	+
C. longa		(30)	(152)	(32)	(144)
ตะไคร้	1-10	+	+	+	+
C. citratus		(18)	(155)	(32)	(149)
คำฝอย	1-10	+	+	+	+
C. tinctorius		(68)	(179)	(32)	(141)
มังคุด	0.5-5	+	+	+	+
G. mangostana		(25)	(137)	(29)	(173)
ว่านหางจระเข้	1-10	-	-	+	+
A. barbadensis		(23)	(155)	(32)	(155)
ฟ้าทะลายโจร	0.5-5	-	-	+	+
A. paniculata	(29)	(254)	(32)	(141)	
หญ้าปักกิ่ง	1-10	+	+	+	+
M. loriformis	(20)	(130)	(36)	(141)	

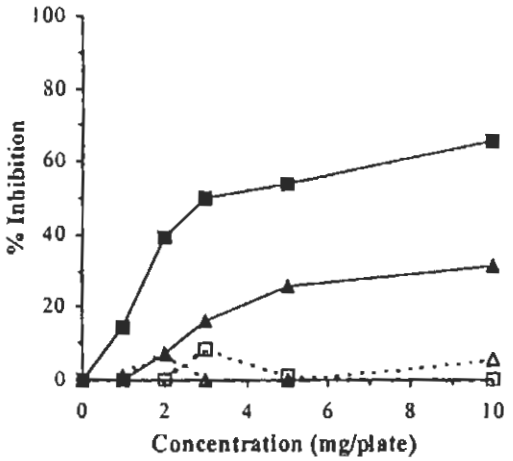
* mg ของส่วนสกัดสมุนไพรแห้งที่ทดสอบกับเชื้อ ต่อ plate

-, + หมายถึง ไม่มีฤทธิ์และมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของส่วนสกัดสมุนไพรในช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ และตัวเลขในวงเล็บหมายถึงค่า background

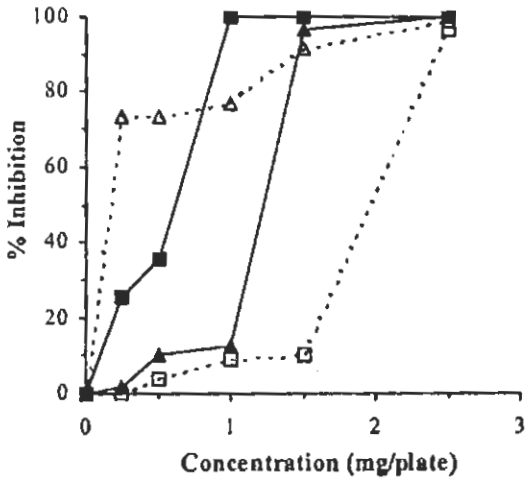
- S9 mix หมายถึง การทดสอบในภาวะที่ไม่มี microsomal activation และทดสอบต่อสารก่อกลายพันธุ์ 2-(2 furyl-3-(5-nitro-2 furyl) acrylamide (AF2)

+ S9 mix หมายถึง การทดสอบในภาวะที่มี microsomal activation และทดสอบกับสารก่อกลายพันธุ์ 2-aminoanthracene (2AA)

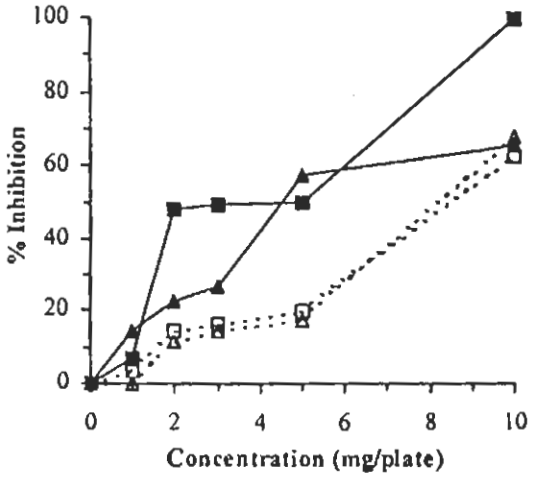
2.1 กระเทียม (Alliums sativum)



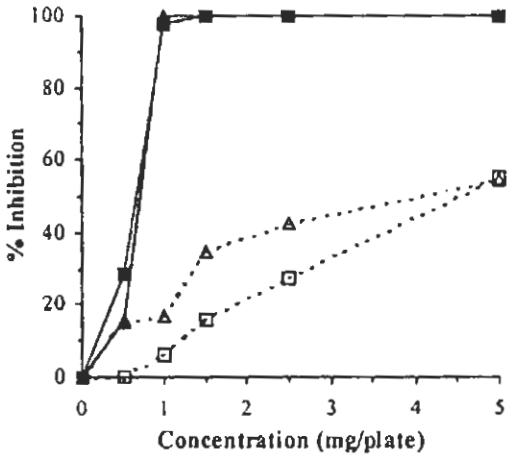
2.2 ขมิ้นชัน (Curcuma longer)



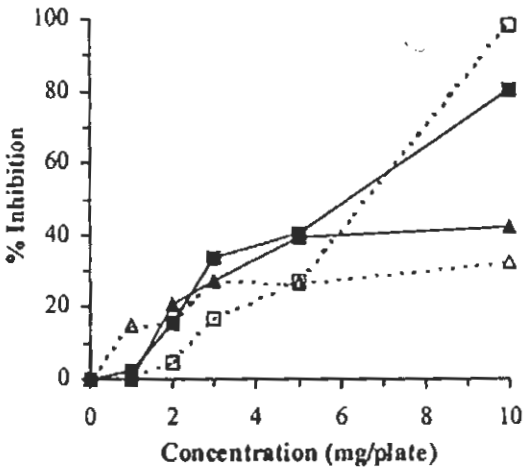
2.3 ตะไคร้ (Cymbopogon citratus)



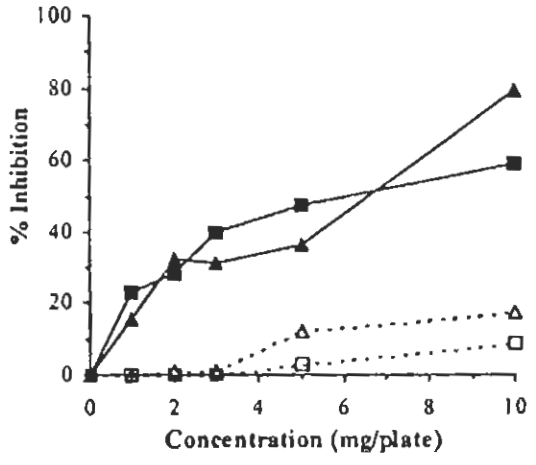
2.4 คำฝอย (Carthamus tinctorium)



2.5 มังคุด (Garcinia angostana)



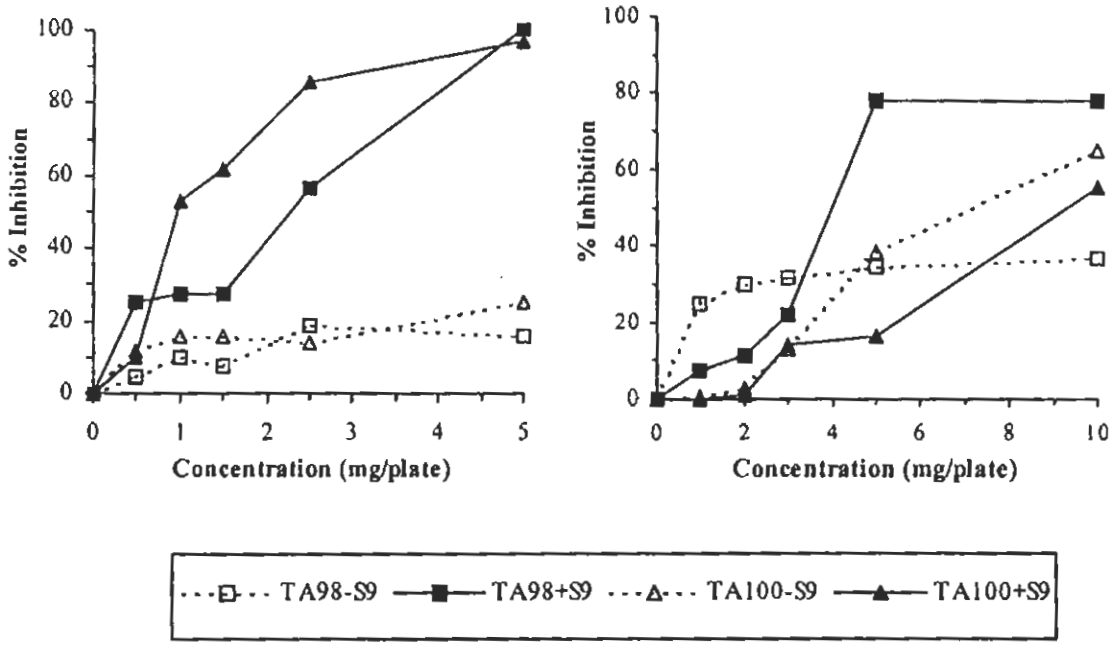
2.6 ว่านหางจรเข้ (Aloe barbadensis)



รูปที่ 2 Dose-response curve แสดง antimutagenicity สมุนไพรทั้ง 8 ชนิด

2.7 ฟ้าทะลายโจร (Andrographis paniculata)

2.8 หญ้าปักกิ่ง (Murdannia loriformis)



รูปที่ 2 Dose-response curve แสดง antimutagenicity สมุนไพรทั้ง 8 ชนิด