

ผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงที่เวลาสกัดต่างกัน ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และผลต่อปริมาณของสารเหนียวนำการอักเสบนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี

ดวงแก้ว ปัญญาภู^{*,**}, อาณัฐชัย ม้ายอุเทศ^{†,‡}, พิชชากร จันทรางกูร[‡], ภัทรวิทย์ รักษ์ทอง^{§,||}, ปัทมพรรณ โลมะรัตน์[#]

* กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

† ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

‡ หน่วยวิจัยชีวเภสัชศาสตร์เพื่อสุขภาพวัยชรา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

§ สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ตำบลองครักษ์ อำเภองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120

|| ศูนย์เพื่อความเป็นเลิศทางวิจัยด้านนวัตกรรมพืชและสมุนไพร สถาบันยุทธศาสตร์ทางปัญญาและวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

** ผู้รับผิดชอบบทความ: Kpanyaphu@gmail.com

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: โรคอุบัติใหม่ ก่อให้เกิดความตื่นตัวด้านการค้นหาใหม่ ทั้งเพื่อช่วยส่งเสริมในด้านการป้องกันโรค การรักษาพยาบาล และฟื้นฟูร่างกายเมื่อหายจากการเป็นโรคต่าง ๆ ปัจจุบัน สมุนไพรเป็นเป้าหมายสำคัญที่นักวิจัยให้ความสนใจ เพื่อพัฒนาและนำมาใช้เป็นตัวช่วยใหม่ในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจของสารสกัดเครื่องแกงเลียง โดยศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และผลต่อการหลั่งสารเหนียวนำการอักเสบนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี (NF- κ B)

วิธีการศึกษา: ใช้ระเบียบวิธีวิจัยเชิงทดลอง (ในห้องปฏิบัติการ) โดยทำการสกัดเครื่องแกงเลียงด้วยวิธีการต้มที่เวลา 10, 20 และ 30 นาที แล้วนำไปทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และการเหนียวนำนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี

ผลการศึกษา: พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยการต้มทั้งสามเวลา มีผลลดการมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ โดยสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ของแมคโครฟาจ สำหรับการศึกษาผลต่อโดยการเหนียวนำนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี พบว่าสารสกัดมีแนวโน้มลดปริมาณของ นิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี ซึ่งเป็นโปรตีนตั้งต้นที่กระตุ้นการทำงานของการผลิตสารอักเสบที่หลั่งออกจากแมคโครฟาจ โดยการศึกษาจะเห็นผลที่ชัดเจนในภาวะที่มีการกระตุ้นด้วย PamCys3 โดยเฉพาะสารสกัดที่ 30 นาทีสามารถลดการทำงานของนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บี ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย PamCys3 ได้ดีกว่าสารสกัดแบบ 10 และ 20 นาที และดีกว่าในภาวะเซลล์กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด

อภิปรายผล: แกงเลียงเป็นหนึ่งในแกงไทยที่ได้รับความนิยมศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยก่อนหน้านี้มีการ

รายงานผลว่ามีฤทธิ์ด้านมะเร็ง การศึกษาครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาฤทธิ์เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและฤทธิ์ด้านการอักเสบของแกงไทย ซึ่งก่อนหน้านี้มีการศึกษาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก เฟลโวนอยด์ และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอาหารไทย ได้แก่ แกงเลียง ส้มตำ และผัดกะเพรา มาแล้ว ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนฤทธิ์ด้านการอักเสบของสมุนไพรพริกไทยและหอมแดงที่เป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องแกงเลียง เห็นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบต่อไป

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ: ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบหลักของแกงเลียง น่าจะมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นและทำในระดับห้องปฏิบัติการ เห็นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลในระดับสัตว์ทดลองและการศึกษาทางเภสัชวิทยาต่อไป

คำสำคัญ: แกงเลียง, ความมีชีวิตของเซลล์, ฤทธิ์ด้านการอักเสบ, การลดปริมาณนิวเคลียร์ แฟกเตอร์ แคปปี

Effect of Extraction Time of Kaeng Liang Paste on Cell Viability and Anti-inflammatory Activity by NF-KB Induction

Duangkaew Panyaphu^{*,**}, Arnatchai Maiuthed^{†,‡}, Pitchakorn Chantharangkura[‡],
Pattarawit Rukthong^{§,¶}, Pattamapan Lomarat[#]

^{*} Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

[†] Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thung Phaya Thai, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand.

[‡] Unit of Molecular Ageing Research, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thung Phaya Thai, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand.

[§] Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Srinakharindwirot University, Ongkharak Subdistrict, Ongkharak District, Nakhon Nayok 26120, Thailand

[¶] Center for Excellence in Plant and Herbal Innovation Research, Strategic Wisdom and Research Institute, Srinakharinwirot University, Khlong Toei Nuea, Wathana, Bangkok 10110, Thailand

[#] Food chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thung Phaya Thai, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

**** Corresponding author:** Kpanyaphu@gmail.com

Abstract

Introduction and Objective: The occurrence of emerging diseases has encouraged scientists to search for new drugs or methods as well as food supplements for health promotion, disease prevention, treatment and rehabilitation. Nowadays, herbs are one of the targets for drug discovery. This study aimed to explore the effect of extraction time of Kaeng Liang paste on its immunological activities, as determined by cell viability assay and the anti-inflammatory activity by NF-KB induction.

Methods: Kaeng Liang paste extracts were obtained by decoction at 10, 20, and 30 minutes; and the determination of cell viability and anti-inflammatory activity by NF-KB induction of the extracts was performed.

Results: The three extracts of Kaeng Liang paste were capable of reducing cell viability and proliferation of macrophages. A consequence study about NF-KB induction indicated that there was a trend to reduce the release of inflammatory substance from macrophage in NF-KB pathway. This effect could be seen when they were up-regulated by PamCys3. Especially, the extract from 30-min decoction could decrease the function of NF-KB more than those from 10-min and 20-min decoctions and the untreated cells.

Discussion: Kaeng Liang is a Thai spicy-veggie soup, whose bioactivity studies have been conducted. It has previously been reported that it has anti-cancer activity. This study is part of a study on the immunomodulatory and anti-inflammatory activities of Thai curries. Previously, the amount of constituents in phenolics and flavonoids, and antioxidant activities of Thai food extracts such as Kaeng Liang, Papaya Salad, and Pad Kaphrao were studied. The results of this study confirmed the anti-inflammatory activities of pepper and shallots, which were the main ingredients of Kaeng Liang paste. It is suggested that further studies of the mechanism of anti-inflammatory activities should be undertaken.

Conclusion and Recommendation: The study has confirmed the anti-inflammatory activity of shallot and pepper, the main ingredients of Kaeng Liang paste. Nevertheless, this study was conducted in vitro, further investigations on its anti-inflammatory activity in animals, pharmacological aspects and the mechanism of anti-inflammatory activities should be undertaken.

Key words: Kaeng Liang, cell viability, anti-inflammatory activity, NF-KB induction

บทนำและวัตถุประสงค์

โรคอุบัติใหม่ ก่อให้เกิดความตื่นตัวด้านการค้นหาโรคใหม่ ทั้งเพื่อช่วยในการส่งเสริมป้องกันโรค การรักษาพยาบาล และฟื้นฟูร่างกายเมื่อหายจากการเป็นโรคต่าง ๆ ปัจจุบันนักวิจัยจากทั้งในประเทศและต่างประเทศต่างมีความสนใจในการนำสมุนไพรชนิดต่าง ๆ มาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหาสมุนไพรใหม่เพื่อใช้ในการรักษาและบรรเทาความเจ็บป่วยรูปแบบต่าง ๆ ประเทศไทยมีภูมิศาสตร์ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นทำให้มีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ที่เอื้ออำนวยให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพทั้งสายพันธุ์พืชและสัตว์ เป็นอันดับต้น ๆ ของโลก และที่ผ่านมามีประเทศไทยได้มีการใช้ทรัพยากรเหล่านี้ผ่านภูมิปัญญาพื้นบ้านในการนำสมุนไพรมาใช้รักษาโรค และประกอบเป็นอาหารเพื่อส่งเสริมการป้องกันโรค จนมีตำรับอาหารไทยนานาชนิดที่มีการส่งต่อองค์ความรู้ดังกล่าวมาจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษาวิจัยที่อิงกับภูมิปัญญาที่ได้สืบทอดกันมานั้น มีโอกาสประสบความสำเร็จในการวิจัยและสามารถนำไปต่อยอดเพื่อ

ใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้มากกว่าการคิดค้นผลิตยาตามรูปแบบเดิมซึ่งใช้ระยะเวลาที่นานและมีอัตราการประสบความสำเร็จค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตาม การรับประทานสมุนไพรในรูปแบบอาหาร จะเน้นการส่งเสริมป้องกันโรคมกกว่าการรักษาโรคที่จำเป็นต้องมีขนาดสารสำคัญทางยาที่แน่นอน เช่น ในรูปแบบสารสกัด ซึ่งปริมาณสารสำคัญตลอดจนวิธีการสกัด มีผลต่อสารออกฤทธิ์และฤทธิ์ของสารสกัด ซึ่งการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากตำรับอาหารไทยที่มีสมุนไพรเป็นองค์ประกอบหลักในรูปแบบสารสกัดนั้นจะเป็นประโยชน์ต่อประเทศไทยในระยะยาว เนื่องจากทำให้มีผลิตภัณฑ์สุขภาพที่เป็นของคนไทยเพิ่มขึ้น ทำให้ลดการพึ่งพาหรือผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ เสริมสร้างความแข็งแรงของร่างกายทำให้ลดการเจ็บป่วยที่อาจเกิดขึ้นทั้งจากโรคติดเชื้อและกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง อื่น ๆ อาทิ มะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน เป็นต้น ซึ่งตามแนวทางนี้จะช่วยแก้ไขปัญหาด้านสาธารณสุขของประเทศได้ นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเพื่อเพิ่มรายได้ให้กับประเทศและก่อ

ให้เกิดห่วงโซ่คุณค่า (Value chain) การกระจายรายได้ไปสู่ภาคเกษตรอันจะเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศได้อีกทางหนึ่งด้วย

การอักเสบ (inflammation) เป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เพื่อลด และ/หรือ หลีกเลี่ยงการบาดเจ็บ เช่น เชื้อโรค การตายของเซลล์จากการขาดเลือดหรือขาดออกซิเจน การตอบสนองโดยกระบวนการอักเสบประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด การเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาว และผลกระทบที่เกิดขึ้นกับร่างกายทั้งระบบ (systemic effect) ซึ่งกระบวนการอักเสบที่มากเกินไปจะทำร่างกายถูกกระตุ้นมากเกินไปจนเกิดความรู้สึกไม่สมดุลของอนุมูลอิสระ ทำให้มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมาก เกินสมดุล และเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) จนเป็นจุดเริ่มต้นของโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง, เบาหวาน รวมทั้งเป็นสาเหตุของความรุนแรงของโรคติดเชื้อ เช่น โควิด-19 เป็นต้น^[1-2]

ตำรับอาหารไทยที่คณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่ามีความศักยภาพในการวิจัยและพัฒนาในครั้งนี้ คือ แกงเลียง ซึ่งสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบของตำรับแกงเลียงมีหลากหลาย ทั้งเครื่องเทศที่เป็นส่วนประกอบของเครื่องแกง และผักที่เติมเพิ่มลงไป สมุนไพรหลายชนิดได้รับการศึกษาวิจัยมาก่อนหน้านี้ว่ามีฤทธิ์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานหรือกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยปัจจุบันได้มีการรวบรวมข้อมูลดังกล่าวไว้ในหนังสือ “อาหารเสริมภูมิคุ้มกันต้าน COVID-19 สำหรับผู้สูงอายุ”^[3] และคู่มือ “อาหารสมุนไพรเสริมภูมิคุ้มกันในภาวะที่มีการระบาดของโควิด-19”^[4] จากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ พบว่าพริกไทย (*Piper nigrum*) สามารถเพิ่มการทำงานของภูมิคุ้มกันและมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง^[5-7] และหอมแดง

(*Allium ascalonicum*) มีฤทธิ์ลดการอักเสบและต้านมะเร็งในหลอดทดลอง^[8] เป็นต้น อีกทั้งแกงเลียงเป็นแกงไทยโบราณที่มีกลิ่นหอมและรสชาติเป็นเอกลักษณ์ จัดเป็นอาหารที่ดีต่อสุขภาพ ตามภูมิปัญญาไทย แนะนำให้หญิงหลังคลอดรับประทาน เชื่อว่าจะเพิ่มปริมาณน้ำนม แกงเลียงประกอบด้วยผักหลายชนิด อาทิ เช่น พักทอง บวบ น้ำเต้าอ่อน ตำลึง หัวปลี ใบแมงลัก พริกไทย กระชาย และหอมแดง เป็นหลัก นอกจากนี้ ยังปรุงด้วย กะปิ กุ้งแห้ง น้ำปลา และกุ้งสด หรือเนื้อสัตว์ จึงเป็นอาหารที่ให้พลังงานไม่สูงมาก แต่มีใยอาหารตลอดทั้งวิตามินและเกลือแร่สูง^[9] แกงเลียงจัดเป็นอาหารสุขภาพที่มีรสเผ็ดร้อนจากพริกไทย และกระชาย ที่ช่วยกระตุ้นระบบย่อยอาหารและระบบไหลเวียนเลือด เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ผู้ป่วยโรคเบาหวาน และผู้ป่วยโรคเรื้อรังที่ต้องการเสริมภูมิคุ้มกันโรคแบบธรรมชาติ ปัจจุบันมีบทความหลายฉบับที่รายงานสรรพคุณตามภูมิปัญญาของแกงเลียงและสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของแกงเลียง ที่นอกจากเป็นอาหารแนะนำสำหรับหญิงหลังคลอดแล้ว ยังแนะนำให้เป็นอาหารที่สามารถรับประทานได้ตลอดทั้งปี โดยสามารถปรับเปลี่ยนสัดส่วนของส่วนประกอบของเครื่องแกงให้เหมาะสมกับฤดูกาลต่าง ๆ^[10] ปัจจุบันมีการผลิตเครื่องแกงเลียงเป็นเครื่องแกงสำเร็จรูปวางขายตามร้านสะดวกซื้อและห้างสรรพสินค้าต่าง ๆ และมีการจดสิทธิบัตรสูตรแกงเลียงก๊อมนเสริมผักและใยอาหาร ซึ่งเป็นสิ่งประดิษฐ์สำเร็จรูปที่ผลิตในรูปแบบพร้อมจำหน่าย^[11]

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบซึ่งมีผลต่อการเจ็บป่วย และภูมิคุ้มกันโรคของแกงเลียง ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา

ฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ และกระบวนการอักเสบ โดยศึกษาผลของสารสกัด เครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยเวลาต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และผลต่อการหลั่งสารเหนี่ยวนำนิวเคลียร์ แฟกเตอร์ แคปปาบี (NF- κ B) ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวจะสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาต่อยอดในสัตว์ทดลอง และเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการส่งเสริมและป้องกันโรคของตำรับอาหารไทยต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 พืชสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของแกงเลียง

การศึกษานี้จัดหาวัตถุดิบสมุนไพรและเครื่องเทศไทยที่ใช้ในการประกอบอาหารตำรับแกงเลียงจากห้างสรรพสินค้าและตลาดในกรุงเทพมหานคร นำมาสกัดสมุนไพร เพื่อทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และผลต่อการหลั่งสาร NF- κ B ได้แก่ กระชาย พริกไทยขาว และหอมแดง

2. วิธีการศึกษา

2.1 การเตรียมสารสกัดเครื่องแกงเลียง

จัดหาวัตถุดิบสมุนไพรและเครื่องเทศไทยที่ใช้ในการประกอบอาหารตำรับแกงเลียงจากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร โดยสารสกัดที่เตรียมประกอบด้วยสมุนไพรและเครื่องเทศจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กระชาย พริกไทยขาว และหอมแดง ในปริมาณ 243.0, 243.0 และ 72.9 กรัม ตามลำดับ ตามสัดส่วนที่ใช้ในแกงเลียงที่ระบุในหนังสือ “อาหารเสริมภูมิคุ้มกัน

ต้าน COVID-19 สำหรับผู้สูงอายุ” และ “อาหารสมุนไพรเสริมภูมิคุ้มกันในภาวะที่มีการระบาดของโควิด-19” โดยเหตุผลที่ใช้สมุนไพรและเครื่องเทศ 3 ชนิดนี้ เนื่องจากเป็นสมุนไพรหลักที่ใช้ในแกงเลียง และเป็นสมุนไพรเพียง 3 ชนิดที่สามารถนำไปกำหนดมาตรฐานได้ จากนั้นเตรียมส่วนประกอบและทำการสกัด ดังนี้ หอมแดง: ปอกเปลือกหอมแดง ล้างสิ่งสกปรก สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก กระชาย: ล้างสิ่งสกปรกที่ติดกับกระชายออก สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก พริกไทยขาว: นำพริกไทยขาวไปชั่งน้ำหนัก นำส่วนผสมทั้งหมดมาปั่นรวมกันด้วยเครื่องปั่นแห้ง จากนั้นตักน้ำปริมาณ 2 ลิตรจนเดือด เติมวัตถุดิบที่ปั่นผสมรวมกันลงในน้ำเดือด จับเวลา 10, 20 และ 30 นาที โดยเปิดฝาไว้เล็กน้อย เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วปิดฝาหม้อ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบาง ก่อนนำไปกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ได้สารสกัดน้ำแกงเลียง แล้วนำไปทำให้แห้งโดยนำสารสกัดน้ำที่ทราบน้ำหนักใส่ภาชนะแก้วที่ทราบน้ำหนัก นำไปแช่ที่ -80°C ก่อนนำสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าสารสกัดทั้งหมดจะแห้ง เมื่อครบกำหนดเวลาแล้ว นำภาชนะมาชั่งน้ำหนักอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันสารสกัดดูดความชื้นแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ต่อไป

2.2 การเลี้ยงเซลล์

เพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจ (Beas-2B cell line), เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร (HT-29 cell line), เซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (EA.hy926 cell line) และ เซลล์แมคโครฟาจ (RAW-Dual ϵ (IRF-Lucia/KI-[MIP-2]SEAP) cell line) ลงบน T-75 Flask ในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle

Medium (DMEM) High glucose ที่ประกอบด้วย 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% GlutaMAX, 1% Penicilin Streptomycin และ 1% HEPES Buffer Solution ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 1-2 วัน จากนั้นนำไป Subculture โดย

- ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกหลังจากนั้นล้าง Fetal Bovine Serum (FBS) ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ด้วย 1X Phosphate Buffered Saline (PBS) เพื่อให้ขึ้น Trypsinization ทำงานได้ดียิ่งขึ้น

- Trypsinization ด้วย 0.25% Trypsin-EDTA ปริมาตร 3 มิลลิลิตร โดยกลั้วให้ทั่วทั้ง Flask หลังจากนั้นดูด 0.25% Trypsin-EDTA ออก

- นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 12 นาที

- เติมน้ำอาหารเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร 6 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของ 0.25% Trypsin-EDTA แล้ว Suspension เซลล์จนเซลล์กระจายออกจากกัน หลังจากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก 5 มิลลิลิตร และเติมน้ำอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ปริมาตร 14 มิลลิลิตร

- Label Passage เซลล์และนำไปบ่มที่ HERACELL VIOS 160i (CO₂ Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂

2.3 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดในเซลล์เพาะเลี้ยง

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดในเซลล์เพาะเลี้ยง ผู้วิจัยทำการศึกษา Cell Viability ตามวิธีของ Maiuthed *et al.*^[12] โดยเริ่มจากการทำการ Subculture เซลล์เพาะเลี้ยงด้วย 0.25% Trypsin-EDTA และนับเซลล์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยง โดยใช้เซลล์เยื่อทางเดินหายใจ (Beas-2B cell line) จำนวน

10,000 เซลล์, เซลล์เยื่อทางเดินอาหาร (HT-29 cell line) จำนวน 10,000 เซลล์, เซลล์เยื่อหลอดเลือด (EA.hy926 cell line) จำนวน 10,000 เซลล์ และ เซลล์แมคโครฟาจ (RAW-DualC (IRF-Lucia/KI-[MIP-2]SEAP) cell line) จำนวน 5,000 เซลล์ ลงใน 96-well plate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออกจากหลุมหลังจากนั้นเติมสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96-well plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากครบ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ดูดสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงออกจากหลุมของ 96-well plate แล้วเติมสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ใน 1X Phosphate Buffered Saline (PBS) (ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่อหลุม และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ดูดสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ออก และละลายผลึก Formazan ด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร คำนวณ %Cell Viability^[12] ตามสมการ

$$\%Cell Viability = (OD570 Sample / OD570 Control) \times 100$$

2.4 การทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ

ในการทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ การศึกษา

ทำการศึกษาตามวิธีของ Maiuthed *et al.*^[12] โดยเริ่มจาก Subculture ด้วย 0.25% Trypsin-EDTA และนับเซลล์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยง โดยใช้เซลล์แมคโครฟาจ RAW-Dual จำนวน 2,000 เซลล์ ลงใน 96-well plate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออกจากหลุม หลังจากนั้นเติมสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96-well plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังจากครบ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ดูดสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงออกจากหลุมของ 96-well plate แล้วเติมสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ใน 1X Phosphate Buffered Saline (PBS) (ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ดูดสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ออก และละลายผลึก Formazan ด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และคำนวณ %Cell Viability^[12] ตามสมการ

$$\%Cell Viability = (OD_{570} \text{ Sample} / OD_{570} \text{ Control}) \times 100$$

2.5 การทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงต่อการแสดงออกของการทำงานของวิถีชีวโมเลกุล NF-kb

ในการทดสอบผลของสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงต่อการแสดงออกของการทำงานของวิถีชีวโมเลกุล

NF-kb การศึกษานี้ทำการศึกษาตามวิธีของ Dold *et al.*^[13] โดยเริ่มจาก Subculture ด้วย 0.25% Trypsin-EDTA และนับเซลล์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยง โดยใช้เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ RAW-Dual จำนวน 200,000 เซลล์ต่อหลุม ลงใน 96-well plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออกจากหลุม หลังจากนั้นเติมสารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในกรณีที่ต้องการทดสอบผลการตอบสนองของเซลล์แมคโครฟาจต่อ triacylated N-terminal part ของไลโปโปรตีนของแบคทีเรียจะทำการเติมสาร Pam3Cys-Ser-(Lys)4, hydrochloride ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อ 200 ไมโครลิตรเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เตรียมสาร QUANTI-Blue Solution ลงใน 96-well plate ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เมื่อครบ 24 ชั่วโมงแล้วดูดส่วนใสด้านบน (supernatant) ลงในสาร QUANTI-Blue Solution 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และคำนวณ %SEAP ตามสมการ

$$\%SEAP = (OD_{620} \text{ Sample} / OD_{620} \text{ Control}) \times 100$$

ผลการศึกษา

1. ผลการสกัดเครื่องแกงเลี้ยง

สารสกัดเครื่องแกงเลี้ยงที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกันในการสกัดทั้ง 3 ระยะเวลาของการสกัด กล่าวคือ มีลักษณะเป็นผงหยาบ เกาะตัวกันเป็นแผ่น มีน้ำหนักเบาและฟู แต่จะมีความแตกต่างกัน

เล็กน้อยที่ความเข้มข้นของสารสกัด โดยสารสกัดที่ใช้ระยะเวลาต้ม 10 นาที (LC10FM0) มี % yield เท่ากับ 2.47% สารสกัดมีสีเหลืองอมเขียวอ่อน สารสกัดที่ใช้ระยะเวลาต้ม 20 นาที (LC20FM0) % yield เท่ากับ 2.63% สารสกัดมีสีเหลืองอมเขียว เข้มกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่ระยะเวลา 10 นาที ส่วนสารสกัดที่ใช้ระยะเวลาต้ม 30 นาที (LC30FM0) % yield เท่ากับ 2.51% สารสกัดมีสีเหลืองอมเขียวเข้มมากที่สุด

2. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเครื่องแกงเลียงในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำสารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 10, 20, 30 นาที (LC10FM0, LC20FM0, LC30FM0) ไปทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงที่เป็นตัวแทนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ (RAW-Dual), เซลล์เยื่อหุ้มหลอดเลือด (EA.hy926), เซลล์เยื่อปอด (Bease-2B), เซลล์ตับ (HepG2), และ เซลล์เยื่อทางเดินอาหาร (HT-29) พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีผลลด cell viability ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ (RAW-Dual) โดยผลการลด cell viability เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดย LC30FM0 แสดงผลในการลด cell viability ได้เด่นชัดที่สุด ผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถลด cell viability ของเซลล์เยื่อหุ้มหลอดเลือด (EA.hy926) และเซลล์เยื่อปอด (Bease-2B) และเซลล์เยื่อทางเดินอาหาร (HT-29) ได้แต่ไม่ชัดเจนและไม่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด สารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีผลเพิ่ม cell viability ในเซลล์ตับ (Figure 1)

2. ผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW-Dual)

เนื่องจากสารสกัดเครื่องแกงเลียงทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อ cell viability ของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW-

Dual) จึงทำการทดสอบผลของสารสกัดต่อความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW-Dual) พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิด สามารถลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW-Dual) โดยสารสกัด LC10FM0 เห็นผลการลดลงของการเพิ่มจำนวนเซลล์ตั้งแต่ 72 ชั่วโมงหลังจากได้รับสารสกัด (Figure 2) ในขณะที่สารสกัด LC20FM0 และ LC30FM0 เห็นผลการลดลงของการเพิ่มจำนวนเซลล์ตั้งแต่ 48 ชั่วโมงหลังจากได้รับสารสกัด (Figure 3-4)

3. ผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการแสดงออกของการทำงานของวิถีชีวโมเลกุล NF- κ B

ในการศึกษาผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการแสดงออกของการทำงานของวิถีชีวโมเลกุล NF- κ B ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดแมคโครฟาจนั้น การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาตามวิธีของ Dold NM *et al.*^[13] คือ ทำการกระตุ้นการทำงานของโปรตีน NF- κ B โดยในเซลล์แมคโครฟาจชนิด Raw-Dual ซึ่งเป็นเซลล์ที่พัฒนาให้มีระบบ reporter gene assay ที่บ่งชี้ถึงระดับการทำงานของ NF- κ B ได้ด้วยการวัดความเข้มข้นของ secreted embryonic alkaline phosphatase (SEAP) จากการทดลองพบว่า สารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 10 นาที (LC10FM0) มีแนวโน้มที่จะเพิ่มการทำงานของ NF- κ B ในขณะที่สารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 20 นาที (LC20FM0) ไม่มีผลต่อการทำงานดังกล่าวของเซลล์แมคโครฟาจ ส่วนสารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 30 นาที (LC30FM0) มีแนวโน้มลดการทำงานของ NF- κ B ในภาวะปกติของเซลล์ (Figure 5) จากนั้นจึงทำการทดสอบเพิ่มเติมในภาวะที่เซลล์ได้รับการกระตุ้นการทำงานของ NF- κ B ด้วย Pam3Cys-Ser-

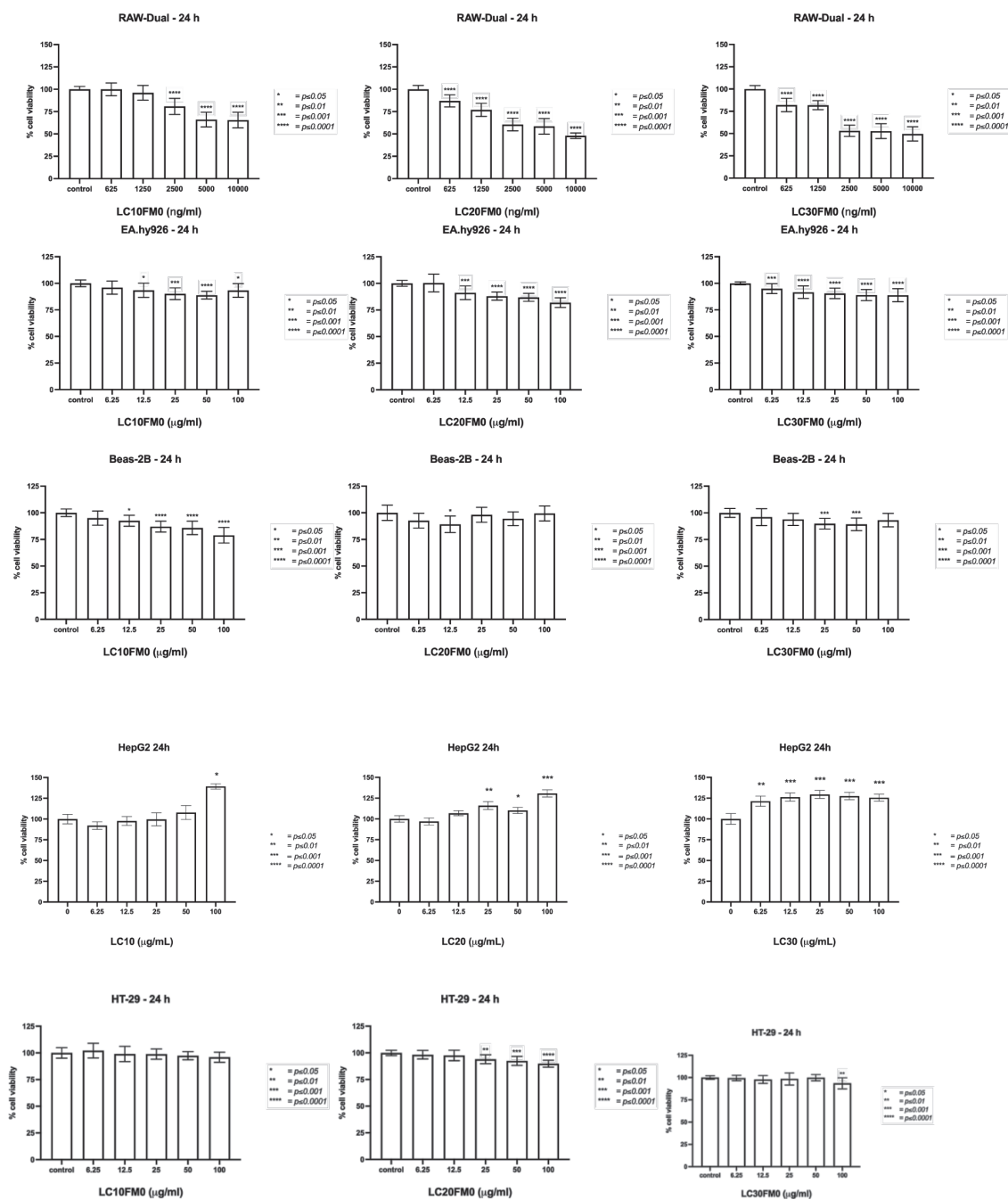


Figure 1 Effect of the extract on cell viability of cell lines. Macrophage (RAW-Dual), endothelial cell (EA.hy926), lung epithelial cell (Bease-2B), liver cell (HepG2), epithelial of gastrointestinal tract cell (HT-29) were treated with indicated concentration of the extract (LC10FM0, LC20FM0, or LC30FM0) for 24 hours then test their viability by MTT assay. The data represent mean $\pm$ SD, p -value as indicated as * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001, **** < 0.0001

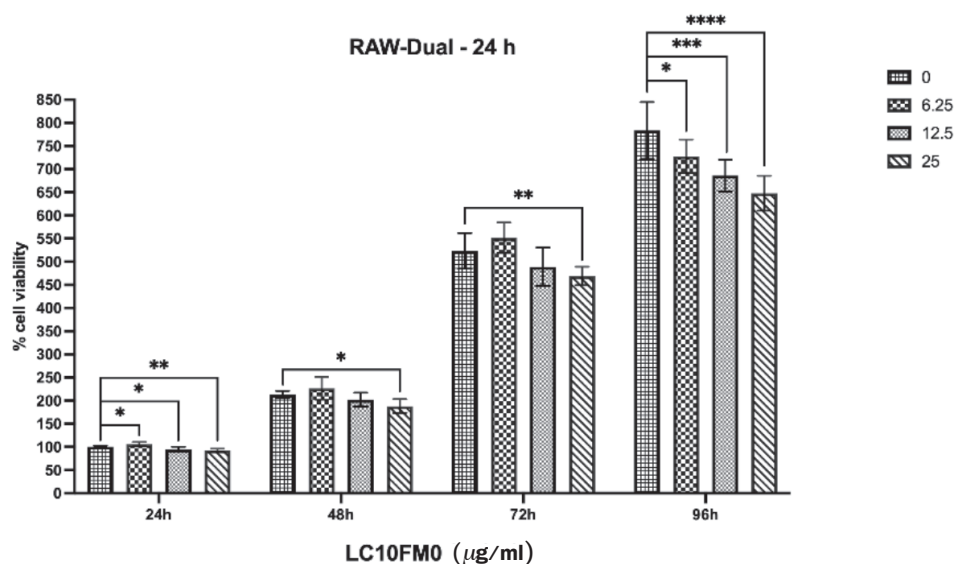


Figure 2 Effect of the extract (LC10FM0) on proliferation capacity of macrophage. Macrophage (RAW-Dual) was treated with indicated concentration of the extract (LC10FM0) for 24, 48, 72, and 96 hours then test their viability by MTT assay. The data represent mean $\pm$ SD, p -value as indicated as * < 0.05 , ** < 0.01 , *** < 0.001 , **** < 0.0001

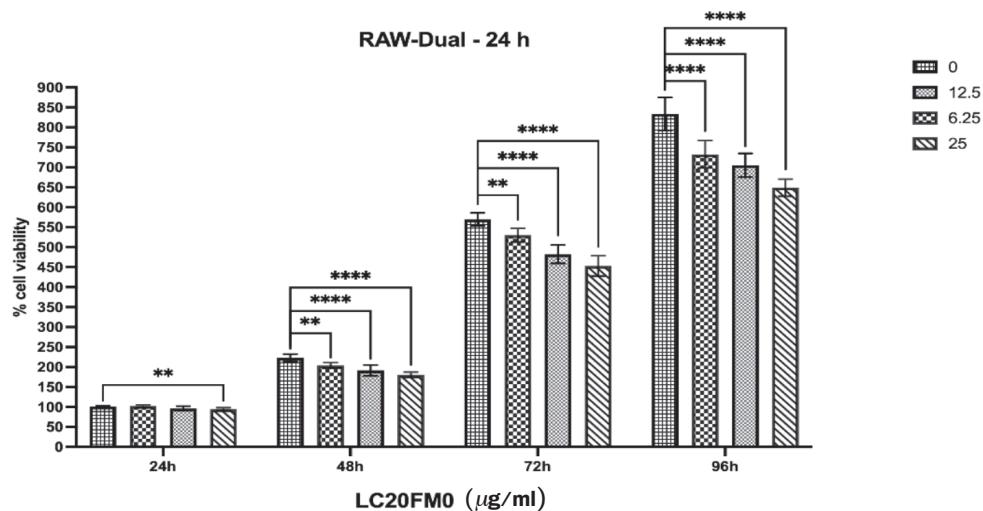


Figure 3 Effect of the extract (LC20FM0) on proliferation capacity of macrophage. Macrophage (RAW-Dual) was treated with indicated concentration of the extract (LC20FM0) for 24, 48, 72, and 96 hours then test their viability by MTT assay. The data represent mean $\pm$ SD, p -value as indicated as * < 0.05 , ** < 0.01 , *** < 0.001 , **** < 0.0001

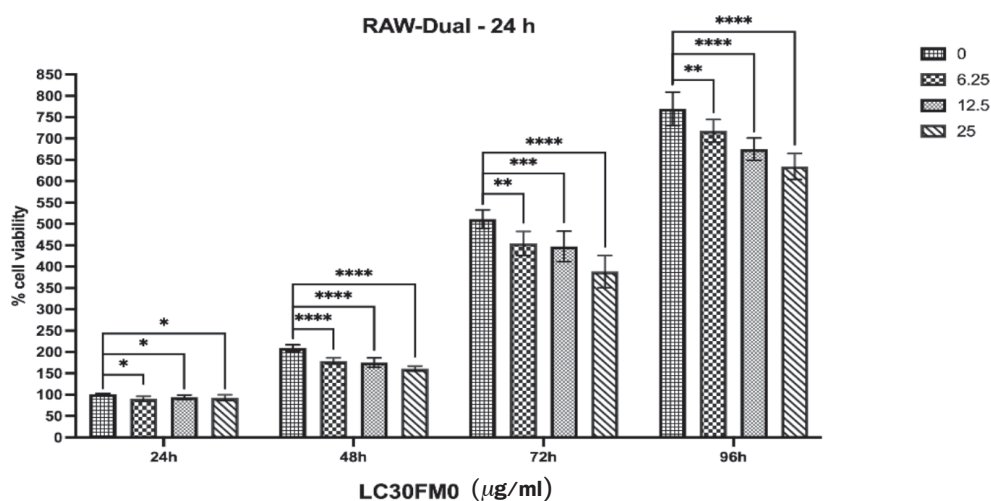


Figure 4 Effect of the extract (LC30FM0) on proliferation capacity of macrophage. Macrophage (RAW-Dual) was treated with indicated concentration of the extract (LC30FM0) for 24, 48, 72, and 96 hours then test their viability by MTT assay. The data represent mean $\pm$ SD, p -value as indicated as * < 0.05 , ** < 0.01 , *** < 0.001 , **** < 0.0001

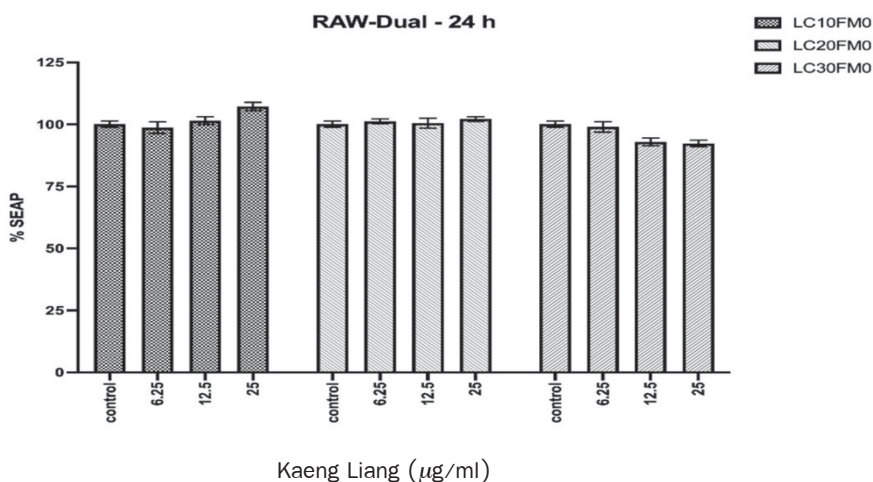


Figure 5 The effect of the extract on capacity to secrete the secreted embryonic alkaline phosphatase (SEAP) of Raw-dual cell. After treatment Raw-dual cell with indicated concentration of the extract (LC10FM0, LC20FM0, or LC30FM0), the cultured medium was collected to test the present of SEAP which indicate the NF-kb activity of Raw-dual cell. The data represent mean $\pm$ SD

(Lys)4 (Pam3Cys) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 10 นาที (LC10FM0) มีความสามารถเพิ่มการทำงานของ NF- κ b อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 20 นาที (LC20FM0) มีผล

เพิ่มการทำงานของระบบดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดเครื่องแกงเลียงที่สกัดด้วยระยะเวลา 30 นาที (LC30FM0) มีแนวโน้มลดการทำงานของระบบดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Figure 6)

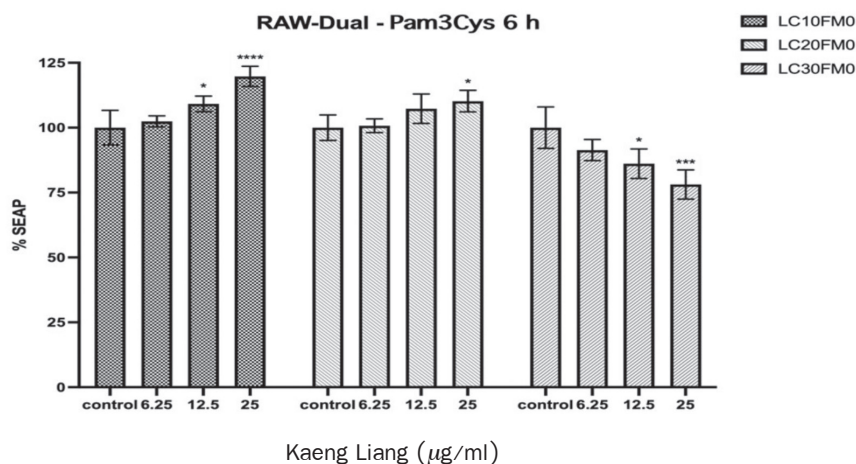


Figure 6 The effect of the extract on capacity to secrete the secreted embryonic alkaline phosphatase (SEAP) of Raw-dual cell. After treatment Raw-dual cell with indicated concentration of the extract (LC10FM0, LC20FM0, or LC30FM0) for 18h and challenge the cells by 1ug/200 ul (final concentration) of Pam3Cys-Ser-(Lys)4, hydrochloride for 6 hours, the cultured medium were collect to test the present of SEAP which indicate the NF- κ b activity of Raw-dual cell. The data represent mean $\pm$ SD, *p*-value as indicated as * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001, **** < 0.0001

อภิปรายผล

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของแกงเลียงในครั้งนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาฤทธิ์เกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน และฤทธิ์ต้านการอักเสบของแกงไทย ซึ่งก่อนหน้านี้ ได้มีการศึกษาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก เฟลโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

อาหารไทย ได้แก่ แกงเลียง ส้มตำ และผัดกะเพรา^[14] มาแล้ว การศึกษาครั้งนี้มุ่งไปที่ฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องการยับยั้งการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจจากผลของสารสกัดเครื่องแกงเลียงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ และผลต่อการหลั่งสารเหนี่ยวนำการอักเสบนิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปาบี ซึ่งผลการศึกษา

พบว่า สารสกัดทั้งที่สกัดแบบ 10, 20 และ 30 นาที มีผลลด cell viability เฉพาะกับเซลล์แมคโครฟาจ โดยสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) ของเซลล์แมคโครฟาจ แต่เมื่อนำไปศึกษาต่อเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำนิวเคลียร์แฟกเตอร์ แคปปาบี พบว่ามีแนวโน้มลดปริมาณของ nf-kb pathway ซึ่งเป็นกลไกที่กระตุ้นการทำงานของ การผลิตสารอักเสบที่หลั่งออกจากเซลล์แมคโครฟาจ โดยการศึกษาจะเห็นผลที่ชัดเจนในภาวะที่มีการกระตุ้นด้วย PamCys3 โดยเฉพาะสารสกัดที่ 30 นาที สามารถลดปริมาณของ nf-kb ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย PamCys3 ได้ดีกว่าสารสกัดแบบ 10 และ 20 นาที และดีกว่าในภาวะเซลล์เปล่าที่เห็นผลดังกล่าวไม่ชัดเจน ซึ่งกลไกดังกล่าวนี้สนับสนุนฤทธิ์ด้านการอักเสบของสมุนไพรไทยและหอมแดงที่เป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องแกงเลียง ซึ่งเห็นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบต่อไป

สำหรับการศึกษาค้นคว้าโดยใช้เทคนิคทางวิทยาศาสตร์เพื่อยืนยันถึงประโยชน์อื่น ๆ ของแกงเลียง ก่อนหน้านั้นพบว่ามีการศึกษาศักยภาพด้านมะเร็งของตำรับอาหารไทย โดย ผศ.ดร.สมศรี เจริญเกียรติกุล จากสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล^[15] พบว่า สารสกัดของน้ำพริกแกงป่า แกงเลียง และแกงส้มที่ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้เทียบเท่ากับ Beta Hydroxy Acid (BHA) และการทดสอบโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว Jurkat cells ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ผสมน้ำแกง และเปรียบเทียบการตายของเซลล์แบบ apoptosis (การตายแบบธรรมชาติ) กับกลุ่มอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ (C-RPMI) และกลุ่มยา eto-

poside ซึ่งมีฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำ apoptosis ในเซลล์ ผลการศึกษาพบว่า น้ำแกงป่า น้ำแกงเลียง และน้ำแกงส้ม มีศักยภาพในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 45 และไม่แตกต่างกับการให้ยา etoposide และนอกจากนี้ยังพบว่า น้ำแกงเลียงเหนี่ยวนำการตายแบบ apoptosis ได้สูงกว่า necrosis (การตายแบบมีการอักเสบของเซลล์ปกติ) ถึง 15 เท่า ซึ่งดีกว่ายา etoposide ประมาณ 2 เท่า ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถยืนยันประโยชน์ของน้ำพริกแกงเลียงที่สามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับต่อยอดการศึกษารักษามะเร็งจากธรรมชาติ ที่ใช้รักษา มะเร็งผ่านกระบวนการ apoptosis ซึ่งเป็นวิธีที่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยน้อยที่สุดได้

ข้อสรุป

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่า สารสกัดเครื่องแกงเลียงทั้งที่สกัดแบบ 10, 20 และ 30 นาที มีผลลดการมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ โดยสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) ของเซลล์แมคโครฟาจ สำหรับการศึกษาต่อเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำนิวเคลียร์ แฟกเตอร์ แคปปาบี พบว่ามีสารสกัดที่ลดการทำงานของ nf-kb pathway ซึ่งเป็นกลไกที่กระตุ้นการทำงานของ การผลิตสารอักเสบที่หลั่งออกจากเซลล์แมคโครฟาจ โดยการศึกษาจะเห็นผลที่ชัดเจนในภาวะที่มีการกระตุ้นด้วย PamCys3 ของสารสกัดที่ 30 นาที ที่พบว่าสามารถลดการทำงานของ nf-kb ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย PamCys3 ได้ ซึ่งกลไกนี้สนับสนุนฤทธิ์ด้านการอักเสบของสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของเครื่องแกงเลียง เห็นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลในระดับสัตว์ทดลอง ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และการศึกษาวิจัยในคนต่อไป

References

1. Sitthichaiyakul P. Inflammation. [Internet]. 2020 [cited 28 Feb 2023]; Available from: <http://www.med.nu.ac.th/pathology/405313/book54/Inflammation.pdf>
2. Wirasorn K, Klarod K, Hongprapas P, Boonsiri P. Oxidative stress, antioxidant and cancer. *Srinagarind Med J*. 2014;29(2):207-19.
3. Bureau of Nutrition, Department of Health, Ministry of Public Health. Food supplement for immunity promotion for the elderly in the COVID-19 outbreak situation. Nonthaburi: Samcharernpanich (Bangkok) Ltd; 2020. 30 p. (in Thai)
4. Division of Pharmacy and Division of Thai traditional and alternative Medicine, Abhaibhubejhr hospital. Herbal food for immunity promotion in the COVID-19 outbreak situation. [Internet]. 2020 [cited 28 Feb 2023]; Available from: <http://www.facebook.com/abhaiherb.center/> (in Thai)
5. Mair CE, Liu R, Atanasov AG, Schmidtke M. Antiviral and anti-proliferative in vitro activities of piperamides from black pepper. *Planta Medica*. 2016;82(S01):S1-381.
6. Couceiro JNDSS, Silva PMD, Santos MGMD, Ribeiro TS. Natural piperine as a new alternative against influenza viruses. *VIRUS Reviews & Research*. 2005;10:27-43.
7. Tiwari A, Mahadik RK, Gabhe SY. PIPERINE: A comprehensive review of methods of isolation, purification and biological properties. *Medicine in Drug Discovery*. [Internet]. 2020 [cited 21 Mar 2023]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027>
8. Mohammadi-Motlagg HR, Mostafaie A, Mansouri K. Anticancer and anti-inflammatory activities of shallot (*Allium ascalonicum*) extract. *Arch Med Sci*. 2011;7(1):38-44.
9. Ssapin Disnil, Kang-Liang. [Internet]. 2020 [cited 19 Jan 2023]; Available from: แงเลี้ยง - บทความสุขภาพ โดยมูลนิธิหมอชาวบ้าน (doctor.or.th) (in Thai)
10. Boonpleng U, Temsiririrkkul R, Kang-Liang: Food is medicine. Faculty of Pharmacy, Mahidol University. [Internet]. 2020 [cited 15 Mar 2023]; Available from: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/> (in Thai)
11. Assumption University of Thailand. Patent No. 13364 อสป/200-ช. [Internet]. 2020 [cited 12 Mar 2023]; Available from: <https://repository.au.edu/handle/6623004553/21463> (in Thai)
12. Maiuthed A, Chanvorachote P. Cisplatin at sub-toxic levels mediates integrin switch in lung cancer cells. *Anticancer Res*. 2014 Dec;34(12):7111-7.
13. Neil M, Zeng DQ, Zeng X, Christopher M. Jewell. A poly (beta-amino ester) activates macrophages independent of NF- κ B signaling. *Acta Biomaterialia*. 2018;(68):168-77.
14. Kesorn K, Maiuthed A, Suriyaphan O, Limwikrant W, Panyaphu D, Lomarat P. Determination of total phenolic and flavonoid contents in the extracts obtained from spices and herbs used in Thai recipes and their antioxidant activity. 38th International Annual Meeting in Pharmaceutical Sciences (IAMPS38). March 23-24, 2023; Pathumwan Princess Hotel, Bangkok. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University; 2023. p. 96.
15. Chareernkeratikul S. Potential of Thai recipes against cancer cells. *Thai J Toxicology*. 2009;24(2):29-38. (in Thai)