

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งมีจำนวนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทางวงการแพทย์ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า มะเร็งเกิดจากสาเหตุใด แต่พบว่ามี ความเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางพันธุกรรม และฮอร์โมนร่วมกับด้วย คนไทยหันมาให้ความสนใจในเรื่องของมะเร็งมากขึ้น เพราะหากมีการตรวจพบความผิดปกติที่เกิดขึ้นในระยะแรกๆ ของโรคมะเร็งบางชนิดก็จะสามารถรักษาให้หาย และช่วยให้ผู้ป่วยมีโอกาสรอดชีวิตจากโรคร้ายนี้ได้ การรักษามะเร็งมีหลายวิธี ได้แก่ การผ่าตัดเอาเนื้อส่วนที่เป็นมะเร็งออก การฉายแสงรังสีเพื่อฆ่าหรือหยุดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง การใช้ยาป้องกันการแพร่กระจาย หรือการลุกลามของเซลล์มะเร็ง การใช้ฮอร์โมน เคมีบำบัด และการรักษาที่ระดับยีน (1) อย่างไรก็ตามการรักษาโดยวิธีต่างๆ ข้างต้น ล้วนมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยแทบทั้งสิ้น อีกทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาที่ยาวนานส่งผลให้ผู้ป่วยโรคมะเร็งมีคุณภาพชีวิตที่เสียไป ปัจจุบันมีการนำยาที่ผลิตจากธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มากขึ้น รวมไปถึงยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ได้แก่ Paclitaxel ซึ่งเป็นยาที่ได้จาก *Taxus brevifolia* และ Camptothecin เป็นยาที่ผลิตมาจาก *Camptotheca acuminata* (2, 3) เป็นต้น

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีการนำพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มาใช้ในการป้องกันและรักษาโรค ทั้งที่มีอาการไม่รุนแรงจนถึงโรคร้ายแรงต่างๆ มากขึ้น เนื่องจากพืชเหล่านั้นหาได้ง่าย ราคาไม่แพง และมีผลข้างเคียงน้อยเมื่อเทียบกับสารสังเคราะห์บางชนิด ยกตัวอย่างเช่น กระเทียม (*Allium sativum*) สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดเมื่อทดสอบในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน (4) เคอร์คูมิน (Curcumin) หรือ Diferuloyl methane ในขมิ้น (Turmeric) ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอในมนุษย์ (Head and Neck Squamous Cell Carcinoma) รวมไปถึงเซลล์มะเร็งสมองในมนุษย์ (Malignant astrocytoma) โดยไปยับยั้งการทำงานของ Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) เคอร์คูมินเมื่อใช้ร่วมกับเจนิสทินจะช่วยยับยั้งการเจริญของ MCF-7 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งเต้านมในมนุษย์ (Human breast cancer cells) โดยพบว่าเคอร์คูมิน เจนิสทิน และสารสกัดจากผงขมิ้น สามารถลดการเจริญของ MCF-7 ที่ถูกชักนำให้เกิดการแบ่งตัวโดยสารเอสตราไดโอดลได้ 4.5%, 31.6% และ 20% ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เคอร์คูมิน (10  $\mu$ M) ร่วมกับเจนิสทิน (25  $\mu$ M) จะสามารถลดการเจริญของ MCF-7 ได้เกือบสมบูรณ์ นอกจากนี้ Huang และคณะยังพบว่าเคอร์คูมินสามารถลดจำนวนและขนาดของก้อนเนื้องอกในหนูที่ถูกชัก

นำให้เป็นเนื้องอกที่กระเพาะอาหารและลำไส้ได้ (5-8) จะเห็นได้ว่าการศึกษาวิจัยในพืชและสมุนไพรเพื่อการรักษาโรคในปัจจุบันมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากพืชและสมุนไพรแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ส่งผลให้มีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางในพืชแทบทุกกลุ่มรวมไปถึงพืชในกลุ่มที่ให้รสเผ็ด โดยพืชในกลุ่มนี้มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด และที่คนไทยนิยมบริโภคกันได้แก่ พริก (Chili) ซึ่งมีแคปไซซิน (Capsaicin) เป็นส่วนประกอบสำคัญ จากการทดสอบในคนพบว่าสารนี้มีฤทธิ์ช่วยต้านฤทธิ์ของยาแอสไพรินที่ทำให้เกิด Gastroduodenal mucosal injury และต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer) ส่วนครีมพริกสามารถบรรเทาปวดภายหลังการผ่าตัดได้(9-11) นอกจากนี้แคปไซซินยังมี Vanillyl moiety เป็นส่วนประกอบซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวและชักนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis ของเซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด Cutaneous Squamous Cell Carcinoma (SCC) อีกด้วย (12) Surh และคณะพบว่า Gingerol ในขิง (*Zingiber officinale*) มีฤทธิ์กีดสาร 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการเกิดมะเร็ง ทำให้มีการยับยั้งการเกิดมะเร็งที่ผิวหนังของหนู (13) ส่วนในข่า (*Languas galanga*) มี 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) สามารถชักนำให้เกิด Apoptosis ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในคน (Human Myeloid Leukemic Cells) และทำให้ช่วงชีวิตของหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเนื้องอกยาวนานขึ้น (14) จากงานวิจัยของ Betoni และคณะ พบว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ร้อยละ 90 (Minimum Inhibitory Concentration 90% หรือ MIC 90%) ของสารสกัดจากตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) มีค่าเท่ากับ 17.84 mg/ml และสามารถออกฤทธิ์เสริม (Synergism) กับยาปฏิชีวนะ (Antimicrobial drug) ที่ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* เช่น ยาเตตราไซคลิน (Tetracyclin) คลอแรมฟนิคอล (Chloramphenicol) และเพนิซิลลิน (Penicillin) เป็นต้น (15) ในปี ค.ศ. 2002 Patoomratana และคณะ พบว่าสารสกัดจากกระชายแดง (*Boesenbergia pandurata* หรือในปัจจุบันคือ *Boesenbergia rotunda*) มีฤทธิ์ช่วยลดอาการบวมที่หูของหนูซึ่งเกิดจากการอักเสบที่ชักนำโดยสาร TPA ได้ (16) จะเห็นได้ว่าพืชสมุนไพรที่มีรสเผ็ดชนิดต่างๆ เข้ามามีบทบาทมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาวิจัยที่ค้นพบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต่างๆ ทั้งนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาพิเพอริน (Piperine) ซึ่งพบมากในพริกไทยดำ (*Piper nigrum*) โดยจากรายงานการวิจัยพบว่าพิเพอรินมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ (17) และต้านฤทธิ์ของ Aflatoxin B1 (AFB-1) ที่ชักนำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) และการเกิด Micronuclei formation ในเซลล์มะเร็งตับหนู H4IIEC3 (H4IIEC3 rat hepatoma cells) (18) รวมไปถึงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งผิวหนัง B16F-10 melanoma cells โดย

