ความเป็นพิษของสารสกัดข่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

Cytotoxicity of *Alpinia galanga* Extract on K562 Cell Line

สุวรรณา เสมศรี[1*], วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต[2], อิสยา จันทร์วิทยานุชิต[1], สมหญิง งามอุรุเลิศ[1],
กาญจนา วิจิตรธรรมรส[1], โจนาธาน อาร์ คาร์รีออน[1]
[1]คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
[2]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
[*]Email : ssemsri@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่าส่วนเหนือดิน และเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอล และเอทิลอะซิเตท ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดข่าส่วนเหนือดินและเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำลายชนิดเอทิลอะซิเตท มีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (36.2 ± 4.5 และ 5.8 ± 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) มีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีกว่าสกัดข่าส่วนเหนือดินและเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำลายชนิดเอทานอล (229.1 ± 9.5 และ 69.6 ± 8.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และสารสกัดข่าส่วนเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีกว่าสารสกัดข่าส่วนเอทานอล เท่ากับ 12 เท่า ดังนั้นจากผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นอย่างชัดว่าสารสกัดข่าส่วนเหง้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถออกฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง K562 ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายเอทานอล

คำสำคัญ : สารสกัดข่า ความเป็นพิษ เอ็มทีที เซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด เค 562

Abstract

The purpose of this research was to study the cytotoxicity of the extracts of Alpinia galanga's aboveground and rhizomes. The samples were extracted using ethanol and ethyl acetate which were then tested on the K562 cell line by the MTT method. The results showed that for both the aboveground and rhizomes, of *Alpinia galanga*, the ethyl acetate extract had a higher cytotoxicity (IC_{50}) on the K562 cell line (36.2 ± 4.5 and 5.8 ± 0.5 µg/mL, respectively) than aboveground and rhizomes ethanol extraction (229.1 ± 9.5 and 69.6 ± 8.5 µg/mL, respectively) (p<0.05). Moreover, the rhizome *Alpinia galanga* ethyl acetate extract showed that it was 12 times more toxic on the K562 cell line than the ethanol extract. Finally, these results showed that for *Alpinia galanga* rhizomes ethyl acetate displayed the most effective cytotoxic effect on the K562 cell line when compare with ethanol extraction.

Keywords : *Alpinia galanga* extract, cytotoxicity, MTT, K562 cell line

บทนำ

ข่า (*Alpinia galanga* (L) Willd.) วงศ์ Zingiberaceae ชื่อท้องถิ่น ข่าตาแดง ข่าหยวก (เหนือ) ข่าหลวง พืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดิน เรียกว่า เหง้า มีข้อและปล้องชัดเจน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปใบหอก รูปวงรีหรือเกือบขอบขนาน ดอกช่อออกที่ยอด ผลเป็นผลแห้งแตกได้ รูปกลม เนื้อในของเหง้ามีสีเหลืองและมีกลิ่นหอมเฉพาะ รสเผ็ดปร่า สรรพคุณยาไทย ใช้เหง้าแก่ ขนาดเท่าหัวแม่มือ ทุบให้แตกต้มเอาน้ำ แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ แน่นจุกเสียด โรคกลากเกลื้อนเอาเหง้าแก่ ฝานเป็นแว่นหรือทุบให้แตกนำไปแช่เหล้า 1 คืน ใช้ไม้ขูดบริเวณที่เป็นให้แดง ทาวันละ 3-4 ครั้ง จนกว่าจะหาย นอกจากนี้ยังแก้ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ แก้ตะคริว ขับเลือดลมให้เดินสะดวก โดยตำเหง้าข่าผสมกับน้ำมันมะพร้าว ทาบริเวณที่มีอาการ (ปิยะพล พูลสุข และคณะ, 2561, หน้า 104-111) ใบ มีรสเผ็ดร้อน แก้กลากเกลื้อน ฆ่าพยาธิ ต้มอาบแก้ปวดเมื่อยตามข้อ ส่วนดอกมีรสเผ็ดร้อน เป็นยาแก้กลากเกลื้อน ส่วนผลของข่า มีรสเผ็ดร้อนฉุน ช่วยย่อยอาหาร แก้ปวดท้อง แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้คลื่นไส้ อาเจียน แก้บิด แก้แน่นหน้าอก สมุนไพรข่าได้ถูกนำอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยระบุการใช้ข่าในตำรับ “ยาแก้ลมอัมพฤกษ์” มีส่วนประกอบของเหง้าข่าร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่นๆ ในตำรับ มีสรรพคุณบรรเทาอาการปวดตามเส้นเอ็น กล้ามเนื้อ มือ เท้า ตึงหรือชา (พะยอม ตันติวัฒน์, 2521) มีการศึกษาและรายงานว่าสารกสัดเหง้าข่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีผลเพิ่มน้ำหนักตัวของหนู mice มีจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์เพิ่มขึ้น การเคลื่อนไหวของสเปิร์ม (sperm motility) มากขึ้น และจำนวนสเปิร์ม (sperm count) ที่มากขึ้นและไม่เป็นพิษต่อสเปิร์มอย่างเห็นได้ชัดในหนูทดลองกินสารสกัดข่า (Qureshi S et al., 1992: pp. 124-127) และมีการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันจากสารสกัด polysaccharide ส่วนที่ละลายได้ในน้ำร้อนของเหง้าข่า โดยทดสอบในหนูถีบจักร พบว่าสารสกัดเหง้าข่า ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถกระตุ้นการเกิด phagocytosis (การที่เม็ดเลือดขาวกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืนกิน) ของเซลล์ที่เรียกว่าเรทิคิวโลเอนโดทีเรียลเซลล์ (reticuloendothelial cell พบบริเวณม้าม ตับ ต่อมน้ำเหลือง และไขกระดูก เป็นต้น) ได้ โดยออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารมาตรฐาน zymosan และสามารถเพิ่มจำนวนของ peritoneal macrophage ซึ่งเป็นเซลล์ที่เก็บกินเชื้อโรคจากระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อใช้สารทดสอบในขนาดเดียวกัน นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ม้าม (spleen cell) ที่ทำหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอมในกระแสเลือดได้ ดังนั้นสาร polysaccharideจากเหง้าข่าจึงมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งแบบ phagocyte ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอม โดยใช้เยื่อหุ้มเซลล์โอบล้อมเชื้อโรคก่อนจะนำเข้าสู่เซลล์ และ lymphocyte กำจัดเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกายโดยกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้หลายแบบในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมในกระแสเลือด (Bendjeddou D, et al, 2003: pp. 155–160)

ตัวทำละลายในการสกัดสาร คือการแยกสารโดยอาศัยหลักการของละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในสมุนไพร โดยอาศัยหลักการของการละลายความมีขั้ว (polarity) ของทั้งตัวทำละลายและสารสำคัญ โดยสารสำคัญจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้ก็ต่อเมื่อความเป็นขั้วของตัวสารสำคัญกับตัวทำละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (like dissolves like) คือตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (dipole-dipole) ในทางตรงข้ามตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลไม่มีขั้วเป็นแรงแวนเดอวาลส์ (Van der Waals Force) เหมือนกัน ตัวอย่างตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารสำคัญในสมุนไพร แสดงดังตาราง 1 ซึ่งปกติตัวทำละลายที่นิยมที่ใช้บ่อยคือ คลอโรฟอร์ม (chloroform) เป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มี selectivity น้อยเกิด emulsion ง่ายถ้าใช้สารสกัดซึ่งเป็นด่างแก่อาจจะสลายตัวให้กรดเกลือ ส่วน

อีเธอร์ (ether) มีอำนาจในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่มี selectivity ดีกว่า คลอโรฟอร์ม ข้อเสีย คือระเหยง่าย ระเบิดง่าย เกิด oxide ได้ง่ายและดูดน้ำได้ดีมาก สำหรับเฮกเซน (hexane) เหมาะสำหรับพวกสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับขจัดไขมันสมุนไพร ข้อดี คือราคาถูก ส่วนแอลกอฮอล์ (alcohol) ที่ใช้มาก คือ เมทานอล และเอทานอลเป็น all-purpose solvent เนื่องจากมีคุณสมบัติในการละลายได้กว้างทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วและยังใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ายังมีการรายงานความเป็นพิษของสารสกัดข่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวยังมีน้อย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาว่าสารสกัดข่าส่วนเหนือดินหรือเหง้า และตัวทำลายชนิดใดที่สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ดีที่สุด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562
2. เพื่อหาส่วนของข่าเหนือดินหรือเหง้าที่มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562
3. เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะสกัดสารจากข่าที่มีฤทธิ์ในการทำละลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดข่า สารสกัดข่าที่สกัดจากส่วนที่เหนือดิน (ส่วนเหนือดินคือลำต้นเทียมเป็นกาบใบที่หุ้มซ้อนทับกัน มีสีเขียวทรงกระบอกกลม) และเหง้า (ลำต้นใต้ดิน) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล (ethanol) และเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) โดยได้รับความอนุเคราะห์จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ นำมาละลายด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยสารสกัดละลายมีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 นำเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด human chronic myeloid leukemia (K562) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPIM 1640 ที่มีร้อยละ 10 FBS และมี L-glutamine 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, penicillin100 ยูนิต/มิลลิลิตร และ streptomycin 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Gibco/Invitrogen, สหรัฐอเมริกา) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85

3. การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่า โดยวิธี MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 diphenyltetrazolium bromide] (Semsri S, et al, 2020: pp. 51-59) จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เริ่มต้นที่ใช้ในการทดสอบ คือ 1 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่มีร้อยละ 10 FBS ใน RPMI 1640 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดข่าส่วนเหนือดิน และเหง้า ที่สกัดด้วยทำละลายเอทานอล หรือเอทิลอะซิเตท ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ส่วนชุดควบคุม (vehicle control; VC) เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะ DMSO โดยให้มีความเข้มข้นสุดท้ายน้อยกว่าร้อยละ 1 ทุกการทดสอบ และเพาะเลี้ยงเซลล์นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายสี MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วบ่มต่ออีกนาน 2 ชั่วโมง ครบเวลา คว่ำ จานอาหารเลี้ยงเซลล์ และเติม DMSO จำนวน 150 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ที่เกิดขึ้น วัดค่า

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 นาโนเมตร โดยในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 หลุม และแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คำนวณร้อยละของการมีชีวิต (% cell viability) เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในหลุมควบคุม

% cell viability = (ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ / ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม) x 100

ผลการวิจัย

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข่าส่วนเหนือดิน และเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตท ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เพื่อค้นหาฤทธิ์ของสารสกัดข่าในด้านการต้านมะเร็ง (anti-cancer activity) พบว่าสารสกัดข่าส่วนที่เหนือดิน ที่สกัดด้วยทำละลายเอทิลอะซิเตท มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 โดยสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ได้ดีกว่าตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้น 36.2 ± 4.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท) และ 229.1 ± 9.5 (สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล) ตามลำดับ สำหรับสารสกัดข่าส่วนเหง้า พบว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ความเข้มข้น 5.8 ± 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นความเข้นข้มที่ต่ำกว่าตัวทำละลายเอทานอล (69.6 ± 8.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1) ดังนั้นส่วนของข่าที่สกัดแล้วมีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ สารสกัดข่าส่วนเหง้า

ในการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้สารสกัดข่าที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าตัวทำละลายชนิดเอทานอลในการสกัดข่าส่วนเหง้ามีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (ความเข้มข้น 69.6 ± 8.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้ดีกว่าส่วนเหนือดิน (ความเข้มข้น 229.1 ± 9.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ก็พบว่าสกัดข่าส่วนเหง้ามีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (ความเข้มข้น 5.8 ± 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้ดีกว่าส่วนเหนือดิน (ความเข้มข้น 36.2 ± 4.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นกัน (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1)

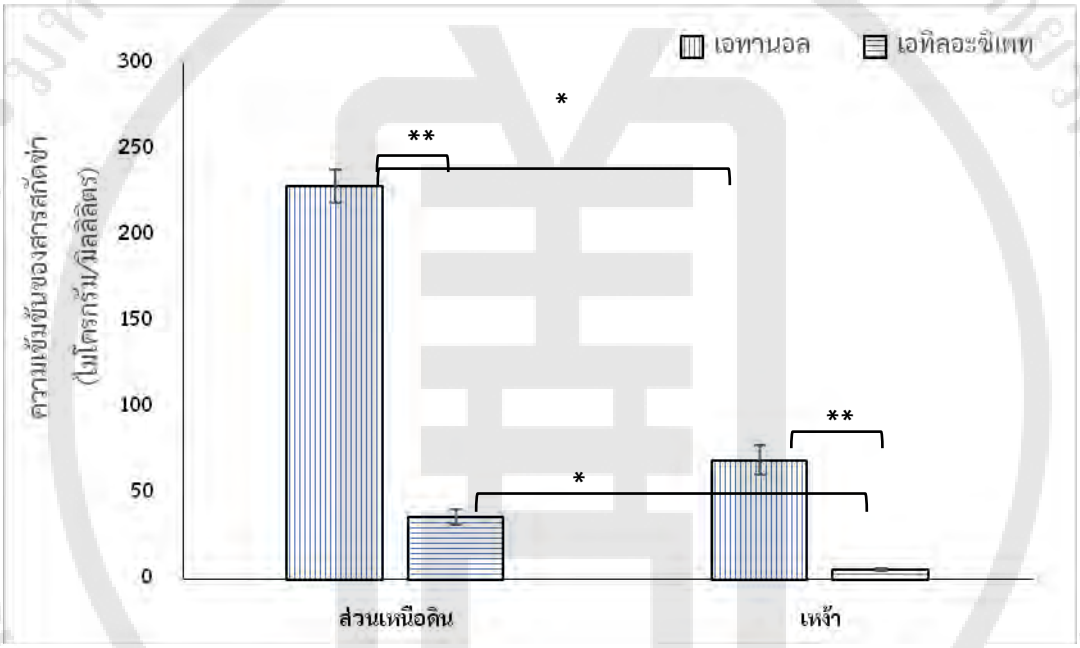
จากผลการศึกษาพบว่าส่วนของสารสกัดข่าและตัวทำละลายในการสกัดข่าที่แสดงฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 คือ ส่วนของข่าที่เป็นเหง้า ส่วนในด้านของตัวทำละลายที่การสกัดคือเอทิลอะซิเตท

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดข่าต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

ส่วนของสารสกัดข่า	ความเข้มข้นของสารสกัดข่า (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) Mean ± SD			
	ตัวทำละลายเอทานอล		ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท	
	IC_{50}		IC_{50}	
เหนือดิน	229.1 ± 9.5	*	36.2** ± 4.5	*
เหง้า	69.6 ± 8.5		5.8** ± 0.5	

*แสดงถึงผลการทดสอบที่เปรียบเทียบระหว่างส่วนของสารสกัดข่า คือ ส่วนที่เหนือดิน และส่วนเหง้า ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$)

**แสดงถึงผลการทดสอบที่เปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลายในการสกัด คือ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$)



ภาพที่ 1 ความเป็นพิษของสารสกัดข่าส่วนเหนือดิน และเหง้า สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตท และ เอทานอลต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด K562

*แสดงถึงผลการทดสอบที่เปรียบเทียบระหว่างส่วนของสารสกัดข่า คือ ส่วนที่เหนือดิน และส่วนเหง้า ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$)

**แสดงถึงผลการทดสอบที่เปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลายในการสกัด คือ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$)

สรุปผลการวิจัย และ อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษสารสกัดข่าส่วนที่เหนือดิน และเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท จากการศึกษาแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่า สารสกัดข่าส่วนเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์ในความเป็นพิษ (IC_{50}) ที่สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 ที่ระดับความเข้มข้นเพียง 5.8 ± 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งดีกว่าสารสกัดข่าส่วนเหนือดิน (36.2 ± 4.5

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เท่ากับ 12 เท่า นอกจากนี้การศึกษานี้ยังบ่งชี้ว่าตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตท สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 จากข่าในส่วนเหนือดิน (36.2 ± 4.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดเอทานอล (229.1 ± 9.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เท่ากับ 6.33 เท่า และในส่วนเหง้าตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตทสามารถสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีกว่าเอทานอลเท่ากับ 12 เท่า (69.6 ± 8.5 และ 5.8 ± 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) มีการรายงานว่าข่าส่วนเหง้าสด มีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.5 มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ 1,8 cineole (53.57%), α-pinene (2.67%), trans-caryophyllene (2.61%), terpinen-4-ol (2.41%), chavicol (1.00%) (ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ, 2548) และมีการรายงานว่าสาร 4'-hydroxycinnamaldehyde (4'-HCA) แยกได้จากสารสกัดเหง้าข่า สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด HL-60 และ U937 เกิดการตายแบบ apoptosis โดยเกี่ยวข้องกับการหลั่ง cytochrome C โดยผ่าน mitochondrial and ER (endoplasmic reticulum) stress signaling pathways (Banjerdpongchai R, 2011: pp. 593-598) และสารสกัด 1′-acetoxychavicol acetate ซึ่งสกัดมาจากเหง้าของข่า มีฤทธิ์ในการเป็น antiproliferation โดยลดการแสดงออกของ human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), pERK1/2, pAKT, estrogen receptor coactivator, cyclin D1, and MYC proto-oncogene ในเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยงชนิด MCF7 (Pradubyat N, et al, 2022: pp. 163-178) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดข่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิด 96% เอทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด 4T1 ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ความเข้มข้น 135 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีสนับสนุนผลการศึกษาครั้งนี้ว่าสารสกัดข่าส่วนเหง้ามีความเป็นพิษและฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง (anti-cancer) และตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ดีที่สุด ซึ่งเป็นสารที่ในกลุ่มขั้วปานกลาง

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาสารสกัดข่าส่วนเหนือดินและเหง้า และศึกษาถึงตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ พบว่าคือส่วนเหง้า และตัวทำละลายชนิดเอทิลอะซิเตท ซึ่งเป็นสารสกัดในองค์รวม (crude extract) ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรศึกษาถึงสารบริสุทธิ์ และสูตรโครงสร้างของสารสกัดข่าส่วนเหง้า และศึกษาในด้านอณูชีวโมเลกุลในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์เบญจวรรณ สมบูรณ์สุข โรงเรียนแพทย์แผนโบราณวัดพระเชตุพนวิมลมังคลาราม และโรงเรียนเพ็ญแขแพทย์แผนไทย ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืช และขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติที่สนับสนุนในการทำวิจัย และขอขอบคุณ ดร. ฉายสุรีย์ ศุภวิไล สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

เอกสารอ้างอิง

ปิยะพล พูลสุข, สุชาดา ทรงผาสุข, เมริษา จันทา, เนตรยา นิ่มพิทักษ์พงศ์, กิตรวี จิรรัตน์สถิต. (2561). ประสิทธิผลของยาพอกสมุนไพรเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม. ธรรมศาสตร์เวชสาร, 18, 104-11.

พะยอม ตันติวัฒน์. (2521). สมุนไพร. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

ศิริเพ็ญ จริเกษม, ศิรินันท์ ทับทิมเทศ, ธัญวรัตน์ กาจสงคราม, อุบล ฤกษ์อ่ำ, จรัส ทิสยากร. (2548) น้ำมันหอมระเหยไทย. บริษัทเซเว่น พริ้นติ้ง กรุ๊ป จำกัด:กรุงเทพมหานคร.

Ahlina FN, Nugraheni N, Salsabila IA, Haryanti S, Da'I Muhammad, Meiyanto E, (2020). Revealing the Reversal Effect of Galangal (*Alpinia galanga* L.) Extract Against Oxidative Stress in Metastatic Breast Cancer Cells and Normal Fibroblast Cells Intended as a Co- Chemotherapeutic and Anti-Ageing Agent. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 21:107-117.

Banjerdpongchai R., Punyati P., Nakrob A., Pompimon W., Kongtawelert P. (2011). 4'-Hydroxycinnamaldehyde from *Alpinia galanga* (Linn.) Induces Human Leukemic Cell Apoptosis via Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Pathways. Asian Pacific J Cancer Prev, 12, 593-598.

Bendjeddou D, Lalaoui K, Satta D. (2003). Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of Anacyclus pyrethrum, Alpinia galanga and Citrullus colocynthis. J Ethnopharmacology. 88:155–160.

Chudiwal AK, Jain DP, Somani RS. (2010). Alpinia galanga Willd.– An overview on phyto-pharmacological properties. Indian J Nat Prod Resour.1(2);143-149.

Phitak T, Choocheep K, Pothacharoen P, Pompimon W, Premanode B, Kongtawelert P. (2009). The effects of p-hydroxycinnamaldehyde from Alpinia galanga extracts on human chondrocytes. Phytochemistry. 70:237–243.

Pradubyat N, Giannoudis A, Elmetwali T, Mahalapbutr P, Palmieri C, Mitrpant C, et al (2022). 1′-Acetoxychavicol Acetate from Alpinia galanga Represses Proliferation and Invasion, and Induces Apoptosis via HER2-signaling in Endocrine-Resistant Breast Cancer Cells. Planta Med. 88(02):163-178.

Qureshi S, Shah AH, Ageel AM. (1992). Toxicity studies on Alpinia galanga and Curcuma longa. Planta Med. 58(2):124-127.

Semsri S, Seatewb C, Rattanabunyongc S, Ruekitc S, Horataa N, Panyad A, et al. (2020). In-vitro Studies of Anti-EGFR Tyrosine Kinase Activity of Thai nutraceutical Plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 19(1):51-59.

Yasuhara T, Manse Y, Morimoto T, Qilong W, Matsuda H, Yoshikawa M, et al. (2009). Acetoxybenzhydrols as highly active and stable analogues of 1'S-1'-acetoxychavicol, a potent antiallergic principal from Alpinia galanga. Bioorg Med Chem Lett. 19:2944–2946.