พิเพอรินที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อ B16F-10 ถึง 100% และสามารถลดการเกิดก้อนเนื้องอกในปอดของหนูที่ถูกชักนำโดย B16F-10 ได้ถึง 95.2% เมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับพิเพอริน (19) นอกจากนี้พิเพอรินยังมีฤทธิ์ช่วยในการดูดซึมวิตามินบางชนิด ได้แก่ วิตามินบี (Vitamin B) และแคโรทีน (Carotene) Khajuria และคณะพบว่าพิเพอรินจะถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากพิเพอรินเป็นโมเลกุลแบบไม่มีขั้ว (Apolar molecule) และจับกับยาหรือสารต่างๆ ซึ่งเป็นสารประกอบแบบไม่มีขั้วได้ จึงสามารถช่วยให้ยาหรือสารต่างๆ ผ่านผนังลำไส้เล็กไปได้ (20, 21) ในปี ค.ศ. 1998 Shoba และคณะได้ทำการทดลองในหนูและมนุษย์พบว่าหากใช้พิเพอรินปริมาณเพียงเล็กน้อยผสมกับเคอร์คูมินจะทำให้มีการดูดซึมเคอร์คูมินสูงขึ้นถึง 1.54 เท่าในหนูและ 20 เท่าในมนุษย์เมื่อเทียบกับการให้เคอร์คูมินเพียงอย่างเดียว (22) นอกจากนี้ Sunila และ Kuttan พบว่าพิเพอรินที่ความเข้มข้น 1.14 mg สามารถยับยั้งการเจริญของก้อนเนื้องอกในหนูได้ถึง 37.3% และทำให้หนูมีช่วงชีวิตยาวนานขึ้นโดยคิดเป็น 58.8% (23) ด้วยคุณสมบัติข้างต้นของพิเพอริน อีกทั้งยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยใดๆ รายงานถึงผลของพิเพอรินต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติของมนุษย์มาก่อน คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาผลของพิเพอรินต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ชนิดต่างๆ และเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติของมนุษย์ในหลอดทดลองและศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสาร โดยทำการศึกษาวิจัยในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) เซลล์มะเร็งกล่องเสียง (HEp-2) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (H9 และ Jurkat)

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของพิเพอรินในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งมนุษย์ชนิดต่างๆ และเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติของมนุษย์ (Human Peripheral Blood Mononuclear Cells) ในหลอดทดลอง
2. เพื่อศึกษากลไกการทำงานของพิเพอรินในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (H9 และ Jurkat) ในระดับเซลล์

### ขอบเขตของการวิจัย

1. ตรวจสอบผลของพิเพอรินในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งมนุษย์ชนิดต่างๆ และเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติของมนุษย์โดย MTS assay
2. ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของพิเพอรินต่อ H9 และ Jurkat ดังนี้

2.1 ความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำการศึกษาวิจัยโดยการตรวจวัด Cell viability ด้วย Trypan blue dye exclusion method และ ตรวจวัด Lactate Dehydrogenase (LDH) activity

2.2 ผลของพิเพอรีนต่อการเจริญของเซลล์ในระยะต่างๆ (Cell cycle analysis) ทำการศึกษาวิจัยโดยการตรวจวัด DNA content ด้วยเครื่อง Flow cytometer

2.3 การชักนำให้เกิด Apoptosis ทำการศึกษาวิจัยโดยการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell morphology) ผ่าน Fluorescent Microscope, ตรวจสอบ DNA fragmentation โดย Gel electrophoresis และตรวจสอบ Phosphatidylserine (PS) บนผิวเซลล์โดยเครื่อง Flow cytometer

### **ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ทราบฤทธิ์ของพิเพอรีนต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งมนุษย์ชนิดต่างๆ
2. ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของพิเพอรีนในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด
3. ทราบผลการออกฤทธิ์ของพิเพอรีนต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติของมนุษย์ซึ่งสามารถใช้เป็นพื้นฐานการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของพิเพอรีนในขั้นต่อไป
4. ค้นพบองค์ความรู้ใหม่เพื่อการพัฒนาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง และเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพร