

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายต่อการต้านอนุมูลอิสระ
และการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้



ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2563

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายต่อการต้านอนุมูลอิสระ
และการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักบริหารและพัฒนาระบบราชการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายต่อการต้านอนุมูลอิสระ
และการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้

จุฑามาศ วงศ์จักร์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ธิรรุญยานนท์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(รองศาสตราจารย์ ดร.วศิน เจริญทัศน์กุล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายต่อการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้
ชื่อผู้เขียน	นางสาวจุฑามาศ วงศ์จักร์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ธิรบุญยานนท์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย ด้วย 60% เอทานอล จำนวน 16 สายพันธุ์ ได้แก่ เอื้องสายหลวง เอื้องสายไหม เอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องสายสามสี เอื้องแวมยुरา พวงหยก หวายเหลืองจันทบูร เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องผึ้ง เอื้องจำปา เอื้องแก้วกวี เอื้องมัจฉาญ เอื้องสายน้ำผึ้ง เอื้องข่าน้ำและเอื้องมอนไซ่ จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยเอื้องมัจฉาเหลืองให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ 26.12 ± 4.14 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก (GAE) ต่อสารสกัด 1 กรัม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assays พบว่าค่าเฉลี่ยของการทดลองทั้ง 3 วิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยหวายตะมอยมีฤทธิ์ในต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในทั้ง 3 วิธี ($IC_{50} = 0.46 \pm 0.013$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร $IC_{50} = 0.25 \pm 0.020$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ FRAP value เท่ากับ 2.50 ± 0.06 มิลลิกรัม Trolox ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ) รวมถึงยังได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ด้วยวิธี MTT assay พบว่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ได้ 50 % (IC_{50}) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยสารสกัดหยาบจากหวายเหลืองจันทบูร มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งลำไส้สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 156.71 ± 33.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการวิจัยข้างต้นทำการคัดเลือกสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย 3 สายพันธุ์ที่ดีที่สุด คือ หวายเหลืองจันทบูร เอื้องมัจฉาเหลือง และหวายตะมอย จากนั้นทำการทดสอบกลไกการตายของเซลล์ด้วยการย้อมสี acridine orange (AO) และ propidium iodide (PI) ผลที่ได้พบว่าสารสกัดจากกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งลำไส้ผ่านกลไกการตายแบบอะพอพโทซิส และยังทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากกล้วยไม้ทั้ง 3 สายพันธุ์ด้วยวิธี GC-MS โดยหวายเหลืองจันทบูรพบองค์ประกอบของสาร 1-Decene, 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl) phenol, 3,5-Dimethylbenzaldehyde และ Cyclododecane เอื้องมัจฉาเหลืองพบองค์ประกอบของ Cyclododecane, 6-methoxy-4-

phenyl-1,2-dihydronaphthalene, 3,4-Dimethylbenzaldehyde, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol และ 2-Propenoic acid และในตัวอย่างหวายตะมอยพอบองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ Cyclododecane, 1-Decene, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 3,5-Dimethylbenzaldehyde และ Octadecanoic acid การศึกษาครั้งนี้สามารถบ่งชี้ได้ว่ากล้วยไม้สกุลหวายบางสายพันธุ์สามารถนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในการป้องกันและ/หรือบำบัดโรคมะเร็งลำไส้ได้

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลหวาย ฟีนอล ต้านอนุมูลอิสระ โรคมะเร็ง เซลล์มะเร็งลำไส้ อะพอพโทซิส



Title	BIOACTIVITY OF CRUDE EXTRACT FROM <i>DENDROBIUM SPP.</i> ON ANTIOXIDANT AND COLON CANCER CELL ANTIPROLIFERATION
Author	Miss Jutamas Wongjuk
Degree	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Associate Professor Dr. Mongkol Thirabunyanon

ABSTRACT

The present study was performed to evaluate the biological activities of crude extracts from the stems of *Dendrobium* species including *D. anosmum* *D. aphyllum* *D. cretaceum* *D. crumenatum* *D. crystallinum* *D. fimbriatum* *D. findlayanum* *D. friedericksianum* *D. griffithianum* *D. lindleyi* *D. moschatum* *D. nobile* *D. palpebrae* *D. primulinum* *D. pulchellum* and *D. thyrsoiflorum*. Each of dried stem was extracted by 60% ethanol and then further dried by rotary evaporator and freeze dryer. The extracts were used to determine total phenolic content, which was significantly different ($P < 0.01$) in *D. griffithianum* (26.12 ± 4.14 mgGAE/g extract) higher than that of other species. Then, the extracts were evaluated by various antioxidant activity assays including DPPH ABTS and FRAP. It was found that *D. crumenatum* had the significantly higher ($P < 0.01$) antioxidant activity in 3 methods, which the 50% inhibition (IC_{50}) of DPPH and ABTS assays of *D. crumenatum* were 0.46 ± 0.013 mg/ml and 0.25 ± 0.020 mg/ml, respectively and FRAP value was 2.50 ± 0.06 mgTEAC.g⁻¹. In addition, cytotoxicity of this *Dendrobium* extracts against human cancer cell using MTT assay, the experiment showed that *D. friedericksianum* has the significantly highest ($P < 0.01$) inhibitory effect on colon cancer cells with IC_{50} value of 156.71 ± 33.42 µg/ml. From these results of the above experiments, the crude extracts from *D. friedericksianum*, *D. griffithianum* and *D. crumenatum* having good bioactivity and were selected for apoptotic investigation using acridine orange (AO) and propidium iodide (PI) double staining, and observation under fluorescence

microscopy. Result showed that the colon cancer cell death was trigger by *D. friedericksianum*, *D. crumenatum* and *D. griffithianum* extract through apoptosis induction. Furthermore, bioactive compounds of these three *Dendrobium* species were identified by gas chromatography-mass spectrophotometry (GC-MS). *D. friedericksianum* extract consisted of mainly 4 compounds of 1-Decene, 2, 4-Bis(1,1-dimethylethyl) phenol, 3,5-Dimethylbenzaldehyde and Cyclododecane. The *D. griffithianum* extract consisted of mainly 5 compounds of Cyclododecane, 6-methoxy-4-phenyl-1, 2-dihydronaphthalene, 3, 4-Dimethylbenzaldehyde, 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl)phenol and 2-Propenoic acid. As well as, *D. crumenatum* extract consisted of Cyclododecane, 1-Decene, 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl) phenol, 3, 5-Dimethylbenzaldehyde and Octadecanoic acid bioactive compounds. These investigations suggested that some *Dendrobium* species might be apply for colon cancer protection and/or therapy.

Keywords : *Dendrobium* spp. phenol antioxidant cancer colon cancer cell apoptosis

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร. มงคล ธิรบุญยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ช่วยเหลือในทุกปัญหาการวิจัย พร้อมทั้งให้กำลังใจ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณยู คำเมือง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช ที่ให้คำแนะนำและกรุณาเป็นคณะกรรมการสอบโครงงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ทุกท่านที่ช่วยสอนในส่วนของเนื้อหา และปฏิบัติการอย่างเข้มข้น เพื่อปลูกฝังให้ข้าพเจ้าเป็นนักวิทยาศาสตร์ และเป็นครูวิทยาศาสตร์ที่มีความรู้ในภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณโครงการคืนชีวิตกล้วยไม้ไทยสู่ไพรพฤกษ์ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องของพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายเพื่อใช้ในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์และช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ

นอกจากนี้ทางผู้วิจัยยังได้รับความช่วยเหลือจากนักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ นักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอำนวยความสะดวกต่างๆ ในระหว่างการทำการทดลอง ทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณบิดามารดาและสมาชิกในครอบครัวทุกคนที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลืออุปการะค่าใช้จ่ายต่างๆ รวมถึงสนับสนุนข้าพเจ้าเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ฐ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
บทที่ 2	5
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกล้วยไม้สกุลหวาย (<i>Dendrobium</i>).....	5
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย.....	9
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ที่ศึกษา	11
เอื้องสายหลวง.....	11
เอื้องสายไหม	12
เอื้องสายน้ำนม	13

หวายตะมอย	14
เอื้องสายสามสี.....	16
เอื้องแววมยุรา	17
พวงหยก	18
หวายเหลืองจันทบูร.....	19
เอื้องมัจฉาเหลือง.....	20
เอื้องผึ้ง	21
เอื้องจำปา	22
เอื้องแก้วกวี	23
เอื้องมัจฉาญ.....	24
เอื้องสายน้ำผึ้ง.....	25
เอื้องช้างน้ำ	26
เอื้องมอนไข่.....	27
สารพฤกษเคมี (Phytochemical).....	28
อนุมูลิอิสระและสารต้านอนุมูลิอิสระ	28
โรคมะเร็ง.....	33
มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Colorectal cancer หรือ CRC)	34
การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่.....	36
กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอโทซิส.....	37
ฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้สกุลหวาย	39
บทที่ 3	45
วิธีดำเนินงานวิจัย	45
เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	45
วิธีดำเนินการวิจัย	47

การเก็บตัวอย่างพืช.....	47
การสกัดสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่ม <i>Dendrobium</i>	48
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content).....	48
การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ	49
ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	49
ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)].....	50
การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	51
การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29).....	52
การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29).....	52
การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay.....	53
การตรวจสอบกลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โดยการย้อมด้วย acridine orange (AO) ร่วมกับ propidium iodide (PI).....	53
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS).....	54
บทที่ 4	55
ผลการทดลองและอภิปราย	55
การสกัดสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย (<i>Dendrobium spp.</i>).....	55
การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric	58
การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ	60
ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	60

ความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)]	62
การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	64
ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้.....	67
กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส.....	69
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้	71
บทที่ 5	79
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	79
บรรณานุกรม.....	81
ภาคผนวก.....	86
ประวัติผู้วิจัย.....	99



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบพีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ	32
ตารางที่ 2 กุญแจในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assays ของสารสกัดทั้ง 33 ชนิด	41
ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบที่แยกได้จากเอื้องคำกิว	43
ตารางที่ 4 กล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium spp.) ที่ใช้ในการทดลอง	47
ตารางที่ 5 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบ (means \pm SD, n=3).....	55
ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิด คือ หวายเหลืองจันทร์บูร เอื้องมัจฉาเหลืองเหลืองและหวายตะมอย	75



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายหลวง.....	12
ภาพที่ 2 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายไหม.....	13
ภาพที่ 3 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายน้ำนม.....	14
ภาพที่ 4 ลักษณะลำต้นของหวายตะมอย.....	15
ภาพที่ 5 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายสามสี.....	16
ภาพที่ 6 ลักษณะลำต้นของเอื้องแวมยुरา.....	17
ภาพที่ 7 ลักษณะลำต้นของพวงหยก.....	18
ภาพที่ 8 ลักษณะลำต้นของหวายเหลืองจันทบูร.....	19
ภาพที่ 9 ลักษณะลำต้นของเอื้องมัจฉาเหลือง.....	20
ภาพที่ 10 ลักษณะลำต้นของเอื้องผึ้ง.....	21
ภาพที่ 11 ลักษณะลำต้นของเอื้องจำปา.....	22
ภาพที่ 12 ลักษณะลำต้นของเอื้องแก้วกวี.....	23
ภาพที่ 13 ลักษณะลำต้นของเอื้องมัจฉา.....	24
ภาพที่ 14 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายน้ำผึ้ง.....	25
ภาพที่ 15 ลักษณะลำต้นของเอื้องข้างนาว.....	26
ภาพที่ 16 ลักษณะลำต้นของเอื้องมอนไข่.....	27
ภาพที่ 17 ascorbic acid (วิตามินซี).....	30
ภาพที่ 18 α - tocopherol (วิตามินอี).....	31
ภาพที่ 19 โครงสร้างของ MTT และหลักการของ MTT colorimetric assay.....	36
ภาพที่ 20 กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสแบบภายนอกและภายในไมโทคอนเดรีย.....	38
ภาพที่ 21 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด.....	58

ภาพที่ 22 การกำจัดอนุมูล DPPH (IC ₅₀) ของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด	61
ภาพที่ 23 การกำจัดอนุมูล ABTS (IC ₅₀) ของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย ทั้ง 16 ชนิด	63
ภาพที่ 24 ค่า FRAP value ของส่วนสกัดของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด	64
ภาพที่ 25 การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด .	68
ภาพที่ 26 เซลล์ HT-29 ที่ได้รับสารสกัดจากลำต้นหวายตะมอย, หวายเหลืองจันทบูร และมัจฉา เหลืองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	71
ภาพที่ 27 GC-MS spectra ของสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายเหลืองจันทบูรที่ทำการสกัดด้วย 60% เอทานอล	72
ภาพที่ 28 GC-MS spectra ของสารสกัดหยาบจากลำต้นเอื้องมัจฉาเหลืองที่ทำการสกัดด้วย 60% เอ ทานอล.....	73
ภาพที่ 29 GC-MS spectra ของสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยที่ทำการสกัดด้วย 60% เอ ทานอล.....	74

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชสกุลหวาย (*Dendrobium spp.*) วงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) พบกระจายอยู่ทั่วไปทั้งในทวีปเอเชีย ไม่ว่าจะเป็น เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน ญี่ปุ่น รวมถึงทวีปยุโรป ทวีปแอฟริกา ทวีปออสเตรเลีย และอเมริกา กล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium* เป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด ส่วนใหญ่จัดอยู่ในประเภทกล้วยไม้อิงอาศัยหรือกลุ่มกล้วยไม้ที่มีการเจริญเติบโตโดยอาศัยอยู่บนหิน มักพบในป่าผลัดใบหรือป่าดงดิบ ลักษณะของลำต้นจะพบลำต้นเทียม (pseudobulb) อยู่บนส่วนของลำต้นที่แท้จริงเรียกว่าเหง้า (rhizome) มีการเจริญเติบโตไปทางด้านข้าง (sympodial) บางชนิดมีส่วนของข้อ ปล้องเห็นได้ชัดเจน ลักษณะรากเป็นแบบรากอากาศ โดยกล้วยไม้ในกลุ่มนี้มีจำนวนมากกว่า 1,100 ชนิด และประเทศไทยพบมากกว่า 150 ชนิด (เต็ม สมิตินันท์, 2557) มนุษย์ใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติโดยเฉพาะที่ได้จากพืชในการรักษาโรคและบรรเทาความเจ็บป่วยต่าง ๆ มากมาย ส่วนลำต้นของกล้วยไม้ในสกุลนี้ มีการใช้กันอย่างยาวนาน เคยใช้เป็นยาพื้นเมืองในประเทศจีน ช่วยบำรุงกระเพาะอาหารและลดไข้ (Zhang et al., 2005) ซึ่งมีรายงานพบว่ากล้วยไม้สกุลหวายมีส่วนประกอบหลักเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) และสารทุติยภูมิ alkaloids, fluorenones, sesquiterpens, bibenzyls และ phenanthrens ยังพบว่าสารทุติยภูมิบางส่วนมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ตัวอย่างเช่น ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นภูมิคุ้มกันและความเป็นพิษต่อเซลล์ (Luo et al., 2011) ซึ่งประเทศจีน ถือเป็นประเทศแรกที่มีหลักฐานแสดงถึงการเพาะปลูกกล้วยไม้และบรรยายถึงการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร ตำรับสมุนไพรจีนที่ใช้กล้วยไม้สกุลหวายมาเป็นส่วนประกอบมีชื่อเรียกว่า สือ-หู (Shi-Hu) ซึ่งประกอบด้วย *Dendrobium* หลายชนิด เช่น *D. nobile*, *D. loddigesii*, *D. fimbriatum*, *D. chrysanthum* และ *D. candidum* ซึ่งมีข้อบ่งใช้ตาม Chinese Pharmacopoeia ในการรักษาโรคตับ โรคไต บำรุงกระเพาะอาหาร แก้ปวด ลดไข้ ลดบวม เป็นต้น (Hossain, 2011)

มะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากการแบ่งตัวอย่างผิดปกติของเซลล์ ทำให้เซลล์มีจำนวนมากและอัดตัวกันอย่างหนาแน่นเป็นก้อนเนื้อออก ส่งผลให้เกิดการขาดอาหารไปเลี้ยงเซลล์เนื่องจากมีเลือดไหลเวียนไม่เพียงพอ ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณนั้นตาย ซึ่งองค์การอนามัยโลกพบว่า โรคมะเร็งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับต้นๆ ของผู้คนทั่วโลก ในปัจจุบันอัตราการเสียชีวิตที่เป็นอันดับหนึ่งของ

ประเทศไทยได้แก่โรคมะเร็งซึ่งมีอัตราการเสียชีวิตเพิ่มขึ้นในทุกปี โดยมีอัตราการเสียชีวิตมากกว่าการเสียชีวิตจากอุบัติเหตุและโรคหัวใจล้มเหลว ซึ่งสอดคล้องกับอัตราผู้ป่วยมะเร็งที่เพิ่มขึ้นในทุก ๆ ปี โดยมีรายงานจากกระทรวงสาธารณสุขว่า ในปี 2560 พบผู้ป่วยโรคมะเร็งลำไส้มากเป็นอันดับที่ 3 รองจากมะเร็งเต้านมและมะเร็งตับ (กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็ง, 2561) โดยพบว่าสาเหตุหลักเกี่ยวข้องกับอาหารที่รับประทาน ในประเทศที่กำลังพัฒนาอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่จะสูงขึ้นในกลุ่มคนเมืองเมื่อเปรียบเทียบกับคนในชนบท โดยที่คนในเมืองจะรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์ปริมาณมาก อาหารที่มีปริมาณไขมันหรือน้ำตาลสูงและอาหารที่มีเส้นใยต่ำ (ชมพูนุท อ้นศรี และคณะ, 2010) โดยสาเหตุของโรคมะเร็งที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจมาจากหลายสาเหตุร่วมกัน เช่น สาเหตุภายใน ได้แก่ เชื้อชาติ พันธุกรรม อายุ เพศ หรือสาเหตุภายนอก ได้แก่ แสงอาทิตย์ สารเคมี บุหรี่ การอักเสบจากการติดเชื้อเรื้อรังเป็นเวลานานหรือเกิดจากฮอร์โมน เป็นต้น (กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็ง, 2561) ทั้งนี้ปัจจัยหนึ่งที่เป็นสาเหตุทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างรวดเร็วมาจากยารักษาโรคที่มีราคาแพงเนื่องจากมีการนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยสาเหตุนี้ผู้ป่วยมักจะไม่เข้าถึงวิธีการรักษาด้วยวิธีดังกล่าว

ปัจจุบันการรักษาโรคมะเร็งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การผ่าตัด การฉายรังสี การใช้ฮอร์โมน การเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย และการใช้ยารักษาหรือที่เรียกว่า เคมีบำบัด โดยยาที่ดีควรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้อย่างจำเพาะ การใช้ยารักษาเฉพาะส่วนใหญเป็นการใช้ยาหลายตัวร่วมกัน โดยควรเลือกยาที่มีกลไกการทำงานแตกต่างกันเพื่อเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งยารักษาโรคมะเร็งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายนั้น ส่วนหนึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น ยาในกลุ่ม vinca alkaloids ได้แก่ vincristine และ vinblastine จากต้น พวงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus*) และยาในกลุ่ม alkaloid ester ได้แก่ paclitaxel จากเปลือกของต้น Yew ในสกุล *Taxus* โดยยาทั้งสองกลุ่มนี้ มีกลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบจำเพาะต่อระยะหนึ่งของวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle specific) โดยจะรบกวนการแบ่งตัวของเซลล์ (ภาควิชาเภสัชวิทยา, 2552) จึงมีความเป็นไปได้ว่าในธรรมชาติน่าจะยังมีสารออกฤทธิ์จากพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีศักยภาพเพียงพอในการที่จะพัฒนาเป็นยารักษาโรคมะเร็งได้ต่อไป

จากการค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลงานวิจัยพบว่ายังมีผู้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ในกลุ่ม *Dendrobium* ที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 จำนวนน้อย รวมถึงการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น เช่น ปริมาณฟีนอลิก ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในกล้วยไม้ยังมีการศึกษาในด้านนี้ไม่มากนัก ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร

สกัดหยาบจากลำต้นของกล้วยไม้กลุ่ม *Dendrobium* ไม่ว่าจะเป็นปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ด้วยวิธี MTT ของสารสกัดหยาบ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเป็นยาที่มาจากพืชสมุนไพร และใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *Dendrobium* ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบโดยการสกัดโดยเอทานอลจากลำต้นกล้วยไม้ทั้ง 16 ชนิด
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ของสารสกัดหยาบโดยการสกัดโดยใช้เอทานอลจากลำต้นของกล้วยไม้ 16 ชนิด
3. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดหยาบโดยเอทานอลจากลำต้นกล้วยไม้ที่ดีที่สุด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)
4. เพื่อศึกษากลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้ที่ดีที่สุด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)

ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้ 16 ชนิด คือ เอื้องสายหลวง เอื้องสายไหม เอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องสายสามสี เอื้องแววมยุรา พวงหยก หวายเหลืองจันทบูร เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องผึ้ง เอื้องจำปา เอื้องแก้วแก้ว เอื้องมัจฉาญ เอื้องสายน้ำผึ้ง เอื้องชางิ้วและเอื้องมอนไซ ที่ได้รับมาจากโครงการคืนชีวิตกล้วยไม้ไทยสู่ไพรพฤกษ์ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล
2. หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบโดยการสกัดโดยเอทานอล จากลำต้นกล้วยไม้ทั้ง 16 ชนิด
3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ของสารสกัดหยาบโดยการสกัดโดยใช้เอทานอลจากลำต้นของกล้วยไม้ทั้ง 16 ชนิด

4. ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดหยาบโดยเอทานอลจากลำต้นกล้วยไม้ที่ดีที่สุด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)
5. ศึกษากลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้ที่ดีที่สุด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. จากข้อมูลที่ได้จะนำสารสกัดหยาบของกล้วยไม้ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ ในการใช้เป็นยาในการรักษาโรคมะเร็งต่อไป

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. กล้วยไม้กลุ่ม *Dendrobium* คือ พืชที่อยู่ในวงศ์ Orchidaceae ได้แก่ เอื้องสายหลวง เอื้องสายไหม เอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องสายสามสี เอื้องแวมยุรา พวงหยก หวายเหลือง จันทบูร เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องผึ้ง เอื้องจำปา เอื้องแก้วกวี เอื้องมัจฉาณู เอื้องสายน้ำผึ้ง เอื้องช้านาวและเอื้องมอนไซ
2. ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) หมายถึง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบของตัวอย่างที่สนใจ โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric
3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radicals scavengers) หมายถึง ความสามารถในการต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของตัวอย่างที่สนใจ โดยใช้วิธี DPPH assay ABTS assay และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)
4. ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) หมายถึง ความสามารถในการต่อต้านหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งลำไส้ในสารสกัดหยาบของตัวอย่างที่สนใจ โดยใช้วิธี MTT assay
5. การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส หมายถึง การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโทซิส โดยการย้อมด้วย acridine orange ร่วมกับ propidium iodide
6. องค์ประกอบของสารสกัด หมายถึง การหาชนิดและปริมาณสารในสารสกัดหยาบของตัวอย่างที่สนใจ โดยใช้วิธี Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC-MS)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*)

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Subclass Monocotyledonae) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด เป็นพืชที่มีอายุยืนนานหลายปีและมีจำนวนชนิดมากที่สุดในบรรดาไม้ดอก กล้วยไม้สกุลนี้นิยมตัดดอกเนื่องจากมีลักษณะดอกและสีสวย ลวดลายสวยงาม กล้วยไม้สกุลหวายเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการและการปรับตัวอย่างสูงในหลายรูปแบบจึงสามารถกระจายพันธุ์อยู่ได้ทั่วทุกภูมิภาคของโลก ทั้งยังมีความหลากหลายทางสายพันธุ์ สี ดอกและลำต้น (มาลินี อินทรวงศ์, 2553) โดยทั่วไปกล้วยไม้สกุลหวายมีการเจริญเติบโตแบบแตกกอ (sympodial) คือ มีเหง้า (rhizome) ซึ่งเป็นลำต้นที่แท้จริงไปตามแนวนอน (ระพี สาคริก, 2530) โดยมีการเจริญแตกยอดอ่อนให้หน่อใหม่เกิดขึ้นเรื่อย ๆ และมีการส่งก้านชูใบขึ้น เพื่อช่วยในการเก็บน้ำและอาหาร เรียกส่วนนี้ว่าลำลูกกล้วย (pseudobulb) (จิตรพรพรรณ พิสิทธิ์, 2550)

ถิ่นกำเนิดพบในบริเวณกว้างตั้งแต่ประเทศจีน อินเดีย ลงมาคาบสมุทรมลายูไปจนถึงเกาะนิวกินี ออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ มีการแพร่กระจายพันธุ์ออกไปในบริเวณกว้างทั้งในทวีปเอเชียและหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก จึงทำให้กล้วยไม้สกุลหวายมีรูปร่าง ลักษณะทั้งดอก ใบ และลำต้นแตกต่างกันออกไปอย่างกว้างขวาง มีจำนวนมากกว่า 1,100 ชนิด และประเทศไทยพบมากกว่า 150 ชนิด ทุกชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย บางชนิดได้รับการระบุ (Smitinand, 2001) ดังนี้

<i>Dendrobium acerosum</i> Lindl.	กล้วยไม้มีอนาง (ชุมพร)
<i>D. acinaciforme</i> Roxb.	เอื้องยอดสร้อย (ภาคเหนือ)
<i>D. albosanguineum</i> Lindl.	เอื้องตางัว (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. aloifolium</i> (Blume) Rchb.f.	เอื้องมณี (กรุงเทพฯ)
<i>D. anosmum</i> Lindl.	เอื้องสาย (เชียงใหม่, คาบสมุทรมลายู)
<i>D. aphyllum</i> (Roxb.) C.E.C. Fisch.	เอื้องวงช้าง (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. bellatulum</i> Rolfe	เอื้องแซะภู
<i>D. bicameratum</i> Lindl.	เอื้องเข็ม (ภาคเหนือ)
<i>D. bilobulatum</i> Seidenf.	กล้วยไม้ก้างปลา (ทั่วไป)
<i>D. binoculare</i> Rchb.f.	เอื้องคำสาย (ภาคเหนือ)
<i>D. brymerianum</i> Rchb.f.	เอื้องคำฝอย (ภาคเหนือ)
<i>D. capillipes</i> Rchb.f.	เอื้องคำกิว (ลำปาง, แพร่)
<i>D. cariniferum</i> Rchb.f.	เอื้องกาจก (เชียงใหม่)

<i>D. christyanum</i> Rchb.f.	เอื้องชะงูกระดิ่ง (เลย)
<i>D. chrysanthum</i> Lindl.	เอื้องสายมรกต (กรุงเทพฯ)
<i>D. chrysotoxum</i> Lindl.	เอื้องคำ (ภาคเหนือ)
<i>D. compactum</i> Rolfe ex Hackett	เอื้องข้าวตอก (ภาคเหนือ)
<i>D. concinnum</i> Miq.	หางเปี้ย (นราธิวาส)
<i>D. crepidatum</i> Lindl. & Paxton	เอื้องสายน้ำเขียว (ทั่วไป)
<i>D. crocatum</i> Hook.f.	เอื้องนางนวล (คาบสมุทรม)
<i>D. cruentum</i> Rchb.f.	เอื้องนกแก้ว (กรุงเทพฯ)
<i>D. cretaceum</i> Lindl.	เอื้องสายน้ำนม (ทั่วไป)
<i>D. crumenatum</i> Sw.	หวายตะมอย (ภาคกลาง, คาบสมุทรม)
<i>D. crystallinum</i> Rchb.f.	เอื้องนางฟ่อน (เชียงใหม่)
<i>D. cumulatum</i> Lindl.	เอื้องสายสีดอก (ภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงใต้)
<i>D. dantaniense</i> Guillaumin	เอื้องเข็ม (เชียงใหม่)
<i>D. densiflorum</i> Lindl.	เอื้องมอนไข่ (ภาคเหนือ)
<i>D. devonianum</i> Paxton	เอื้องเมียง (เชียงใหม่)
<i>D. dickasonii</i> L.O. Williams	เอื้องเคี้ยว (เชียงใหม่)
<i>D. discolor</i> Lindl.	หวายกลัก (กรุงเทพฯ)
<i>D. dixanthum</i> Rchb.f.	เอื้องเทียน (ภาคเหนือ)
<i>D. draconis</i> Rchb.f.	เอื้องเงิน (ภาคเหนือ)
<i>D. ellipsophyllum</i> Tang & Wang	เอื้องทอง (ทั่วไป)
<i>D. exile</i> Schltr.	เอื้องเสี้ยน (ทั่วไป)
<i>D. falconeri</i> Hook.	เอื้องสายวิสูตร (กรุงเทพฯ)
<i>D. farmeri</i> Paxton	เอื้องมัจฉาณู (กรุงเทพฯ)
<i>D. fimbriatum</i> Hook.	เอื้องค้ำน้อย (เชียงใหม่)
<i>D. findlayanum</i> Parish & Rchb.f.	พวงหยก (กรุงเทพฯ)
<i>D. formosum</i> Roxb. ex Lindl.	เอื้องเงินหลวง (เชียงใหม่)
<i>D. friedericksianum</i> Rchb.f.	หวายเหลืองจันทบูร (กรุงเทพฯ)
<i>D. fuerstenbergianum</i> Schltr.	เอื้องชะงูกระดิ่ง (เลย)
<i>D. gibsonii</i> Lindl.	เอื้องคำสาย (ภาคเหนือ)
<i>D. grande</i> Hook.f.	เอื้องแฝงใบใหญ่ (คาบสมุทรม)

<i>D. gratiosissimum</i> Rchb.f.	เอื้องกิ่งดำ (กรุงเทพฯ)
<i>D. gregulus</i> Seidenf.	เอื้องมะตอม (เชียงใหม่)
<i>D. griffithianum</i> Lindl.	เอื้องมัจฉาณู (กรุงเทพฯ)
<i>D. harveyanum</i> Rchb.f.	เอื้องคำฝอย (เชียงใหม่)
<i>D. hendersonii</i> Hawkes & Heller	หวายตะมอยน้อย (คาบสมุทฺร)
<i>D. hercoglossum</i> Rchb.f.	เอื้องดอกมะเขือ (กรุงเทพฯ)
<i>D. heterocarpum</i> Lindl.	เอื้องสีตาล (เชียงใหม่)
<i>D. indivisum</i> (Blume) Miq. var. <i>indivisum</i>	ตานเสี้ยนไม้ (ชุมพร)
<i>D. indivisum</i> (Blume) Miq. var. <i>pallidum</i> Seidenf.	ก้างปลา (ทั่วไป)
<i>D. infundibulum</i> Lindl.	เอื้องตาเหิน (ทั่วไป)
<i>D. intricatum</i> Gagnep.	เอื้องชมพู (จันทบุรี)
<i>D. jenkinsii</i> Wall. ex Lindl.	เอื้องผิ่่งน้อย (เชียงใหม่)
<i>D. kanburiense</i> Seidenf.	หวายเมืองกาญจนบุรี (กาญจนบุรี)
<i>D. leonis</i> (Lindl.) Rchb.f.	เอื้องตะขาบใหญ่ (ทั่วไป)
<i>D. lindleyi</i> Steud.	เอื้องผิ่่ง (ภาคเหนือ)
<i>D. lituiflorum</i> Lindl.	เอื้องสายม่วง (กรุงเทพฯ, ภาคเหนือ)
<i>D. moschatum</i> (Buch.-Ham.) Sw.	เอื้องจำปา (ภาคเหนือ)
<i>D. nathanielis</i> Rchb.f.	เกล็ดนิ่ม (จันทบุรี)
<i>D. nobile</i> Lindl.	เอื้องค้ำกิว (ภาคเหนือ)
<i>D. ochreatum</i> Lindl.	เอื้องตะขาบ (เชียงใหม่)
<i>D. oligophyllum</i> Gagnep.	ข้าวตอกปราจีน (ทั่วไป)
<i>D. pachyglossum</i> C.S.P.Parish & Rchb.f.	เอื้องขนหมู (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. pachyphyllum</i> (Kuntze) Bakh.f.	เอื้องน้อย (ทั่วไป)
<i>D. palpebrae</i> Lindl.	เอื้องมัจฉา, เอื้องมัจฉาณู (กรุงเทพฯ)
<i>D. parcum</i> Rchb.f.	เอื้องก้านกิว (กรุงเทพฯ)
<i>D. parishii</i> Rchb.f.	เอื้องครึ่ง (ภาคเหนือ)
<i>D. pendulum</i> Roxb.	เอื้องไม้เท้าฤๅษี (กรุงเทพฯ, เชียงใหม่)
<i>D. pensile</i> Ridl.	หวาย (นราธิวาส)
<i>D. porphyrophyllum</i> Guillaumin	เอื้องลิ้น (ลำปาง)

<i>D. primulinum</i> Lindl.	เอื้องสายประสาท (กรุงเทพฯ)
<i>D. pulchellum</i> Roxb. ex Lindl.	เอื้องคำตาควาย (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. pycnostachyum</i> Lindl.	เศวตสอดสี (เชียงใหม่)
<i>D. salaccense</i> (Blume) Lindl.	เอื้องใบไผ่ (เชียงใหม่)
<i>D. scabrilingue</i> Lindl.	เอื้องแซะ (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. secundum</i> (Blume) Lindl.	เอื้องแปรงสีพื้น (กรุงเทพฯ)
<i>D. seidenfadenii</i> Rchb.f.	เอื้องเกี้ยว (เชียงใหม่)
<i>D. senile</i> Parish & Rchb.f.	เอื้องชะนี (กรุงเทพฯ)
<i>D. signatum</i> Rchb. f.	เอื้องเค้ากิว (เชียงใหม่)
<i>D. stuposum</i> Lindl.	เอื้องสาย (เชียงใหม่)
<i>D. sulcatum</i> Lindl.	เอื้องจำปานาน (กรุงเทพฯ)
<i>D. superbiens</i> Rchb.f.	หวายคิง (กรุงเทพฯ)
<i>D. sutepense</i> Rolfe ex Downie	เอื้องมะลิ (เชียงใหม่)
<i>D. terminale</i> Parish & Rchb.f	เอื้องแพงโสภา (คาบสมุทร)
<i>D. thysiflorum</i> Rchb.f	เอื้องมอนไชไบมน (ภาคเหนือ)
<i>D. tortile</i> Lindl.	เอื้องไม้ตั้ง (แม่ฮ่องสอน)
<i>D. trigonopus</i> Rchb.f.	เอื้องคำเหลี่ยม (เชียงใหม่)
<i>D. trinervium</i> Ridl.	เทียนลิง (ชุมพร)
<i>D. unicum</i> Seidenf.	เอื้องครึ่งแสด (ทั่วไป)
<i>D. uniflorum</i> Griff.	เอื้องทอง (ปัตตานี)
<i>D. venustum</i> Teijsm. & Binn	ข้าวเหนียวลิง (ภาคกลาง)
<i>D. villosulum</i> Lindl.	กล้วยหญ้าंना (กรุงเทพฯ)
<i>D. virgineum</i> Rchb.f.	เอื้องเงินวิลาศ (ภาคเหนือ)
<i>D. wardianum</i> Warner	เอื้องมณีไตรรงค์ (ภาคเหนือ)
<i>D. wattii</i> (Hook.f.) Rchb.f.	เอื้องแซะ (ภาคเหนือ)
<i>D. ypsilon</i> Seidenf.	เอื้องแบนปากตัด (ทั่วไป)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย

ราก

รากพบเฉพาะรากฝอยจำนวนมากทั้งขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ โดยรากจะออกจากส่วนที่เป็นข้อของลำต้นหรือเหง้าที่ทอดเลื้อย บางชนิดออกจากหัวสะสมอาหารใต้ดิน มีหน้าที่ดูดความชื้นจากอากาศ ดูดอาหาร รากบางชนิดมีหน้าที่ปรงอาหารก็จะมีสีเขียวคลอโรฟิลล์ด้วย นอกจากนี้รากยังมีหน้าที่เกาะวัสดุปลูก เกาะต้นไม้ เพื่อให้ลำต้นทรงตัวอยู่ได้ รากของกล้วยไม้มีหลายประเภทคือ รากดิน รากกิ่งดิน รากกิ่งอากาศและรากอากาศ (สลิล สิริสิทธิ์ธรรม, 2551; อดิษฐ์ ไทยทอง, 2548) รากของกล้วยไม้มีลักษณะอวบน้ำ แต่มักมีเนื้อเยื่อหุ้มด้านนอกหนาคล้ายเป็นนม เรียกว่า เวลามิน (velamen) ซึ่งประกอบด้วยส่วนเนื้อเยื่อของเซลล์ที่ตายแล้ว มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ จึงสามารถดูดซับน้ำและแร่ธาตุเข้าไปยังภายในเซลล์ของรากกล้วยไม้ได้ สามารถช่วยป้องกันการระเหยของน้ำในรากและการผ่านเข้าออกของจุลินทรีย์ (ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์, 2560)

ลำต้น

ลำต้น คือ ส่วนที่เป็นข้อ บริเวณเหนือข้อและติดอยู่กับข้อจะมีตา ซึ่งตานี้อาจจะออกเป็น กิ่งอ่อน หรือช่อดอกก็ได้ นอกจากนี้ส่วนที่เป็นข้อยังเป็นส่วนที่มีใบ กาบใบ หรือกาบของลำต้นที่ไม่มีส่วนของใบเจริญออกมาได้ ส่วนที่อยู่ระหว่างข้อนั้นเรียกว่าปล้อง ลักษณะลำต้นของกล้วยไม้ชนิดนี้มีทั้งแบบที่เป็นลำต้นกลมยาวคล้ายหวายย่อส่วน ลำต้นรูปปลุกกล้วย รูปกระสวย รูปเหลี่ยมตลอดจนพวกที่ลำต้นพอมยาวคล้ายเส้นลวด ลักษณะการเจริญเติบโตส่วนใหญ่เป็นแบบเจริญทางด้านข้าง (อดิษฐ์ ไทยทอง, 2548) ลำต้นที่พบมากในกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่ม *Dendrobium* มี 2 ประเภท คือ ลำต้นแท้จริง คือ ลำต้นชนิดเหง้า (rhizome) จะมีข้อปล้องเหมือนกับลำต้นของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่ว ๆ ไป ที่เหนือข้อจะมีตา ซึ่งสามารถเจริญเป็นหน่อใหม่และช่อดอกได้ เป็นลำต้นซึ่งแผ่ทอดไปตามแนวระดับ มีข้อปล้อง หรือตาเห็นได้ชัดเจน และ ลำต้นชนิด ลำต้นเทียม หรือ ลำลูกกล้วย (pseudobulb) ซึ่งทำหน้าที่สะสมอาหาร ตาที่อยู่ตามข้อบน ๆ ของลำลูกกล้วยสามารถแตกเป็นหน่อหรือช่อดอกได้ โดยเป็นลำต้นที่ขึ้นในแนวตั้งของกล้วยไม้ประเภทแตกกอที่มีรากอากาศ มีลักษณะสั้น หนา และอวบ ลำลูกกล้วยจะมีอาหารสะสมอยู่ภายใน ทำให้บวมพองออก (ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์, 2560; สลิล สิริสิทธิ์ธรรม, 2551)

ลักษณะของใบ

ใบ เป็นใบเดี่ยวทั้งหมด เส้นใบมีลักษณะขนานไปตามความยาวของใบ ใบของกล้วยไม้มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของกล้วยไม้ นับตั้งแต่รูปร่าง สี สัน ขนาด และการเรียงตัวของใบ โดยใบของกล้วยไม้กลุ่มนี้มีหลายชนิด มีทั้งกลุ่มใบยาว กลุ่มใบหนา ใบเล็กเรียวกว้างกลม และพวกที่ทิ้งใบก่อนออกดอก หรือพวกที่มีใบมีอายุนานหลายปี (อดิษฐ์ ไทยทอง, 2548) กล้วยไม้หลาย ๆ ชนิดมีการทิ้งใบเป็นช่วงสั้น ๆ ในฤดูแล้ง หรือในระยะให้ดอก หลายชนิดมีใบปรากฏ

อยู่ตลอดปี ส่วนกาบใบ (Leaf sheath) คือส่วนหนึ่งของใบที่อยู่ต่อจากแผ่นใบ ทำหน้าที่ห่อหุ้ม ป้องกันลำต้นและยึดใบไว้กับลำต้น บางชนิดหลุดร่วงไปเมื่อใบสมบูรณ์เต็มที่ บางชนิดก็มีปรากฏอยู่ จนกระทั่งใบร่วง จำนวนใบที่พบส่วนใหญ่มีหลายใบ ออกเรียงสลับกันตลอดลำต้นและแน่นทางปลายยอด (ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์, 2560)

ลักษณะของดอก

ดอกกล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน ทำหน้าที่ในการสืบพันธุ์ ปกติแล้วจะมี 6 กลีบ ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง (sepal) จะเรียงตัวอยู่รอบนอกสุดจำนวน 3 กลีบ กลีบเลี้ยงบางชนิดมีกลีบเลี้ยงที่คล้ายกัน บางชนิดมีลักษณะแตกต่างกันแยกเป็นกลีบเลี้ยงบน (dorsal petal) 1 กลีบ และกลีบเลี้ยงด้านข้าง (lateral petal) 2 กลีบ กลีบดอก (petal) เป็นชั้นที่เรียงตัวอยู่ด้านในถัดจากกลีบเลี้ยง กลีบดอกมี 3 กลีบ ด้านข้าง (lateral petal) 2 กลีบ และกลีบปาก (lip) 1 กลีบ ซึ่งจะมีลักษณะที่แตกต่างออกไป และเส้าเกสร (stigminal column) เป็นส่วนสำคัญและมีความเฉพาะของกล้วยไม้แต่ละชนิด เนื่องจากบริเวณที่รวมเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียไว้ด้วยกัน ดอกกล้วยไม้มีทั้งชนิดออกเป็นดอกเดี่ยว (solitary) โดยมักจะออกจากโคนของลำลูกกล้วยหรือเหง้า และมีเพียงดอกเดียวอยู่ที่ปลายก้านดอก และออกเป็นช่อดอก (inflorescence) โดยแต่ละช่อประกอบด้วย 3 ส่วน คือ 1. ก้านช่อดอก ทำหน้าที่พยุงช่อให้ตั้งตรงและช่อให้ติดกับส่วนของลำต้น 2. แกนช่อ เป็นส่วนที่ดอกเรียงอยู่บนช่อ มีทั้งแกนเดียวหรือมากกว่า 1 แกน 3. ดอก อาจเรียงชิดกันแน่น หรือมีจำนวนน้อยก็ได้ ดอกมีกลุ่มเรณูรูปรี 2 คู่ และเป็นกลุ่มเรณูที่ไม่มีก้านหรือแผ่นเยื่อบาง ๆ เชื่อมระหว่างคู่ ฝาปิดอับเรณูค่อนข้างกลมและร่วงง่าย เส้นเกสรสั้น แต่มักจะมีส่วนฐานเจริญยึดยาวคล้ายคาง (Mentum) ซึ่งเป็นส่วนที่กลีบเลี้ยงด้านข้างติดทาบอยู่ตลอดตามยาว กลีบปากติดอยู่ที่ปลายสุดของส่วนคาง ลักษณะของดอกตรง บริเวณนี้โดยภาพรวมคล้ายถุง ซึ่งจะมีขนาดเล็ก ใหญ่ สั้นและยาว ต่างกันไปในแต่ละชนิด (สลิล สิทธิจักรธรรม, 2551; อดิษฐ์ ไทยทอง, 2548)

ผลหรือฝัก

โดยกล้วยไม้แต่ละชนิดมีขนาด ลักษณะรูปร่าง และมีอายุตั้งแต่ผสมเกสรไปจนถึงฝักแก่ จะแตกต่างกันไปตามชนิดของกล้วยไม้ร่วมกับสภาพสิ่งแวดล้อม เมื่อแก่เต็มที่จะแตกตามแนวยาว ภายในมีเมล็ดที่ไม่มีอาหารสะสม และมีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียด ในธรรมชาติเมล็ดพวกนี้มีโอกาสเจริญเป็นต้นใหม่ได้ไม่มากนัก (สลิล สิทธิจักรธรรม, 2551; อดิษฐ์ ไทยทอง, 2548)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ที่ศึกษา

จากที่กล่าวมาแล้วในเบื้องต้นว่า กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นสกุลที่อยู่ตามธรรมชาติมากมายหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งผู้วิจัยได้สนใจศึกษากล้วยไม้หวาย 16 สายพันธุ์ ดังนี้

การจำแนก

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Liliopsida

Order: Orchidales

Family: Orchidaceae

Genus: *Dendrobium*

เอื้องสายหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium anosmum* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อสามัญ : Fried egg orchid, Dai Orchid

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องสาย

เอื้องสายหลวง (ภาพที่ 1) เป็นกล้วยไม้สกุลหวายอีกชนิดหนึ่งที่มีความสวยงามโดดเด่นไปจากสกุลหวายชนิดอื่น เนื่องจากเอื้องสายหลวงเป็นหวายที่มีลำต้นเมื่อโตเต็มที่แล้วจะมีขนาดใหญ่ ความยาวของลำต้นสามารถยาวได้มากกว่า 2 เมตร พบในอินโดจีน ไทย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา และภูมิภาคเอเชีย พบในป่าดิบชื้น ตั้งแต่ในที่ลุ่มจนถึงระดับความสูง 1,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : เป็นลำกลม ยาว 60 – 100 เซนติเมตร หรือยาวมากกว่านี้ ห้อยลงเป็นสาย โคนและปลายต้นเรียวเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1 - 1.5 เซนติเมตร ลำต้นแก่ซีกแซกเล็กน้อยและมักมีกาบใบสีเทาหุ้มเกือบตลอดทั้งลำ

ใบ : รูปร่างรูปขอบขนาน ยาว 8 – 10 เซนติเมตร กว้าง 2 เซนติเมตร ปลายใบแหลม แผ่นใบบาง ใบแก่ค่อนข้างไปทางโคนต้นมักจะทยอยร่วงไป

ดอก : เกิดตามข้อ ข้อละ 1 ดอก ขนาดดอก 4 – 5 เซนติเมตร กลีบคู่ บางพันธุ์กลีบปากห่อเข้าหากัน และบางพันธุ์กลีบปากค่อนข้างกางแผ่ออก กลิ่นหอมอ่อนๆ ดอกบานทนประมาณ 1 สัปดาห์ (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อดิพันธ์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 1 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายหลวง
(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องสายไหม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องล่องแล่ง เอื้องงวงช้าง เอื้องสายไม้ เอื้องย้อยไม้ มอกคำเครือ

เอื้องสายไหม (ภาพที่ 2) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่พบเห็นได้ทุกภาคพื้นที่ในประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่ เอื้องสายไหม จึงได้รับอีกชื่อหนึ่งว่า เอื้องสายเชียงใหม่ ด้วยลักษณะนิสัยที่ชอบแตกกอง่าย ทำให้ลำลูกต้นเรียวยาวเป็นแนวตั้งลงสู่พื้นดิน เมื่อถึงเวลาให้ดอก เอื้องสายไหม มักจะให้ดอกจำนวนมากตั้งแต่โคนต้นไปจนถึงปลายสุด นอกจากนี้ เอื้องสายไหมยังเป็นกล้วยไม้ชอบอากาศร้อนจัดทำให้สามารถผลิตดอกบานได้ในทุกพื้นที่ในประเทศไทย พบขึ้นตามป่าดิบแล้งและป่าผลัดใบทั่วทุกภาค มีการกระจายพันธุ์ทั่วทั้งทวีปเอเชีย จากทางเหนือของอินเดีย จีน ลงไปถึงมาเลเซีย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : ลำลูกต้นรูปแท่งกลมยาวผอม ห้อยลงเป็นสาย ยาวได้ถึง 100 เซนติเมตร ส่วนปลายเรียว เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 0.5 – 1 เซนติเมตร ลำต้นเก่ามักมีกาบใบสีเทาดำหุ้ม

ใบ : รูปไข่แกมรี กว้าง 2 - 2.5 เซนติเมตร ยาว 5 - 7 เซนติเมตร ปลายใบแหลม แผ่นใบบางและร่วงก่อนออกดอก

ดอก : ดอกเดี่ยวจะออกตามข้อตลอดต้น ช่อดอกสั้นมาก ข้อละ 1 - 2 ดอก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีชมพูอ่อน รูปขอบขนานแกมรี กลีบเลี้ยงรูปแถบ กลีบดอกรูปใบหอก กลีบดอกมีขนาดกว้างกว่ากลีบเลี้ยง กลีบปากสีครีมรูปไข่กว้าง โคนกลีบมีเส้นสีม่วงจาง โคนกลีบมีลายสีเข้ม กลีบม้วนเข้าจนหุ้มเส้าเกสรที่อ้วนและสั้น ขนาดบานเต็มที่กว้าง 3.5-5 เซนติเมตร มีกลิ่นหอมอ่อนๆ (สลิล สิริธิตัจธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันท ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 2 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายไหม
(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องสายน้ำนม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium cretaceum* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อสามัญ : The Many Flowered Dendrobium

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องสายดอกขาว

เอื้องสายน้ำนม (ภาพที่ 3) เป็นกล้วยไม้ไทยในธรรมชาติ พบในบริเวณเขตรอยต่อด้านตะวันตกของประเทศไทย นอกเหนือจากนี้ยังพบกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดียและพม่า กล้วยไม้ชนิดนี้เป็นกล้วยไม้ที่ชอบอากาศร้อน เนื่องจากเป็นชนิดพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดที่ไม้อ่อนนุ่มมากนักจากระดับน้ำทะเลสามารถปลูกเลี้ยงได้ดีในสภาพแวดล้อมทุกภูมิภาคของประเทศไทย เอื้องสายน้ำนมจะให้หน่อแตกกอได้ไว นับเป็นกล้วยไม้ไทยอีกชนิดหนึ่งที่สามารถเลี้ยงให้เป็นกอและให้หน่อได้มาก จึงย่อมมีปริมาณดอกได้มากเมื่อถึงฤดูดอกในช่วงเดือนพฤษภาคม - กรกฎาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : ลักษณะรูปทรงกระบอก ความยาว 25 – 35 เซนติเมตร ข้อปล้องถี่ ปล้องบริเวณส่วนใกล้ข้อมีร่องบวม ลำต้นมีกาบใบบางหุ้ม ลำไม่ตรงมากนัก ปลายลำแหลมมน

ใบ : รูปไข่ ปลายใบเว้าไม่เท่า ทั้งใบก่อนออกดอก ออกตามข้อของลำต้น ยาว 1.25 เซนติเมตร

ดอก : เป็นดอกเดี่ยวพบตามข้อ ดอกโตประมาณ 3 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาวครีม กลีบปากรูปทรงเกือบกลม แผ่นกลีบไม่เรียบ โคนกลีบห่อจนคล้ายกรวย แผ่นปากสีออกเหลือง และมีเส้นสีแดงเลือดนกที่ด้านในกลีบปาก (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556)



ภาพที่ 3 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายน้ำนม
(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

หวายตะมอย

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium crumenatum* Sw.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : แส้พระอินทร์ เอื้องมะลิ นกกระยาง บวบกลางหา

หวายตะมอย (ภาพที่ 4) มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางสมุนไพร โดยนำใบและผลตำทำเป็นยาพอกท้องเด็กทำให้ร้อนท้อง แก้ปวดท้อง ต้มน้ำอาบแก้ซางซึก หรือ เอาน้ำทาแก้ฝีหนองหรือตุ่มสิ่ว ใช้ลำต้นอังไฟจนร้อนคั้นน้ำหยอดหู แก้หูเจ็บหรือหูอักเสบ และเอาลำต้นพอกหู ใช้ใบและดอกเป็นยาแก้

อหิวาตกโรค กาบกำนมีสรรพคุณ แก้มือเท้าเย็น บำรุงหัวใจ แก่ชีพจรเต้นเร็ว แก้ไข้กาฬ กระทบพิษ
 ดับพิษ ขับพยาธิ พบขึ้นทั่วไปตามป่าชายเลนชั้นใน บริเวณรอยต่อกับป่าบก ป่าพรุ พื้นที่ชายหาดที่มี
 แสงแดดรำไร ป่าดิบชื้น และป่าดิบแล้ง ออกดอกเกือบตลอดทั้งปี การกระจายพันธุ์ อินเดีย ศรีลังกา
 จีนตอนใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น: ต้นเป็นลำที่มีส่วนโคนโป่งพองคล้ายหัว รูปรี่ มีหลายข้อปล้อง ยาว 7 – 12
 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 – 2 เซนติเมตร เนื้อขึ้นไปเรียวยาวเป็นเส้นกลมและแข็ง ยาวได้ถึง
 60 – 70 เซนติเมตร อาจมีแขนงแยกจากส่วนนี้ได้ ต้นขึ้นเป็นกลุ่มทอดเอนหรือห้อยลงหลายทิศทาง
 มีการเจริญทางด้านข้างขึ้นชิดกันเป็นกอ

ใบ: ใบเกิดที่ลำต้นช่วงบนเรียงเป็นระยะและอาจลดรูปในช่วงปลายลำ ใบเดี่ยว เรียง
 สลับเป็นระยะตามลำลูกกล้วยช่วงบน แผ่นใบรูปรีแกมรูปขอบขนาน โคนใบแผ่เป็นกาบ ขอบปลายใบ
 เรียบ ปลายใบมน เส้นใบขนานตามยาวของใบ มองเห็นลางๆ ผิวใบเกลี้ยง สีเขียวเข้มเป็นมัน เนื้อใบบาง

ดอก: ดอกเดี่ยว ออกตามข้อของส่วนที่ไม่มีใบ ดอกสีขาว มีกลิ่นหอมแรง บานเพียงวัน
 เดียว กลีบเลี้ยงบนและกลีบดอกคู่ข้างรูปรี ปลายแหลม กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปสามเหลี่ยมฐานเยื้อง กลีบ
 ปากรูปรีแกมรูปไข่กลับ หูกลีบตั้งชัน ปลายมนถึงปลายตัด กลางกลีบสีเหลือง มีเนื้อเยื่ออ่อนเป็นสัน
 ตามยาว 5 สัน มีคางดอกยื่นยาว (สลิล สิริธิดาธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อภฉันท
 ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 4 ลักษณะลำต้นของหวายตะมอย

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องสายสามสี

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium crystallinum* Rchb.f.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องนางฟอน เอื้องนิ้วมือพระนารายณ์

เอื้องสายสามสี (ภาพที่ 5) เป็นกล้วยไม้ที่ชอบอากาศค่อนข้างเย็น และ ชุ่มชื้น ออกดอกช่วงปลายเดือน เมษายน ถึง พฤษภาคม ของทุกปี ลักษณะดอกพัสสีขาว สีเหลือง และปลายดอกมีสีม่วง มีกลิ่นหอมอ่อนๆ บริเวณที่พบกล้วยไม้ชนิดนี้ ได้แก่ พม่า ภูมิภาคอินโดจีน และไทย พบตามป่าผลัดใบและป่าดิบเขา ทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นภาคใต้ ออกดอกเดือนกุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น: กล้วยไม้อิงอาศัย ยาว 30-60 เซนติเมตร ลำต้นกลมยาว ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 6-7 มิลลิเมตร มีกาบสีเทา ผิวมักเป็นร่องตามยาว ขึ้นเป็นกอห้อยลง ข้อมีโคนกาบใบเหลือติดอยู่

ใบ: รูปรีแกมรูปหอก กว้าง 2-2.5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร แผ่นใบบาง ปลายแหลม มักทิ้งใบตอนออกดอก

ดอก: ออกตามข้อเป็นช่อสั้น 1-3 ดอก บานเต็มที่กว้าง 3-4 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาว มีแต้มสีชมพูม่วงที่ปลายกลีบ กลีบปากสีขาว มีแต้มใหญ่สีเหลือง กลางกลีบและมีแต้มสีชมพูม่วงที่ปลายกลีบ โคนกลีบปากแคบและห่อ ฝาครอบอับเรณูมีตุ่มเล็กๆใส ปลายแหลมมองดูคล้ายผลึกแก้ว (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันทน์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 5 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายสามสี

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องแวมยुरา

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium fimbriatum* Hook.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องค้ำน้อย เอื้องค้ำฟอย

เอื้องแวมยुरา (ภาพที่ 6) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยพบตามป่าผลัดใบหรือป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูง 400 – 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล โดยพบการกระจายพันธุ์ที่ทางใต้ของจีน หิมาลัย อินเดีย เนปาล สิกขิม พม่า ไทย มาเลเซีย ลาว และเวียดนาม สำหรับถิ่นกำเนิดตามธรรมชาติในประเทศไทยจะพบบริเวณ ป่าดิบเขา ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ ในภาคเหนือและ ภาคตะวันตก ออกดอกเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : มีลักษณะยาวเรียวเป็นแท่งโคนลำเล็ก มีความยาวราว 60-120 เซนติเมตร ลำจะมีสีน้ำตาลอ่อนปนเหลือง

ใบ : รูปไข่รีสีเขียวสดเรียงกันเป็นรูปขอบขนาน กว้าง 2.5 เซนติเมตร ยาว 4 -5 เซนติเมตร ลักษณะใบจะเรียงสลับซ้ายขวา โดยจะทิ้งใบก่อนที่จะเริ่มออกดอก

ดอก : ดอกจะแทงตรงบริเวณยอดลำ ช่อของดอกจะห้อยยาวลงมา ประมาณ 20 - 25 เซนติเมตร จำนวน 20 - 25 ดอก ดอกกว้าง 4 เซนติเมตร สีของดอกมีสีเหลืองสด หรือสีส้มแกมเหลืองกลีบปากมีแต้มสีน้ำตาลแดงที่กลางกลีบ ขอบกลีบหยักละเอียด (สลิล สิทธิจักรธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันท ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 6 ลักษณะลำต้นของเอื้องแวมยुरา

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

พวงหยก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium findlayanum* Parish & Rchb.f.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อสามัญ : Findlay's Dendrobium

ชื่อเรียกอื่น : หวายปม เอื้องข้อ

พวงหยก (ภาพที่ 7) เป็นกล้วยไม้ประเภทอิงอาศัยพบตามป่าดิบแล้งทางภาคเหนือ ใน เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ลำปาง โดยพบการกระจายพันธุ์ ในประเทศพม่าและลาว โดยจะเริ่มออกดอก ในเดือน มกราคม ถึง มีนาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : มีลักษณะเป็นปม ๆ แต่ละปมรูปคล้ายหัวใจ แต่แบนเล็กน้อย สีเขียวค่อนข้างใส ผิวมัน เรียงต่อกันเป็นสาย ทั้งต้นยาว 20 - 40 เซนติเมตร กว้าง 2 - 3 เซนติเมตร

ใบ : ใบเกิดที่ปลายยอด มี 2 - 5 ใบ รูปรีแกมขอบขนาน ปลายใบเว้ามนุ่ม แผ่นใบบาง แผ่นใบเหนียวคล้ายหนัง ขนาดยาว 6 - 7 เซนติเมตร กว้าง 1.5 - 2 เซนติเมตร มักจะร่วงเกือบหมดเมื่อเจริญเต็มที่

ดอก : ช่อดอกเกิดที่ช่วงปลายต้นที่ทิ้งใบเป็นช่อสั้น ๆ ช่อละ 2 - 3 ดอก ก้านดอกยาว 3 - 4 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาวอมชมพู ปลายกลีบแหลมมีแต้มสีชมพู กลีบปากเกือบกลม ขอบเป็นคลื่นหรือม้วนลงเล็กน้อย สีกลีบมีตั้งแต่เกือบขาวไปจนถึงม่วงอ่อน กลางกลีบมีแต้มสีเหลือง และสีน้ำตาลแดง ขนาดดอกประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร ดอกบานนาน 3 - 4 วัน (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบอุ่นท์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 7 ลักษณะลำต้นของพวงหยก

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

หวายเหลืองจันทบูร

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : หวายเหลืองนกขมิ้น

หวายเหลืองจันทบูร (ภาพที่ 8) เป็นกล้วยไม้ประเภทอิงอาศัยพบตามป่าดิบทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ โดยพบการกระจายพันธุ์เฉพาะในประเทศไทย โดยจะเริ่มออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์ ถึง มีนาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : รูปกระบอก โคนลำคอดเป็นก้านยาวเกือบครึ่งหนึ่งของความยาวลำ แล้วค่อย ๆ โป่งพองเจริญห้อยลง ยาว 40 – 70 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1 – 1.5 เซนติเมตร ผิวแห้งเป็นสันและร่องตามยาว ลำแก้มสีเหลือง

ใบ : ใบรูปขอบขนานถึงรูปรี ขนาดยาว 8 – 10 เซนติเมตร กว้าง 2 – 2.5 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างบาง แต่เหนียว เรียงตัวสลับเกือบตลอดต้น ปลายใบเว้าไม่เท่าบางครั้งทิ้งใบในช่วงมีดอก

ดอก : ช่อดอกเกิดใกล้ปลายต้น ช่อละ 3 – 6 ดอก ก้านดอกยาว 5 – 6 เซนติเมตร ผิวกลีบมันเล็กน้อย มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ที่มีดอกเหลืองล้วน และพันธุ์ที่มีแต้มสีม่วงแดงสองแต้มบริเวณโคนกลีบปาก ดอกขนาด 3.5 – 4 เซนติเมตร โดยดอกจะบานนาน ประมาณ 3 – 4 สัปดาห์ (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันท วิทยทอง, 2548)



ภาพที่ 8 ลักษณะลำต้นของหวายเหลืองจันทบูร

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องมัจฉาเหลือง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium griffithianum* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องมัจฉา

เอื้องมัจฉาเหลือง (ภาพที่ 9) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยลักษณะโดยทั่วไปจะคล้ายกับเอื้องมัจฉา แต่จะมีจุดที่แตกต่างที่เห็นได้ชัดคือดอกจะมีกลีบดอกสีเหลืองกลีบปากจะมีสีเหลืองที่เข้มกว่า และสีของลำต้นก็จะเข้มกว่าเอื้องมัจฉาทั่วไป แหล่งที่พบในประเทศไทยพบตามป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ ทางภาคเหนือ พบการกระจายพันธุ์ใน ไทย อินเดีย และเมียนมาร์ ช่วงเวลาออกดอก ตุลาคม ถึง พฤศจิกายน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : โคนลำคอดเป็นก้าน หลังจากนั้นโง่งพองเป็นเหลี่ยม สูงประมาณ 20 – 25 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5 – 2.5 เซนติเมตร ลำสีเขียวปนเหลือง

ใบ : รูปไข่ ใบมีความหนาแข็ง ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย โดยแต่ละลำมีใบประมาณ 2 – 3 ใบ ใบยาวประมาณ 10 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร

ดอก : มีลักษณะเป็นช่อ ช่อดอกยาวกว่า 15 เซนติเมตร กลีบดอกสีเหลือง ปากสีเหลืองเข้ม ริมขอบปากมีขน ดอกโตประมาณ 5 เซนติเมตร (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556)



ภาพที่ 9 ลักษณะลำต้นของเอื้องมัจฉาเหลือง

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องผึ้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium lindleyi* Steud.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : โปดอนแห่

เอื้องผึ้ง (ภาพที่ 10) เป็นกล้วยไม้ประเภทอิงอาศัยที่สวยงามมาก ทั้งลักษณะของต้น ใบ และช่อดอก ซึ่งมีลักษณะดอกไม้แน่นจนเกินไปและพลีไหวได้ง่าย เป็นที่นิยมปลูกกันทั่วไป โดยเฉพาะในภาคเหนือ โดยจะพบได้ในเกือบทุกภาคในประเทศไทย ยกเว้นภาคกลาง แหล่งที่พบส่วนมากจะพบในป่าดิบแล้ง เขตการกระจายพันธุ์ในสิกขิม ภูฏาน อินเดีย จีน พม่า ลาว และเวียดนาม โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน กุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : ลำรูปรี มักจะแบนเล็กน้อย ขนาดยาว 5 – 12 เซนติเมตร กว้าง 1.5 – 2.5 เซนติเมตร มีสันและร่องตามยาว ผิวแห้ง สีเขียวเข้ม ขึ้นเป็นกระจุกแน่น

ใบ : รูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 2 – 2.5 เซนติเมตร ยาว 6 - 12 เซนติเมตร แผ่นใบหนาแข็ง และเหนียว สีเขียวเข้ม ปลายใบแหลมมนหรือหยักเว้าตื้นๆ แต่ละต้นมีใบ 1 ใบที่ยอด

ดอก : ลักษณะการออกดอกเป็นช่อห้อยลงเป็นพวง ทั้งช่อขนาด 15 - 40 เซนติเมตร ก้านดอกพอม ยาว 3 – 4 เซนติเมตร ขนาดบานเต็มที่กว้าง 3 เซนติเมตร ดอกบานใหม่สีเหลืองอมเขียว วันต่อมาจะมีสีเหลืองอมส้ม โดยกลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลืองเข้ม กลีบปากแผ่กว้าง รูปรีแกมกลม มีแต้มสีส้ม มีกลิ่นหอม ดอกบานทนประมาณ 1 สัปดาห์ (สลิล สิทธิจักรธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันท์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 10 ลักษณะลำต้นของเอื้องผึ้ง

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องจำปา

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องม่อนไซ่ เหลืองนกขมิ้น

เอื้องจำปา (ภาพที่ 11) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัยพบตามป่าดิบแล้งในเกือบทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยพบการกระจายพันธุ์ใน เนปาล สิกขิม ภูฏาน อินเดีย พม่า และลาว โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน เมษายน ถึง มิถุนายน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ :

ลำต้น : เป็นแท่งกลม ยาวได้ถึง 1 เมตร ส่วนปลายเรียวเล็กกว่าโคนต้น เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1 – 1.5 เซนติเมตร

ใบ : รูปไข่แกมรี กว้าง 2.5-3 เซนติเมตร ยาว 8-12 เซนติเมตร ปลายแหลมมน แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียว มีใบตลอดต้น

ดอก : ออกเป็นช่อตามข้อใกล้ยอด แต่ละช่อมีจำนวน 5-12 ดอก บานเต็มที่กว้างประมาณ 4 เซนติเมตร สีเหลือง กลีบปากมีแต้มสีม่วงดำ ขอบกลีบมีขนเข้า งอขึ้นเป็นกระพุ้ง มีขนทั่วไป กลิ่นหอมอ่อนๆคล้ายเครื่องเทศ บานทนประมาณ 4 – 5 วัน (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อดิพันธ์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 11 ลักษณะลำต้นของเอื้องจำปา

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องแก้วก๊ว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium nobile* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อสามัญ : The Noble Dendrobium

ชื่อเรียกอื่น : โนบิลเ่ เอื้องแก้วก๊ว

เอื้องแก้วก๊ว (ภาพที่ 12) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัยพบตามป่าดิบเขา ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100 - 1,000 เมตร โดยพบการกระจายพันธุ์ใน หิมาลัย อัสมัม อินเดีย เนปาล ภูฏาน ลิกซิม พม่า ไทย ลาว และเวียดนาม โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน มีนาคม ถึง เมษายน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : รูปกระบอก โคนลำคอดเป็นก้าน ขึ้นตั้งตรงหรือทอดเอนหลายทิศทาง เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 - 2 เซนติเมตร สูง 30 - 60 เซนติเมตร ผิวต้นสีเขียวเป็นร่องตามยาว

ใบ : รูปรีถึงรูปขอบขนาน กว้าง 2 - 3 เซนติเมตร ยาว 7 - 11 เซนติเมตร ปลายใบเว้ามนไม่เท่า

ดอก : ออกเป็นช่อตามข้อใกล้ปลายยอด จำนวน 2 - 4 ดอก ขนาด 5 - 6 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาวหรือม่วงอมขาว ขอบกลีบบิด กลีบปากลักษณะเป็นกรวยโคนกลีบมีแต้มสีม่วงเข้ม ก้านช่อดอกแห้งติดทนนาน ดอกมีกลิ่นหอม (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556)



ภาพที่ 12 ลักษณะลำต้นของเอื้องแก้วก๊ว

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องมัจฉาณู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium palpebrae* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องมัจฉา

เอื้องมัจฉาณู (ภาพที่ 13) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัยพบตามป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ บางครั้งพบเจริญบนหิน พบในป่าดิบเขาที่ร่มรำไรถึงโล่งแจ้งแสงแดดจัด โดยพบการกระจายพันธุ์อินเดีย จีน พม่า ลาว และเวียดนาม โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน กุมภาพันธ์ ถึง มีนาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : เป็นลำสี่เหลี่ยมโคนเรียวกลมคล้ายก้าน ปลายสอบ สูง 15 – 20 เซนติเมตร กว้าง 1 – 1.5 เซนติเมตร ผิวเรียบมันเล็กน้อย ขึ้นเป็นกลุ่มตรงหรือทอดเอนหลายทิศทาง

ใบ : เกิดใกล้ยอด มี 3 – 5 ใบ รูปขอบขนานแกมรูปรี ขนาดใบยาว 10 – 15 เซนติเมตร กว้าง 2 – 2.5 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียวคล้ายหนัง ผิวใบมัน

ดอก : ช่อดอกเกิดตามข้อเป็นพวงห้อยลงมีความยาวของช่อดอก 15 – 20 เซนติเมตร กว้าง 7 – 8 เซนติเมตร ดอกในช่อค่อนข้างโปร่ง ก้านดอกยาว 3 – 4 เซนติเมตร ขอบกลีบมักจะมีสีม่วง ขนาดดอก 2 – 2.5 เซนติเมตร ดอกบานทนประมาณ 3 – 5 วัน มีกลิ่นหอมอ่อนๆ (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบฉันทน์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 13 ลักษณะลำต้นของเอื้องมัจฉาณู

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องสายน้ำผึ้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium primulinum* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องสายประสาธ เอื้องสายเหลือง เอื้องสายน้ำเขียว

เอื้องสายน้ำผึ้ง (ภาพที่ 14) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัย เป็นกล้วยไม้ที่มีเขตกระจายพันธุ์กว้างขวางตั้งแต่ เมืองยูนาน ประเทศจีน พม่า ลาว ไทย และเวียดนาม เติบโตบนความสูงตั้งแต่ 700 – 1,600 เมตรจากระดับน้ำทะเล พบได้ตามป่าผลัดใบ ป่าดิบเขา ป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรังผสมสน มักพบในที่โล่งแจ้งแสงแดดจัด ทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน กุมภาพันธ์ ถึง มีนาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : ลำต้นเรียวยาวห้อยลง เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.3 เซนติเมตร ยาว 40-80 เซนติเมตร

ใบ : รูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 3 เซนติเมตร ยาว 10-12 เซนติเมตร

ดอก : ออกตามซอก มี 2-3 ดอก ขนาด 5- 6.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีขนาดเล็ก รูปขอบขนานแกมรูปแถบ มีสีชมพูเข้มหรือสีม่วงอ่อนไปจนถึงเข้ม กลีบปากแผ่มนเกือบกลม สีเหลืองอ่อน มีขนนุ่ม ขอบกลีบหยักละเอียด (สลิล สิริสิทธิ์ธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อนุรักษ์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 14 ลักษณะลำต้นของเอื้องสายน้ำผึ้ง

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องช้างน้ำ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องคำตาควาย สบเป็ด เอื้องตาควาย

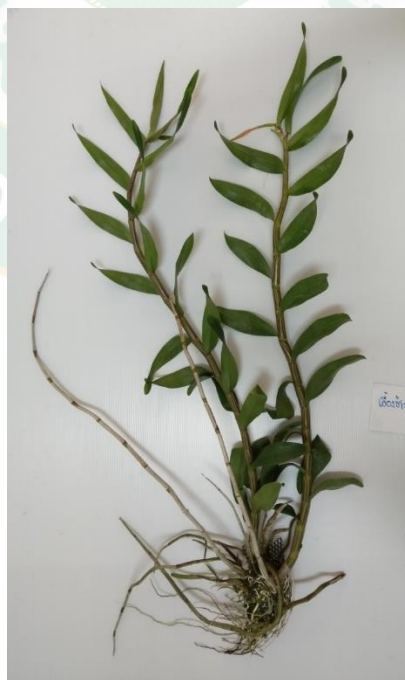
เอื้องช้างน้ำ (ภาพที่ 15) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัย เป็นกล้วยไม้ที่มีเขตกระจายพันธุ์ใน เนปาล อินเดีย ลาว เวียดนาม และมาเลเซีย พบได้ตามป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณเกือบทุกภาค ยกเว้นภาคกลาง โดยจะเริ่มออกดอกในเดือน กุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : เป็นลำตรงหรือโค้งเล็กน้อย ยาวประมาณ 1 เมตร หรือมากกว่า เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1 - 1.5 เซนติเมตร ต้นแข็ง ปลายเรียว ขึ้นเป็นกลุ่มไม่มีทิศทางแน่นอน

ใบ : รูปขอบขนานแกมรูปใบหอก ขนาดใบกว้าง 6 - 10 เซนติเมตร ยาว 2 - 3 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียว สีเขียวอมน้ำตาลหรืออมม่วงแดง เรียงตัวเกือบตลอดต้น

ดอก : ช่อดอกเกิดใกล้ปลายต้นเป็นพวงห้อยลง ขนาดช่อยาว 12 - 20 เซนติเมตร ดอกในช่อมี 5 - 10 ดอก ฝักกล้วยไม้ในค่อนข้างมันวาว กลีบปากมีขนนุ่ม ก้านดอกยาว 5 - 6 เซนติเมตร ขนาดดอกประมาณ 6 เซนติเมตร ดอกบานทนประมาณ 5 วัน (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อปฉันทน์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 15 ลักษณะลำต้นของเอื้องช้างน้ำ

(จุฑามาศ วงศ์จักร์, 2562)

เอื้องมอนไซ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium thyrsiflorum* Rchb.f.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : มอนไซไบมน เอื้องมอนไซห่าน กับแกะ

เอื้องมอนไซ (ภาพที่ 16) อยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อิงอาศัย เป็นสายพันธุ์ที่ออกดอกได้ง่าย เป็นช่อขนาดใหญ่ พบตามป่าดิบเขา ที่ระดับความสูง 1,000 - 1,500 เมตร ตามที่โล่งแจ้ง แสงแดดจัดและแสงแดดรำไร ทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ออกดอกช่วง เดือน กุมภาพันธ์-มีนาคม พบการกระจายพันธุ์ของเอื้องมอนไซใน อินเดีย จีน พม่า ลาว และเวียดนาม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : ลำกลมหรือเกือบกลมเป็นสันและร่องตื้น ๆ ตามยาว สีเขียวเข้มหรือเขียวอมน้ำตาล ยาว 25 - 50 เซนติเมตร ผิวมันเล็กน้อยขึ้นเป็นกอ

ใบ : ใบรูปรี ปลายแหลมมน แผ่นใบค่อนข้างหนา และเหนียวคล้ายหนัง กว้าง 4 เซนติเมตร ยาว 7 - 10 เซนติเมตร สีเขียวเข้ม ผิวมัน ทั้งใบเมื่อผลิดอก

ดอก : ช่อดอกเกิดใกล้ยอด เป็นพวงห้อยลง ยาว 20 - 25 เซนติเมตร จำนวน 30 - 50 ดอก ขนาด 3 - 4 เซนติเมตร ดอกในช่อค่อนข้างแน่น กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาว กลีบปากกลมสีเหลือง และขอบกลีบมีขนนุ่มหยาบละเอียด ดอกมีกลิ่นหอมดอกบานเกือบพร้อมกันทั้งช่อและทนประมาณ 1 สัปดาห์ (สลิล สิทธิจักรธรรม, 2551; สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2556; อบรมันท์ ไทยทอง, 2548)



ภาพที่ 16 ลักษณะลำต้นของเอื้องมอนไซ

(จุฬามาศ วงศ์จักร์, 2562)

สารพฤกษเคมี (Phytochemical)

สารพฤกษเคมี (Phytochemical) เป็นสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่พบในพืช ซึ่งพบเป็นจำนวนมากในพืช สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (Biosynthetic origin) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ซึ่งสารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด เช่นคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืช (จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559; นิสา จุลโพธิ์, 2559; อรุณรัตน์ สันฐิติ กวินสกุล และ ทิฆัมพร พันพูน, 2556)

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นอะตอมหรือกลุ่มที่มีหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ (unpaired electron) มีความไม่เสถียร ว่องไวมากในเนื้อเยื่อสัตว์เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวของอะตอมในออร์บิทัลชั้นนอกสุดที่ระดับพลังงานสูง โดยจะพบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมและในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) โดยปกติในร่างกายมนุษย์จะมีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีจำนวนอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ การที่อะตอมหรือโมเลกุลเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอนไปนั้นจะส่งผลให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้น ๆ ไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยอนุมูลอิสระจะแย่งกันเข้าไปจับกับอิเล็กตรอนโมเลกุลอื่น ๆ ที่อยู่รอบข้างกลายเป็นอนุมูลอิสระแทนที่อิเล็กตรอนที่ ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อื่น ๆ ต่อเนื่องกันไป และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นภายในเซลล์และสามารถทำลายเซลล์ได้ เช่น สารประกอบออกซิเจนไนโตรเจน หรือคลอรีน อนุมูลอิสระเหล่านี้มีทั้งโทษและประโยชน์ โดยทั่วไปในร่างกายของสิ่งมีชีวิตสามารถเปลี่ยนออกซิเจนไปเป็นสารอนุมูลออกซิด (oxyl radicals) และ ROS (reactive oxygen species) ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย อนุมูลอิสระมีหลายชนิดที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical) แหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในตัวคน มี 2 แหล่ง คือ จากภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกายและจากแหล่งภายนอกร่างกายที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ความเครียด การติดเชื้อ มลพิษในอากาศ เป็นต้น โดยภายใต้สภาวะนี้อนุมูลอิสระจะส่งผลต่อการทำลายระบบต่าง ๆ ในร่างกาย ทำให้ร่างกายเสียสมดุลและส่งผลเสียต่อเซลล์

ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต อนุมูลอิสระสามารถทำลายเซลล์ทำให้เกิดโรค เช่น โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) ไขข้ออักเสบ (Arthritis) โรคหัวใจขาดเลือด (Coronary heart disease) ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะเสื่อมหรือชราภาพ หรือโรคมะเร็งซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้น ๆ ของคนไทยและคนทั่วโลก

อันตรายจากอนุมูลอิสระ หรือ free radical เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย สามารถทำลายเซลล์ปกติของร่างกายได้ เมื่อร่างกายสะสมอนุมูลอิสระไว้ปริมาณมากเกินกว่าที่ร่างกายจะควบคุมได้ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ส่งผลให้มีการทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน กรดนิวคลีอิก ก่อให้เกิดความเสื่อมของร่างกายและเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอื่น ๆ ตามมา เช่น มะเร็ง หัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น ในภาวะปกติร่างกายจะมีสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-free radical reagent) หรือ antioxidant เพื่อทำหน้าที่ควบคุมปริมาณของอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามแหล่งการเกิดคือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย (endogenous free radical) สามารถเกิดขึ้นได้ภายในเซลล์ที่นิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย, golgi apparatus, ribosome โดยเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมปกติในร่างกาย หรือภาวะที่ร่างกายผิดปกติ เช่น การอักเสบ การติดเชื้อ การออกกำลังกายอย่างหักโหม

2. อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกในร่างกาย (exogenous free radical) เป็นอนุมูลอิสระที่เกิดจากหลายสาเหตุภายนอกร่างกาย เช่น สารเคมี แสงแดด (รังสี UVA, UVB) มลพิษจากควันการเผาไหม้เครื่องยนต์ ควันบุหรี่ สุรา และยาฆ่าแมลง ซึ่งเป็นตัวเร่งทำให้มีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น

ดังนั้น ในร่างกายของมนุษย์จึงมีกระบวนการต้านหรือกำจัดอนุมูลจำพวกนี้อยู่แล้วโดยอาศัยการสร้างเอนไซม์หรือสารต่าง ๆ ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หรือได้รับจากการรับประทานอาหาร เช่น เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) วิตามินซี (vitamin C) ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่สามารถพบในพืชผักและผลไม้ โดยสามารถชะลอหรือป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระได้ โดยสารที่สามารถป้องกัน ยับยั้ง หรือทำลายอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

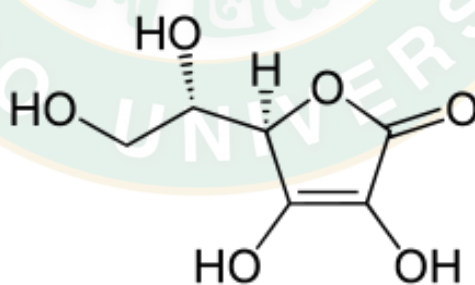
สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidants) คือสารที่ทำลายอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่คือเอนไซม์และไม่เอนไซม์ ลักษณะสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือสามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระหรือสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนนั้น สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ป้องกันสารชีวโมเลกุลที่สำคัญภายในร่างกาย เช่น ไขมัน ดีเอ็นเอ และเอนไซม์ที่สำคัญ หรือป้องกันโครงสร้างของเซลล์ เช่น เยื่อหุ้มของเซลล์หรือออร์แกเนลล์ สารชีวโมเลกุล

ที่มีหน้าที่ในสิ่งมีชีวิตบางชนิดสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย เช่น แอลบูมิน กลูโคส คาร์โนซีน (carnosine) ทอรีน (taurine) กรดยูริก เอสโตรเจน แคโรทีน ครีเอทีน วิตามินเอ กรดไดไฮโดรไลโปอิก (dihydrolipoic acid) โพลีเอมีน ไฟบรินเจน โดยสารเหล่านี้พบได้ในสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้สารในธรรมชาติที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ ยกตัวอย่างเช่น วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน กรดไฟติก และพฤษเคมีต่าง ๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) ฟลาโวนอยด์ และไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เป็นต้น โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลากหลายแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น (สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย, 2555; โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น

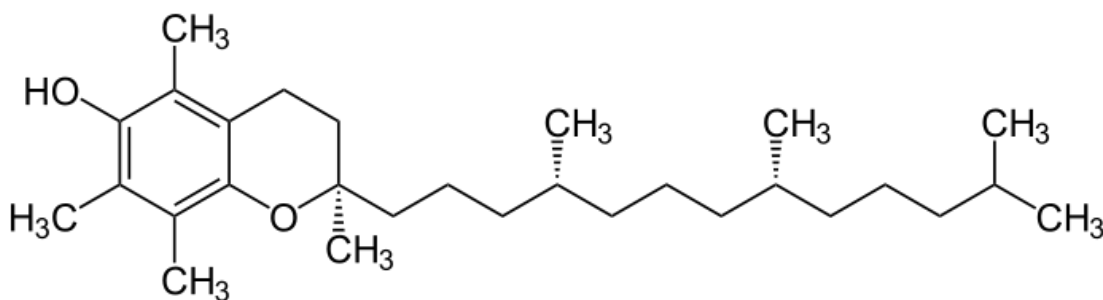
1. วิตามินซี มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (AsC_2H_2) มีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ปฏิกิริยาโดยรวมคือ การให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระเป็นการกำจัดหรือสลายอนุมูลอิสระคือ R^\cdot ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ Asc^\cdot (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) แสดงดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 ascorbic acid (วิตามินซี)

(วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2562)

2. วิตามินอี หรือ tocopherol เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมันจากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์หรือรูปแบบ α - tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุดจากบรรดาไอโซเมอร์ทั้งแปดชนิด วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) แสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 α - tocopherol (วิตามินอี)

(Wikimedia, 2019)

3. สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิล โพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม – 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลโครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)


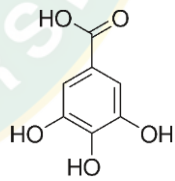
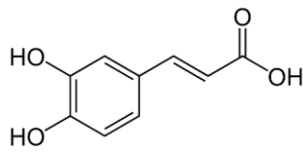
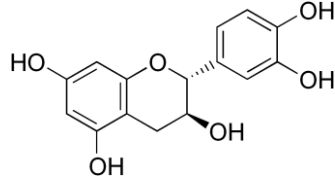
สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ทั่วไป อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. ฟีนอลทั่วไป กรดฟีนอลิก และอนุพันธ์ เช่น Gallic acid Ellagic acid Tannic acid Vanillin Catechol Resorcinol และ Salicylic acid เป็นต้น สารกลุ่มนี้พบได้ในผลไม้หลายชนิด
2. ฟีนิลโพรพานอยด์ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกที่วงแหวนอะโรมาติก มีสายโซ่คาร์บอน 3 คาร์บอนเกาะอยู่ แยกออกได้หลายกลุ่ม ได้แก่ Hydroxycinnamic acid (Ferulic acid Caffeic acid หรือ Coumaric acid) Coumarins (Umbelliferone Scopoletin Aesculetin หรือ Psoralen) Lignans (Pinoresinol Eugenol หรือ Myristicin)
3. ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น $C_6-C_3-C_6$ แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ Catechins Proanthocyanins Anthocyanidines Flavones Flavonols Flavonones และ Isoflavones

สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต และป้องกันการสร้างสารก่อมะเร็ง สารกลุ่มนี้ถูกจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ซึ่งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยเหล่านี้ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สารประกอบฟีนอลิก คือ สารที่มีสูตรโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป

สารกลุ่มนี้ถูกจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) มีหลักการ คือ เป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้น ๆ ดังนั้น การวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มี การระบุชนิดและโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง (วรานนท์ ทองอินลา และคณะ, 2557)

ตารางที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ

Class	Basic Skeleton	Sample
Simple phenols	C_6	 Phenol
Phenolic acid	C_6-C_1	 Gallic acid
Phenylpropanoids	C_6-C_3	 Caffeic acid
Flavonoids	$C_6-C_3-C_6$	 Catechin

โรคมะเร็ง

ประเทศไทยมีอัตราผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นในทุกปี ขณะนี้โรคมะเร็งเป็นปัญหาการเสียชีวิตอันดับ 1 ของคนไทย ครองอันดับติดต่อกันมากกว่า 10 ปี ปีละประมาณ 60,000 คน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีรายงานการพบผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ประมาณ 150,000 คน/ปี โดยสาเหตุที่แท้จริงในการเกิดโรคมะเร็งยังไม่ทราบแน่ชัดเนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง ซึ่งอาจเนื่องจากหลายสาเหตุร่วมกัน เช่น สาเหตุภายใน ได้แก่ เชื้อชาติ พันธุกรรม อายุ เพศ หรือสาเหตุภายนอก ได้แก่ แสงอาทิตย์ สารเคมี บุหรี่ การอักเสบจากการติดเชื้อเรื้อรังเป็นเวลานาน หรือเกิดจากฮอโมน เป็นต้น หนึ่งในนั้น คือ อายุที่เพิ่มขึ้น ความเสี่ยงของโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นด้วย โดยมะเร็งเป็นโรคที่มีระยะเวลาการก่อโรคที่ยาวนาน ใช้เวลาหลายปีกว่าจะปรากฏอาการผิดปกติ ผู้ที่เป็นส่วนใหญ่มักจะไม่รู้ตัว และปัจจุบันประชาชนไทยมีอายุยืนยาวขึ้น ระบบการควบคุมโรคติดต่อดีขึ้น ขณะเดียวกันมีการควบคุมอัตราการตายของทารกแรกคลอดและเด็กกลดลง ส่งผลทำให้โครงสร้างประชากรเปลี่ยนแปลงไป กำลังเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ จึงคาดการณ์ว่าในอนาคตจะพบผู้ป่วยโรคมะเร็งได้มากขึ้น จากรายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาลของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ (Hospital-based Cancer Registry) (กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็ง, 2561) ในปี พ.ศ. 2560 มีผู้ป่วยมารับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติเป็นจำนวน 22,250 คน โดยข้อมูลดังกล่าวไม่รวมผู้ป่วยโรคมะเร็งที่เข้ารับการรักษาในสถานอื่น ๆ หรือเสียชีวิตโดยที่ไม่ได้รับการรักษา โรคมะเร็งที่พบเป็นจำนวนมากแยกตามเพศ คือในเพศชาย ได้แก่ มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งปอด และมะเร็งต่อมลูกหมาก ในเพศหญิงชนิดที่พบมากที่สุดคือมะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งตับ ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็ง พบว่ามีความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามอายุ อัตราเสี่ยงจะเพิ่มขึ้นเมื่อประชาชนมีอายุเพิ่มมากขึ้นและวิถีชีวิตมีการเปลี่ยนแปลงในประเทศกำลังพัฒนา มะเร็งเป็น กลุ่ม ของ โรค ที่ เกิด ขึ้น เนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติ ที่ ดี เอ็น เอ หรือ สาร พันธุกรรม ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วและมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ และในที่สุดทำให้เกิดการตายของเซลล์ก้อนเนื้อดังกล่าว เนื่องจากเกิดการขาดเลือดไปเลี้ยงเซลล์ เพราะการเจริญเติบโตของหลอดเลือด ถ้าหากเซลล์ดังกล่าวเกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อมะเร็งตามอวัยวะนั้น ส่งผลทำให้เซลล์สูญเสียหน้าที่เฉพาะของเซลล์ปกติไป เซลล์มะเร็งจะมีกระบวนการสันดาปพลังงานที่แตกต่างจากเซลล์ปกติ โดยสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดความผิดปกตินั้นมีทั้งปัจจัยภายในและภายนอก ปัจจัยภายใน เช่น กรรมพันธุ์ ฮอโมน สภาวะของระบบภูมิคุ้มกัน และการกลายพันธุ์ที่ได้รับผลกระทบมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึม ส่วนปัจจัยภายนอกเรียกว่าสารก่อมะเร็ง เช่น คอวัน บุหรี่ รังสี สารเคมีอย่างอื่นหรือการติดเชื้อโรค โดยปัจจุบันแนวทางในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง ได้แก่ การผ่าตัด การฉายรังสี เคมีบำบัด การใช้ฮอโมน รักษาโดยระบบภูมิคุ้มกัน

และการรักษาแบบจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง เป็นต้น ซึ่งวิธีที่กล่าวมาข้างต้นไม่สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้ทั้งหมดและยังมีค่าใช้จ่ายในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งสูงมาก รวมถึงอาจมีการแพ้ยาบำบัดหรือผลข้างเคียง (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2562)

กลไกการเกิดมะเร็ง

กลไกการเกิดมะเร็งนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนหลักๆ คือ initiation, promotion และ progression ซึ่งในแต่ละขั้นตอนมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. Initiation ในขั้นตอนนี้เซลล์ปกติจะได้รับการกระตุ้นให้มีความไวต่อสิ่งแวดล้อมที่เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic agents) ต่าง ๆ สารก่อมะเร็งจะเข้ารวมตัวกับ DNA RNA หรือโปรตีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้ในระดับหนึ่งที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) หรือเป็นยีนส์มะเร็ง (oncogene)

2. Promotion เป็นระยะที่เซลล์มียีนมะเร็ง ซึ่งจะมีการแบ่งตัวได้ในระยะนี้ และในระยะนี้สารก่อมะเร็งที่มากกระตุ้น เรียกว่า promoter เป็นสารเสริมฤทธิ์ของสารก่อมะเร็งตัวแรกทำให้เซลล์มี oncogene เพิ่มขึ้น

3. Progression ในระยะนี้เซลล์จะกลายเป็นเซลล์มะเร็งโดยสมบูรณ์แบบ จะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วมีความผิดปกติของโครโมโซม มีรูปร่างและคุณสมบัติทางชีวเคมีได้หลากหลาย มีการเปลี่ยนแปลงของ receptor บนผิวเซลล์ เซลล์สามารถผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ สำหรับใช้ในการบุกรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงและแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ ของร่างกายได้

มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Colorectal cancer หรือ CRC)

มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงเป็นมะเร็งที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตที่สำคัญของประชากรทั่วโลก ถ้าวินิจฉัยได้เร็วและได้รับการรักษาที่เหมาะสมตั้งแต่ระยะแรก ผู้ป่วยจะมีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี ถึงร้อยละ 90 แต่ถ้าเป็นระยะท้ายซึ่งมีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ อัตราการรอดชีวิตเหลือเพียงร้อยละ 10 ตำแหน่งมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่พบส่วนใหญ่ร้อยละ 65-70 อยู่ด้านซ้ายต่ำกว่า splenic flexure โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณ rectum และ sigmoid ที่เหลือร้อยละ 30-35 อยู่ด้านขวา พยาธิสภาพมะเร็งลำไส้ใหญ่ร้อยละ 98 เป็น adenocarcinoma ซึ่งแบ่งเป็น well-differentiated, moderately และ poorly differentiated ซึ่ง poorly differentiated นั้น มีการพยากรณ์โรคไม่ดี พบได้ประมาณร้อยละ 20 และถ้ามีลักษณะของเซลล์เป็น mucinous หรือ colloid ร่วมด้วย จะมีการดำเนินโรคที่รุนแรงกว่า ซึ่งเซลล์ชนิด mucinous หรือ colloid พบได้ร้อยละ 15

มะเร็งลำไส้ใหญ่แบ่งเป็น 3 ประเภท ได้แก่

1. Sporadic CRC

ไม่มีประวัติมะเร็งลำไส้ใหญ่ในครอบครัว พบร้อยละ 70-85 ของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งหมดโดยมากพบในอายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไป โดยพบมากกว่าร้อยละ 80 เริ่มจากติ่งเนื้อในลำไส้ชนิด adenomatous polyps มาก่อน มีส่วนน้อยที่เป็น non-polypoidal (flat หรือ depressed) lesions และเปลี่ยนแปลงกลายเป็นมะเร็งลำไส้ (de novo cancers) ซึ่งการเกิดมะเร็งในลักษณะนี้พบมากขึ้นในคนเอเชีย

2. Familial CRC

มีประวัติมะเร็งลำไส้ใหญ่ในครอบครัว ความผิดปกติอาจจะเกิดเนื่องจากปัจจัยทางพันธุกรรมหรืออยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน พบประมาณร้อยละ 20-25 ของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งหมด

3. Hereditary CRC syndrome

พบประมาณร้อยละ 5-10 ของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งหมด ซึ่งมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้แก่ Familial polyposis (FAP)

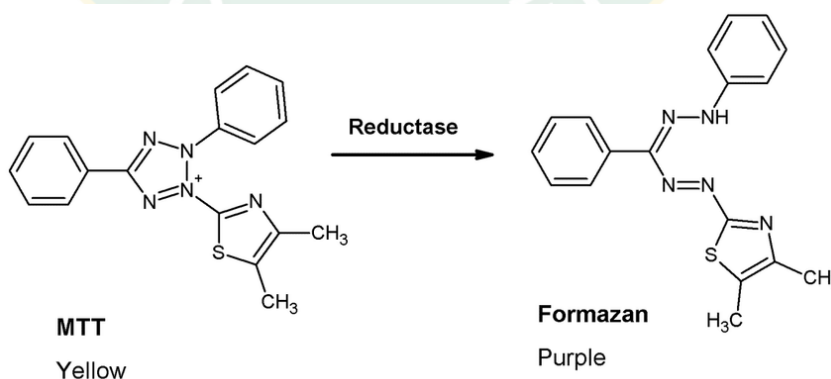
- Familial adenomatous polyposis (FAP) ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant ในลำไส้ใหญ่มี adenomatous polyps หลายร้อยหรือหลายพันตั้งแต่อายุน้อย อายุเฉลี่ยของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เท่ากับ 39 ปี
- Other polyposis syndromes ได้แก่ Hamartomatous syndromes, Peutz-Jeghers syndrome และ Juvenile polyposis
- Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (HNPCC) ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant พบบ่อยกว่า FAP อายุเฉลี่ยของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่อยู่ที่ 45 ปี และมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งชนิดอื่นเช่น endometrial cancer, ovarian cancer และ urinary tract cancers

ปัจจุบันการรักษามะเร็งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การผ่าตัด การฉายรังสี การใช้ฮอร์โมน การเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย และการใช้ยารักษาหรือที่เรียกว่า เคมีบำบัด โดยยาที่ดีควรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้อย่างจำเพาะ การใช้ยารักษามะเร็งส่วนใหญ่เป็นการใช้ยาหลายตัวร่วมกัน โดยควรเลือกยาที่มีกลไกการทำงานแตกต่างกันเพื่อเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งยารักษาโรคมะเร็งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายนั้น ส่วนหนึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น ยาในกลุ่ม vinca alkaloids ได้แก่ vincristine และ vinblastine จากต้น พวงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus*) และยาในกลุ่ม alkaloid ester ได้แก่ paclitaxel จากเปลือกของต้น Yew ในสกุล *Taxus* โดยยาทั้งสองกลุ่มนี้ มีกลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบจำเพาะต่อระยะหนึ่งของวงจร

ชีวิตของเซลล์ (cell cycle specific) ครอบคลุมการแบ่งตัวของเซลล์ (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2558) จึงมีความเป็นไปได้ว่าในธรรมชาติน่าจะยังมีสารจากพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีศักยภาพเพียงพอในการที่จะพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งได้ต่อไป

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) เป็นการตรวจสอบการมีชีวิตและการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) โดยวิธีการตรวจนับเซลล์ที่มีชีวิตมีการทดสอบได้หลายวิธี เช่น การนับเซลล์ด้วย Haemocytometer (Counting chamber), electronic particle counting, radionuclide incorporation assay และ colorimetric assay โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบแบบ colorimetric assay โดยวิธี MTT assay การทดสอบนี้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการประเมินการมีชีวิตของเซลล์ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงสี ค้นพบโดย Mormonn ในปี ค.ศ. 1983 หลักการทำงานของ MTT คือเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ หรือ metabolically active เท่านั้นที่สามารถใช้ enzyme succinate dehydrogenase ซึ่งพบใน cytochrome b และ c ของไมโทคอนเดรียเปลี่ยน 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ให้เป็น formazan product โดยปฏิกิริยา reduction ผลึกของ formazan ที่ได้มีสีม่วงน้ำเงินและมีความสามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวช่วงคลื่นประมาณ 550-600 nm (Denizot and Lang, 1986; Mosmann, 1983) ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสีม่วงน้ำเงิน หรือปริมาณ formazan product ที่เกิด อันแปรผันโดยตรงกับปริมาณของ succinate dehydrogenase enzyme ซึ่งขึ้นกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้น จึงสามารถวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ โดยการวัดปริมาณ formazan product ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง MTT ภายในเซลล์



ภาพที่ 19 โครงสร้างของ MTT และหลักการของ MTT colorimetric assay (Badr, 2012)

กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส

กระบวนการอะพอพโทซิสเป็นกลไกสำคัญกลไกหนึ่งที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์ได้รับอันตราย โดยเมื่อเกิดอะพอพโทซิสเซลล์จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติ โดยเซลล์จะเกิดการหดตัวและมีการรวมตัวกันของโครมาติน (chromatin condensation) จากนั้นจะเกิด nuclear fragment โดยสาย DNA จะถูกย่อยเป็นท่อนสั้น ๆ โดย endonuclease ในขณะที่เดียวกันเซลล์จะค่อย ๆ เหี่ยวฝอลง ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์จะเกิดการหดแฟบ (membrane blebbing) โดยที่เยื่อหุ้มเซลล์ไม่แตกแต่จะหดตัวและห่อหุ้มเอาสารต่างๆ ภายในเซลล์ไว้แล้วรวมตัวกันกลายเป็นก้อน เรียกว่า apoptotic body จากนั้นจะเกิดการสลายตัวหรือถูกจับกินโดย phagocyte หรือ macrophage ซึ่งจะไม่เกิดปฏิกิริยาการอักเสบของเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่อยู่ข้างเคียง สำหรับกลไกการเกิด apoptosis นั้น มีอยู่ 2 pathway ได้แก่ mitochondrial pathway และ death receptor pathway โดยอาศัยการทำงานอย่างเป็นขั้นตอนของ cysteine protease ที่มีชื่อว่า caspase โดย caspase นั้นเดิมจะอยู่ในสภาพที่ไม่ทำงาน (inactive) เรียกว่า procaspase เมื่อมีสัญญาณการเกิด apoptosis เกิดขึ้น procaspase จะมีการตัดเอาส่วนของ prodomain ออกไปแล้วเปลี่ยนเป็น caspase ที่พร้อมทำงาน (active) ซึ่งการกระตุ้น caspase จะเกิดขึ้นอย่างเป็นลำดับ (Majno and Joris, 1995; สหพัฒน์ บริศรัรักษ์, 2548)

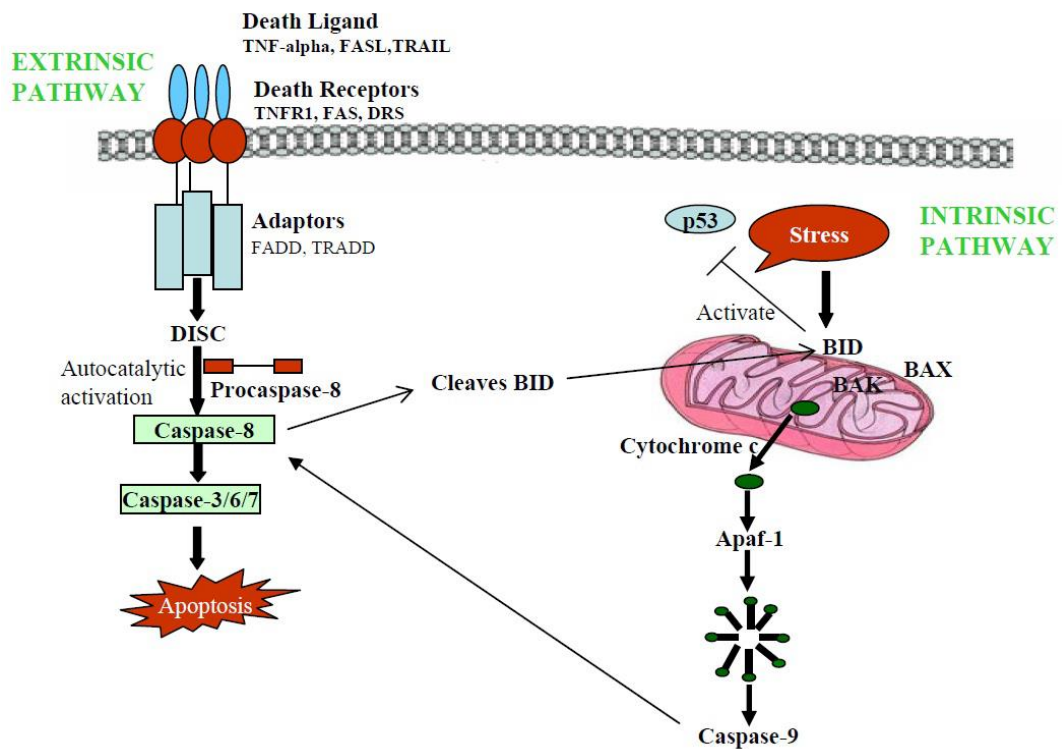
กลไกการเกิดอะพอพโทซิส โดย mitochondrial pathway

เมื่อโปรตีนในกลุ่ม Bcl-2 family ซึ่งเป็น proapoptotic ได้รับสัญญาณการเกิดอะพอพโทซิส จากสิ่งกระตุ้นต่างๆ แล้ว จะมีการกระตุ้นให้ไมโทคอนเดรีย ปล่อย cytochrome c และ proapoptotic protein อื่นๆ ออกมาทาง permeability transition pore (PT pore) จากนั้น cytochrome c จับกับ apoptotic protease-activating factor-1 (Apaf-1) แล้วเข้ารวมตัวกันกับ procaspase-9 ทำให้ procaspase-9 ตัดเอาส่วนของ prodomain ออกแล้วเปลี่ยนเป็น caspase-9 จากนั้น caspase-9 จะทำการกระตุ้น procaspase-3 ให้เปลี่ยนเป็น caspase-3 ซึ่ง caspase-3 นั้นเป็น caspase ตัวสุดท้ายที่จะถูกกระตุ้นเพื่อที่จะส่งสัญญาณให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ (Gupta, 2001; อรพินทร์ เชียงบัว)

กลไกการเกิดอะพอพโทซิส โดย death receptor pathway

เมื่อมีการกระตุ้นสัญญาณจาก death ligand ซึ่งจะจับกับ receptor บนเยื่อหุ้มเซลล์อย่างจำเพาะแล้ว จะทำให้ adaptor protein เข้ารวมตัวกับส่วน cytosolic part ของ receptor รวมทั้ง procaspase-8 กลายเป็น Death-Inducing Signaling Complex (DISC) ส่งผลให้ procaspase-8 เปลี่ยนเป็น caspase-8 ซึ่ง caspase-8 ที่เกิดขึ้นจะไปกระตุ้น caspase-3 เช่นเดียวกับกับ mitochondrial pathway และทำให้เซลล์เกิดการตายขึ้น นอกจากนี้ caspase-8 จะไปกระตุ้น caspase-3 แล้วยังพบว่าในเซลล์บางชนิด caspase-8 ยังไปกระตุ้นให้ BH₃-interacting domain death agonist (Bid) มีการตัดเอาส่วนของ prodomain ออก กลายเป็น tBid ซึ่ง tBid จะไปกระตุ้น

Bcl-2 homologous antagonist/killer (Bak) ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม Bcl-2 ทำให้มีการปล่อย cytochrome c ออกจากไมโทคอนเดรียได้ จึงทำให้เกิดการกระตุ้นผ่าน death receptor pathway สามารถเชื่อมต่อกับ mitochondrial pathway ได้ (Rao et al., 2004; อรพินทร์ เชียงปวี)



ภาพที่ 20 กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสแบบภายนอกและภายในไมโทคอนเดรีย (Rampal et al., 2012)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้สกุลหวาย

เกสรี่ กลิ่นสุคนธ์ และคณะ ทำการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP รวมถึงศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เอียสกุล ขาวสนาน บурณเจตน์และไฟร์เบิร์ด โดยสกัดด้วยเอทานอลจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 4 ชนิด โดยได้ปริมาณร้อยละผลผลิต ดังนี้ 3.047 2.758 3.008 และ 2.714 ตามลำดับ รวมทั้งศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดดอกกล้วยไม้ไฟร์เบิร์ดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (54.17 ± 2.48 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด) และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 194.41 ± 9.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ไฟร์เบิร์ด และ เอียสกุล มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (IC_{50} เท่ากับ 7.98 ± 0.32 และ 8.47 ± 0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และผลจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดดอกกล้วยไม้ขาวสนานมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 219.90 ± 2.90 มิลลิโมลต่อกรัมสารสกัดและสารสกัดดอกกล้วยไม้บูรณเจตน์และขาวสนาน มีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.36 ± 0.11 และ 24.13 ± 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ฐิติพันธ์ ฉิมสุข (2016) ศึกษาองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ ปริมาณฟีนอลิก การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษของเซลล์ MCF-7 และ NCI-H187 ต่อสารสกัดจากใบของเอื้องคำกิว (*D. signatum*) ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและสกัดด้วยวิธี sonication-maceration ที่เวลา 30 และ 45 นาที ผลการวิจัยพบว่า การสกัดด้วย sonication เป็นเวลา 30 นาทีให้ผลผลิตสูงสุดที่ 7.32% และจากการตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ที่ทำการสกัดด้วยทั้ง 3 วิธีพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีลักษณะคล้ายกัน ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต คูมาริน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลสเตอรอลและไกลโคไซด์ ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin - Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า การสกัดด้วยวิธี sonication เป็นเวลา 30 นาที แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 8.83 กรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมสารสกัดแห้ง ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการวิจัยพบว่า การสกัดด้วยวิธี sonication เป็นเวลา 30 นาที มีค่า IC_{50} เท่ากับ 97.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและวิธี sonication เป็นเวลา 45 นาที แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยกว่ากรดแอสคอร์บิก และการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ KB MCF-7 และ NCI-H187 โดยทดสอบด้วยวิธี MTT ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและสกัด

ด้วยวิธี sonication-maceration ที่เวลา 30 และ 45 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง MCF-7 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ >100 , 87.45 และ 94.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเซลล์ NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ >100 , 95.22 และ >100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ให้ผลน้อยกว่ายามาตรฐาน doxorubicin แต่สารสกัดทั้ง 3 วิธี ไม่พบกิจกรรมกับเซลล์ KB

ปิติ จันวรโชติและคณะ (2013) ที่ทำการศึกษากฤทธิ์การยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งของสารอินทรีย์ bibenzyls จากลำต้นเอื้องช้านาว จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากเอื้องช้านาวสามารถแยกสารในกลุ่ม bibenzyls ออกเป็น 4 ชนิด คือ chrysotobibenzyl, chrysotoxine, crepidatin และ moscatilin เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ H23 ด้วยวิธี 2,3-Bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) พบว่าค่า IC_{50} ของสารทั้ง 4 ชนิด คือ Chrysotobibenzyl เท่ากับ $252.14 \pm 12.21 \mu\text{M}$ Chrysotoxine เท่ากับ $198.38 \pm 9.28 \mu\text{M}$ Crepidatin เท่ากับ $157.77 \pm 11.21 \mu\text{M}$ และ Moscatilin เท่ากับ $33.41 \pm 5.36 \mu\text{M}$ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นความสามารถของสารประกอบทั้ง 4 ชนิดนี้ในการส่งเสริมกระบวนการตายของเซลล์แบบ anoikis และยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด

มุกิตา อนุวัฒน์ (2553) ศึกษาพฤกษเคมีของเอื้องเงิน (*D. draconis*) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ในสกุลหวายชนิดหนึ่ง ผลการศึกษาพบว่า สามารถแยกสารใหม่ในกลุ่มฟิแนนควิโนนได้ 1 ชนิด คือ 5-methoxy-7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthrenequinone และสารพฤกษเคมีที่เคยมีรายงานการพบมาแล้ว 5 ชนิด ได้แก่ hircinol gigantol batatasin-III 4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,5,7-triol และ tristin โดยการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้นี้ อาศัยเทคนิคทางสเปคโทสโกปี เช่น MS, IR, UV และ NMR และได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้ พบว่า 4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,5,7-triol มีฤทธิ์ในการดักจับสารอนุมูลอิสระ DPPH ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox

รัตนาภรณ์ ชูหนอง และคณะ (2019) ทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของอนุพันธ์ bibenzyl, flavonoids และ phenanthrene ในตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย 33 ชนิด (*Dendrobium spp.*) ที่ทำการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลจากชิ้นส่วนลำต้นของกล้วยไม้ โดยผลการทดลองแสดงความสัมพันธ์ของสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ต่อกิจกรรมกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assays ซึ่งเป็นวิธีการพื้นฐานสำหรับคัดกรองฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างพืชซึ่งรายงานเป็นค่า IC_{50} และ มิลลิกรัม Trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่าสารสกัดทั้ง 33 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในทั้ง 2 วิธีทดสอบ DPPH และ FRAP assays ผลลัพธ์จะแสดงใน

ตารางที่ 2 ตามลำดับ จากทำการศึกษา อนุพันธ์ Bibenzyl (moscatilin gigantol crepidatin และ chrysotoxin) flavonoids (eriodictyol และ homoeriodictyol) และ phenanthrene lusianthridin ที่แยกด้วยวิธี HPLC ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารประกอบสำคัญในลำต้นของ *Dendrobium spp.* โดยพบว่ากล้วยไม้สกุลต่าง ๆ มีปริมาณและลักษณะทางเคมีที่แตกต่างกัน ผลการวิจัยพบว่า *D. fimbriatum* มีปริมาณอนุพันธ์ bibenzyl สูงสุด (7.36 ± 0.50 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และ *D. ellipsophyllum* มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (1.93 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และ พบปริมาณ phenanthrene lusianthridin สูงสุดใน *D. Venustum* (1.29 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง)

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assays ของสารสกัดทั้ง 33 ชนิด

Name	IC ₅₀ of DPPH assay	FRAP value (mg Trolox/g dry wt.)
<i>D. albosanguineum</i>	0.93 ± 0.06	10.71 ± 0.25
<i>D. anosmum</i>	5.84 ± 0.27	3.15 ± 0.08
<i>D. bellatulum</i>	2.85 ± 0.12	11.80 ± 0.38
<i>D. capilipes</i>	1.78 ± 0.11	11.51 ± 0.68
<i>D. christyanum</i>	2.59 ± 0.20	7.75 ± 0.40
<i>D. chrysotoxum</i>	3.34 ± 0.27	6.92 ± 0.39
<i>D. cretaceum</i>	3.34 ± 0.07	7.66 ± 0.75
<i>D. crumenatum</i>	3.95 ± 0.14	4.05 ± 0.26
<i>D. delacourii</i>	1.65 ± 0.17	10.05 ± 0.52
<i>D. draconis</i>	1.82 ± 0.09	5.86 ± 0.22
<i>D. ellipsophyllum</i>	0.37 ± 0.03	25.96 ± 0.84
<i>D. falconeri</i>	1.19 ± 0.18	11.15 ± 0.74
<i>D. fimbriatum</i>	0.25 ± 0.01	53.02 ± 1.58
<i>D. findlayanum</i>	1.28 ± 0.07	10.70 ± 0.95
<i>D. formosum</i>	4.16 ± 0.02	5.16 ± 0.31
<i>D. friedericksianum</i>	0.78 ± 0.00	19.62 ± 1.07
<i>D. infundibulum</i>	2.39 ± 0.02	7.56 ± 0.73
<i>D. kontumense</i>	2.68 ± 0.23	10.16 ± 0.42

Name	IC ₅₀ of DPPH assay	FRAP value (mg Trolox/g dry wt.)
<i>D. lindleyi</i>	0.53 ± 0.49	9.06 ± 0.29
<i>D. moschatum</i>	9.20 ± 0.10	2.66 ± 0.20
<i>D. ochreatum</i>	0.83 ± 0.06	10.94 ± 0.81
<i>D. pachyglossum</i>	1.10 ± 0.12	12.14 ± 0.56
<i>D. palpebrae</i>	0.88 ± 0.01	16.01 ± 0.77
<i>D. parishii</i>	0.36 ± 0.01	14.82 ± 0.25
<i>D. primulinum</i>	0.88 ± 0.02	23.39 ± 1.11
<i>D. pulchellum</i>	4.92 ± 0.06	6.01 ± 0.25
<i>D. secundum</i>	4.46 ± 0.23	5.51 ± 0.35
<i>D. secundum</i> var. <i>alba</i>	3.15 ± 0.10	5.91 ± 0.25
<i>D. signatum</i>	1.16 ± 0.23	9.55 ± 0.29
<i>D. soabrilique</i>	2.59 ± 0.09	11.17 ± 0.62
<i>D. thysiflorum</i>	2.26 ± 0.04	8.25 ± 0.73
<i>D. tortile</i>	0.95 ± 0.02	16.34 ± 0.62
<i>D. venustum</i>	4.25 ± 0.02	26.02 ± 1.14

อาภาพร มิตรภาพและคณะ (2016) ทำการศึกษาสารสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ผลการศึกษาพบอนุพันธ์ Bibenzyl phenanthrene ชนิดใหม่จากเอื้องคำกิว คือ 3,4-dihydroxy-3,4'-dimethoxybibenzyl, dendrocandin B, dendrocandin I และ dendrofalconerol A จากนั้นนำตัวอย่างที่ระบุได้ทั้งหมดมาทำการทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธี MTT ในตัวอย่าง เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MDAMB-231) พบว่าตัวอย่างที่ระบุได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า IC₅₀ ต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบที่แยกได้จากเอื้องคำกั่ว

Compound	IC ₅₀ (μM) ± SD	
	MDA-231	HepG2
Dendroignatol	25.2 ± 1.4	51.3 ± 4.7
3,4-Dihydroxy- 3,4'-dimethoxybibenzyl	80.5 ± 2.7	137.8 ± 10.9
Dendrocandin B	25.9 ± 1.2	49.6 ± 2.5
Dendrocandin I	42.5 ± 0.8	89.7 ± 6.7
Dendrofalconerol A	30.3 ± 1.9	50.3 ± 3.3
Doxorubicin	0.052 ± 0.002	0.086 ± 0.003

Paudel *et al.* (2019) การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์เนื้องอกของสมอง glioblastoma (U251) ของสารสกัดจากลำต้นเอื้องสายน้ำเขียว โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม อะซิโตน เอทานอลและเมทานอล โดยมีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 45.34, 37.18, 61.27, 78.11 และ 28.89 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ตามลำดับ โดยศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเอทานอลและอะซิโตนมีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (94.69 ± 0.10% และ 93.41 ± 0.86% ตามลำดับ) โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 73.90 g / mL และ 99.44 g / mL ซึ่งพบว่ามีความใกล้เคียงวิตามินซีซึ่งเป็นสารควบคุมและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT พบว่าที่ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด โดยสารสกัดจากเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์ glioblastoma (U251) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า ค่า IC₅₀ เท่ากับ 194.14 ± 4.94 และ 301.99 ± 2.00 μg/ml ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษของเซลล์จากสารสกัดดังกล่าว อาจเกิดจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS ได้แก่ tetracosane, triacontane, stigmasterol และอนุพันธ์ฟีนอล เช่น 2-methoxy-4-vinylphenol, 2-methoxy-5-(1-propenyl)-phenol, p-mesyloxyphenol และ 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol

Song, *et al.* (2012) ศึกษาฤทธิ์ของ denbinobin จากเอื้องแก้วกั้ว (*D. nobile*) มีศักยภาพในการยับยั้งและเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ SNU-484 ในมะเร็งกระเพาะอาหารของมนุษย์ การศึกษานี้แสดงให้เห็นเป็นครั้งแรกว่า denbinobin มีความสามารถในการยับยั้งฟิโนไทป์ของเซลล์ SNU-484 โดยศึกษาความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT พบว่าเมื่อเติม denbinobin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในเซลล์ตับมะเร็ง (SK-Hep-1) เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (SNU-484) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.4, 7.9 และ 22.3 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ เนื่องจากการทดสอบในเซลล์ SNU-484 นั้นมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดในกลุ่มของเซลล์มะเร็งที่ทำการทดสอบ ทางผู้วิจัยจึงทำการตรวจสอบผลของ denbinobin ต่อความสามารถในการรุกรานของเซลล์ SNU-484 พบว่า denbinobin มีความสามารถทำให้เอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMP)-2 และ MMP-9 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง MMPs มีบทบาทต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง และการแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆของร่างกาย นอกจากนี้เรายังแสดงหลักฐานว่า denbinobin ทำให้เกิด apoptosis ผ่านการควบคุม Bcl-2 และการควบคุมของ Bax การค้นพบครั้งนี้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ โดย denbinobin มีความสามารถในการป้องกันหรือบรรเทา มะเร็งกระเพาะอาหารระยะลุกลามได้

Zhou, *et al.* (2016) ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ Phenanthrene และอนุพันธ์ของ Bibenzyl จากลำต้นของเอื้องแก้วกั้ว (*D. nobile*) ที่สกัดด้วย 70% เอทานอล พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ได้แก่ spirodiketones, denobilone, อนุพันธ์ phenanthrene ชนิดใหม่ 3 ชนิด คือ denobilones B, denobilones C และ 7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthrenedione รวมทั้ง biphenanthrenes ชนิดใหม่ 3 ชนิด คือ denthysinol A, denthysinol B, denthysinol C รวมถึงอนุพันธ์ของ phenanthrene ที่รู้จักอีก 11 ชนิด อนุพันธ์ bibenzyl ที่รู้จัก 5 ชนิด และ biphenanthrenes ที่รู้จักกัน 4 ชนิด และทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HeLa MCF-7 และ A549 โดยวิธี MTT พบว่าสารที่พบทุกชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ทั้ง 3 ชนิด แต่ denobilone A มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HeLa, MCF-7 และ A549 ได้ดีที่สุดใน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.8, 9.4 และ 9.9 ไมโครโมล ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator) บริษัท Buchi รุ่น R-205
- 1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง บริษัท Sartorius รุ่น BSA 224S-CW
- 1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Mettler Toledo รุ่น PL602-L)
- 1.4 เครื่อง UV-Vis spectrophotometer บริษัท Drawell รุ่น DU-8600RN
- 1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) บริษัท Memmert รุ่น WNB 2221
- 1.6 เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) รุ่น MX-S
- 1.7 เครื่องดูดจ่ายสารละลายปิเปต (Micropipette) บริษัท Gilson
- 1.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในไมโครเพลต (Microplate Reader) บริษัท Bio Rad รุ่น Model 680 microplate reader
- 1.9 เครื่อง Freeze Dry บริษัท Labogene รุ่น Scancvac Coolsafe
- 1.10 เครื่องวัดพีเอช (pH-meter) บริษัท Drawell
- 1.11 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) บริษัท Olympus รุ่น UM 500
- 1.12 กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (Fluorescence microscope) บริษัท Olympus รุ่น BX51
- 1.13 เครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) บริษัท HP
- 1.14 เครื่องเขย่า (Shaker)
- 1.15 จานหลุม (96-well plate)
- 1.16 Cell Culture Chamber Slide 8 well บริษัท SPL
- 1.17 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip)
- 1.18 บีกเกอร์ (Beaker)
- 1.19 กระจกตวง (Graduates Cylinder)
- 1.20 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)
- 1.21 หลอดทดลอง (Test Tube)
- 1.22 ขวดก้นกลม (Round bottom flask)

2. สารเคมี

- 2.1 น้ำกลั่น (Distilled water)
- 2.2 เอทานอล (Ethanol, C₂H₅OH)
- 2.3 Folin Cioculciu's reagent บริษัท Merck
- 2.4 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na₂CO₃) บริษัท Merck
- 2.5 DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.6 L-ascorbic acid บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.7 α -Tocopherol บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.8 อาหาร DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) บริษัท Thermo Fisher
- 2.9 Trypsin-EDTA (0.5%) บริษัท Thermo Fisher
- 2.10 Fetal bovine serum บริษัท Thermo Fisher
- 2.11 MEM Non-Essential Amino Acids Solution บริษัท Thermo Fisher
- 2.12 Penicillin-Streptomycin บริษัท Thermo Fisher
- 2.13 MTT (3, [4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.14 ไดเมทิลซัลไฟด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.15 ABTS (2,2'-Azino-bis (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.16 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate, K₂S₂O₈) บริษัท Ajax
- 2.17 โซเดียมอะซิเตต (Sodium Acetate, CH₃COONa) บริษัท Qrec
- 2.18 กรดแกลเซียลแอซิดิก (Glacial acetic acid, CH₃COOH) บริษัท Merck
- 2.19 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) บริษัท Merck
- 2.20 TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) บริษัท Merck
- 2.21 เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride, FeCl₃) บริษัท Ajax
- 2.22 Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.23 acridine orange (AO) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.24 propidium iodide (PI) บริษัท Sigma-Aldrich
- 2.25 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) บริษัท Merck
- 2.26 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride, KCl) บริษัท Merck

- 2.27 sodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) บริษัท Merck
 2.28 Monopotassium phosphate (KH_2PO_4) บริษัท Merck
 2.29 กรดแกลลิก (Gallic acid) บริษัท Merck

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างพืช

กล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่ม *Dendrobium* ที่ใช้ในการทดลองได้รับมาจากโครงการคืนชีวิตกล้วยไม้ไทยสู่ไพรพฤกษ์ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ แสดงในตารางที่ 4 โดยเป็นกล้วยไม้ที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและดูแลรักษาในโรงเรือนกล้วยไม้ ทั้งนี้ทำการรวบรวมส่วนลำต้นจากนั้นทำการล้างทำความสะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง และทำการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วบดให้ละเอียดเป็นผง จากนั้นทำการเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมไปใช้ในขั้นตอนการสกัดต่อไป

ตารางที่ 4 กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium spp.*) ที่ใช้ในการทดลอง

สายพันธุ์	ชื่ออื่น	ชื่อวิทยาศาสตร์	อายุ (ปี)
เอื้องสายหลวง	เอื้องสาย	<i>D. anosmum</i> Lindl.	4
เอื้องสายใหม่	เอื้องล่องแล่ง เอื้องวงช้าง เอื้องสายไม้ เอื้องย้อยไม้ มอกคำเครือ	<i>D. aphyllum</i> (Roxb.) Fisch.	2
เอื้องสายน้ำนม	เอื้องสายดอกขาว	<i>D. cretaceum</i> Lindl.	6
หวายตะมอย	แส้พระอินทร์ เอื้องมะลิ นกกระยาง บวบกลางหา	<i>D. crumenatum</i> Sw.	6
เอื้องสายสามสี	เอื้องนางพื่อน เอื้องนิ้วมือ พระนารายณ์	<i>D. crystallinum</i> Rchb.f.	4
เอื้องแวมบุรธา	เอื้องค่าน้อย เอื้องคำฝอย	<i>D. fimbriatum</i> Hook.	6
พวงหยก	หวายปม เอื้องซ้อ	<i>D. findlayanum</i> Parish & Rchb.f.	2
หวายเหลือง	หวายเหลืองนกขมิ้น	<i>D. friedericksianum</i> Rchb.f.	5
จันทบูร			
เอื้องมัจฉา	เอื้องมัจฉาณู	<i>D. griffithianum</i> Lindl.	4
เหลือง			

สายพันธุ์	ชื่ออื่น	ชื่อวิทยาศาสตร์	อายุ (ปี)
เอื้องผึ้ง	โปกดอนแหล่	<i>D. lindleyi</i> Steud.	4
เอื้องจำปา	เอื้องม่อนไข่ เหลืองนก ขมิ้น	<i>D. moschatum</i> (Buch.-Ham.) Sw.	4
เอื้องแก้วกวี	โนบิเล่	<i>D. nobile</i> Lindl.	5
เอื้องมัจฉา	เอื้องมัจฉา	<i>D. palpebrae</i> Lindl.	6
เอื้องสายน้ำผึ้ง	เอื้องสายประสาธ เอื้อง สายเหลือง เอื้องสายน้ำ เขียว	<i>D. primulinum</i> Lindl.	3
เอื้องช้างน้ำ	เอื้องคำตาควาย สบเป็ด เอื้องตาควาย	<i>D. pulchellum</i> Roxb. ex Lindl.	9
เอื้องม่อนไข่	ม่อนไข่ใบมน เอื้องม่อนไข่ ห่าน กับแกะ	<i>D. thyriflorum</i> Rchb.f.	3

การสกัดสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่ม *Dendrobium*

นำส่วนของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย กลุ่ม *Dendrobium* ทั้ง 16 ชนิด ที่ได้ทำการบดแล้ว มาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 60% เอทานอล (Zhang et al., 2007) การสกัดทำโดยใส่ตัวอย่างลงในขวดลูกผสมฟู่ ตัวอย่างละ 5 กรัม เติมตัวทำละลาย 60% เอทานอล 50 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 w/v) ลงให้ท่วมตัวอย่าง จากนั้นทำการแช่ยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบ 72 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) นำสารสกัดที่ได้มาทำการระเหยตัวทำละลายเอทานอล ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวทำละลายเอทานอลที่ใช้หมดไป จะได้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล (ethanolic crude extract) จากนั้นทำการนำน้ำออกโดยวิธีการทำแห้ง (dehydration) ด้วยเครื่อง Freeze dryer จากนั้นเก็บตัวอย่างที่แห้งแล้วที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric (กันญรัตน์ ภิรมย์มัน, 2550) ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือสารประกอบฟีนอลิกรวม จะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย Phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิ

กรวมเกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งให้สีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mg/ml) เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย gallic acid หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบในน้ำปริมาตร 125 ไมโครลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลาย Folin Ciocalteu's reagent ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติม 7% sodium carbonate ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) โดยใช้น้ำเป็น blank และหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract)

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging (Paudel et al., 2019) หลักการคือ สารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) โดยเตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 1.5 มิลลิลิตรและเติมสาร DPPH ที่ความเข้มข้น 0.25 mM ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS Spectrophotometer) จากนั้นคำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % radical scavenging activity มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 โดยใช้ L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay (Tachalerdmanee et al., 2016) หลักการคือการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระ ABTS โดยเป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ซึ่งใช้สารละลาย คือ 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรในสารละลายในน้ำ สารละลายนี้มีสีเขียว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ ความยาวคลื่น 734 nm เนื่องจากสีของ $ABTS^{+}$ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง $ABTS^{+}$ แล้วนำมาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ซึ่งจะทำให้สีจางลงและตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้

การเตรียม ABTS radical cation จะต้องทำการเตรียม ABTS radical cation stock solution โดยเตรียม ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยทำการชั่ง ABTS 0.0360 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และเตรียมโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ โดยการชั่งโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.3784 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ จำนวน 176 ไมโครลิตร ในขวดสีชา บ่มในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 80 มิลลิลิตร (ABTS radical cation stock solution : น้ำกลั่น) และวัดค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.700 ± 0.020 ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการเตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำสารละลายของสารสกัดแต่ละชนิดจำนวน 500 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาทีในที่มืด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS Spectrophotometer) จากนั้นคำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % radical scavenging activity มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 โดยใช้ L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (F.F.Benzie and J.J.Strainb, 1996) หลักการหลักการของวิธีนี้จะวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสถานะที่เป็นกรด โดย Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน แล้วเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} จากนั้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ TPTZ เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน โดยดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe^{2+} และ TPTZ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยทำการผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์ Acetate buffer pH 3.6, สารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ ของ TPTZ และ 20 มิลลิโมลาร์ ของ Ferric chloride ในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v/v) เก็บในขวดสีชา แล้วใส่น้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมตัวอย่างสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมใส่ลงในหลอดทดลอง 0.15 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย FRAP 2.85 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้น้ำเป็น blank และคำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP Value) ของสารตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐาน Trolox ในหน่วยมิลลิกรัมของ Trolox ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Trolox

equivalent antioxidant capacity, $\mu\text{g TEAC/g}$ dried extract) โดยใช้ L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)

เซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ของคน (ATCC, USA) ถูกเพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีอาหารชนิด ดีเอ็มอีเอ็ม (DMEM, dulbecco's modified eagle medium) ที่มีส่วนผสมของซีรัมลูกวัว 5% (5% of fetal bovine serum) และบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 5% และเซลล์จะต้องถูก subculture ทุก ๆ สัปดาห์เพื่อให้ได้เซลล์ที่มีคุณภาพพร้อมใช้งานและปลอดภัยจากการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

เนื่องจากเซลล์ HT-29 ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นเซลล์ที่มีคุณสมบัติในการเกาะพื้นผิว (adherent cells) ในขั้นตอนการ subculture จึงต้องทำการย่อยเซลล์เพื่อให้เซลล์หลุดออกจากพื้นผิวของภาชนะที่ใช้เลี้ยงเซลล์ด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) จากนั้นจึงทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและคำนวณหาจำนวนเซลล์ทั้งหมด จึงนำเซลล์ดังกล่าวในจำนวนที่ต้องการไปเพาะเลี้ยงต่อไป โดยขั้นตอนในการย่อยเซลล์ มีดังนี้

- 1) ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจากภาชนะที่ใช้เลี้ยงเซลล์ (flask) ให้หมด ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) จำนวน 5 มิลลิลิตร เพื่อไม่ให้มีอาหารเลี้ยงเซลล์เคลือบอยู่ เพราะโปรตีนจากอาหารเลี้ยงเซลล์จะรบกวนการทำงานของสารละลายทริปซิน (Trypsin/EDTA) จากนั้นจึงดูดสารละลาย PBS ที่ทิ้ง

- 2) เติมสารละลายทริปซิน (Trypsin/EDTA) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในภาชนะเพื่อทำการย่อยเซลล์ให้หลุดออกจากพื้นผิวของภาชนะ รอจนเซลล์หลุดออกจนหมด

- 3) เมื่อเซลล์หลุดหมด เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไป 4 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ดูดพ่นเบาๆ ให้เซลล์หลุดจากพื้นขวดและกระจายออกจากกัน จากนั้นดูดเซลล์ทั้งหมดใส่ในหลอดปั่น (Centrifuge Tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 2,800 rpm เป็นเวลา 5 นาที

- 4) ดูดน้ำส่วนบนทิ้งไป จะได้กลุ่มเซลล์ที่เกาะอยู่ที่ก้นหลอดปั่น ขั้นตอนการนับจำนวนเซลล์ แบ่งเซลล์ที่ได้จากการย่อยเซลล์ไปนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemocytometer คำนวณปริมาณเซลล์ที่ได้ เซลล์ถูกนำไปเพาะเลี้ยงในภาชนะใหม่ต่อไป

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Mosmann, 1983) ของสารสกัดจากกล้วยไม้กลุ่ม *Dendrobium* โดยวิธี MTT assay ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ HT-29 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งลำไส้ในมนุษย์ ในอาหารเพาะเลี้ยงชนิด DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ให้มีปริมาณมากพอแล้ว ทำการย่อยเซลล์ที่เลี้ยงไว้ให้เป็นเซลล์เดี่ยวด้วย trypsin-EDTA จากนั้นนำเซลล์ที่ได้จำนวน 5×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาเลี้ยงใน 96-well culture plate ในอาหาร DMEM ที่มี 10% fetal bovine serum จำนวน 100 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยมีกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มที่ไม่ใส่เซลล์ (blank) นำไปบ่มในตู้บ่ม (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมสารละลายของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และใส่สารละลายดังกล่าวในปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุมและนำไปเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง แล้วทำการเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ไมโครลิตร ทุกหลุม แล้วนำไปบ่มที่ 5% CO_2 incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเติมสารละลาย DMSO ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อใช้ละลายผลึก formazan สีม่วงให้อยู่ในรูปสารละลาย ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 (% inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [1 - ((A_{\text{sample}} - A_{\text{color}}) / A_{\text{control}})] \times 100$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ได้ทำการเติมเซลล์ HT-29

A_{color} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเติมเซลล์ HT-29

โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเซลล์จะเท่ากับค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่ใส่สารทดสอบต่อค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่ควบคุม แล้วนำค่า % inhibition มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % inhibition เท่ากับร้อยละ 50

การตรวจสอบกลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โดยการย้อมด้วย acridine orange (AO) ร่วมกับ propidium iodide (PI)

จากการทดสอบข้างต้นทำการคัดเลือกสารสกัดกล้วยไม้ที่ให้ผลการทดสอบดีที่สุดที่ได้จากการทดสอบปริมาณฟีนอลิก ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) 3 สายพันธุ์ คือ หวายตะมอย หวายเหลืองจันทบุรี และ เอื้องมัจฉาเหลือง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ HT-29 ในอาหารเพาะเลี้ยง DMEM ให้ได้จำนวน 5×10^5 เซลล์ ใน Cell Culture Chamber Slide เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้เพาะเลี้ยงที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการเติมสารสกัดแล้วทำการบ่มเซลล์กับสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้เพาะเลี้ยงที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วย PBS จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นทำการย้ายเซลล์ด้วยสารละลาย PBS ที่มี AO และ PI อัตราส่วน 1:1 (v/v) ความเข้มข้นชนิดละ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทสารละลายทิ้งทำการส่องภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนซ์และบันทึกผล (พรพิมล จงรักวิทย์ และ กันทิมาณี ประเดิมวงศ์, 2554)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดกล้วยไม้ที่ผ่านการคัดเลือกที่ดีที่สุดโดยการทดสอบข้างต้น 3 สายพันธุ์ คือ หวายตะมอย หวายเหลืองจันทบูร และเอื้องมัจฉาเหลือง โดยดัดแปลงวิธีการจาก Jin et al. (2016)

โดยใช้ gas chromatography mass spectrometer (Agilent technology, รุ่น 19091S-4331) ที่สกัดได้โดยใช้ capillary คอลัมน์ชนิด HP-5MSI (30 m \times 250 μ m ID \times 0.25 μ m film thickness) (Agilent technology, รุ่น HP-5MSI) ฉีดตัวอย่างแบบ split mode ปริมาตร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิ injector เท่ากับ 250°C สภาวะของคอลัมน์ อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50°C คงไว้ 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 10°C ต่อนาที จนถึง 220°C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 5°C ต่อนาที จนถึง 250°C คงไว้ 5 นาที แล้วทำการเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 10°C ต่อนาที จนถึง 280°C ที่ภาวะเครื่อง 70eV โดยบ่งชี้คุณลักษณะของสารเทียบกับ Wiley 275 และ NIST library ที่ 70 % quality match คำนวณ retention time index (RI) เทียบกับสารอัลเคนมาตรฐาน (C₈-C₂₀ alkanes) และคำนวณ % relative peak area

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยการจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial และวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทุกด้านทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 26.




บทที่ 4






ผลการทดลองและอภิปราย







การสกัดสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium spp.*)

จากการสกัดส่วนลำต้นของกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด คือ เอื้องสายหลวง เอื้องสายไหม เอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องสายสามสี เอื้องแวมยุรา พวงหยก หวายเหลืองจันทบูร เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องผึ้ง เอื้องจำปา เอื้องเกือกัว เอื้องมัจฉาณู เอื้องสายน้ำผึ้ง เอื้องชางิ้วและเอื้องมอไน้ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย 60% เอทานอล และเมื่อทำการระเหยตัวทำละลายเอทานอลด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบลดความดัน จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze Dry จะได้เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) ตารางที่ 5 แสดงร้อยละผลผลิต (%Yield) และลักษณะต่าง ๆ ทางกายภาพ

ตารางที่ 5 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบ (means \pm SD, n=3)

สารสกัดของ ลำต้นกล้วยไม้	ร้อยละผลผลิต (%Yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
เอื้องสายหลวง	14.93 \pm 0.63	
เอื้องสายไหม	15.61 \pm 1.69	
เอื้องสายน้ำนม	12.86 \pm 1.61	

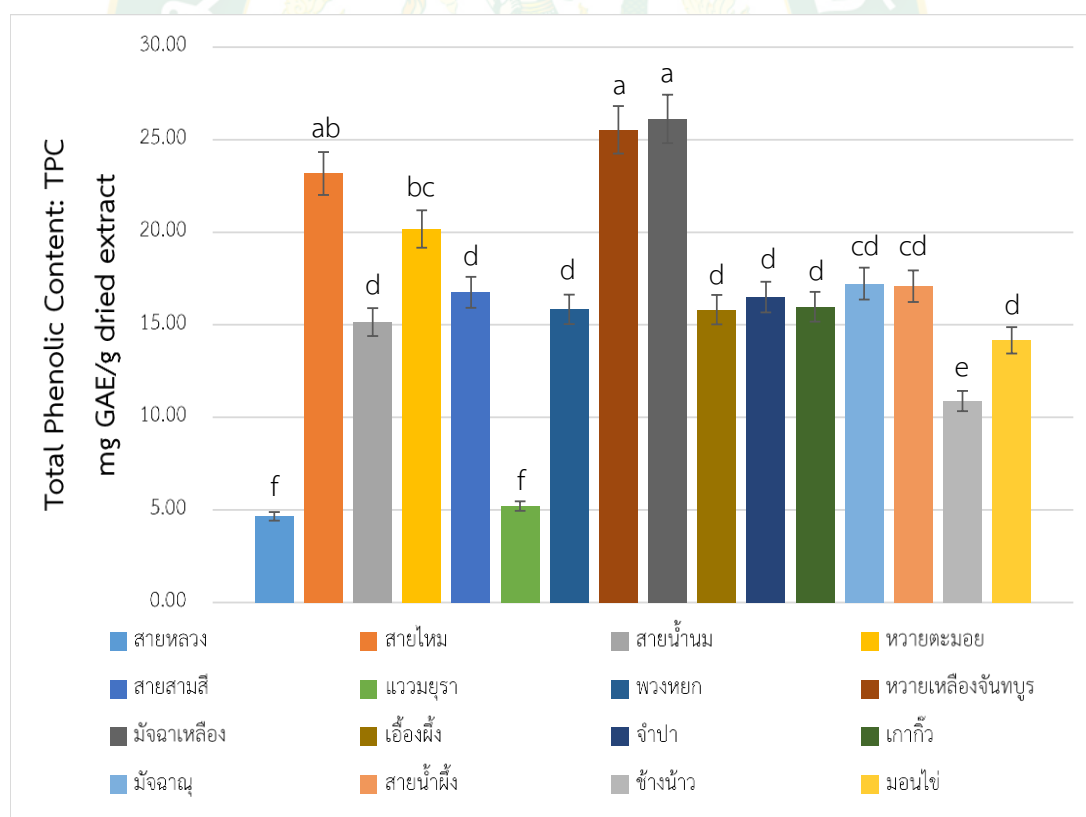
สารสกัดของ ลำต้นกล้วยไม้	ร้อยละผลผลิต (%Yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
หวายตะมอย	8.99 ± 0.96	
เอื้องสายสามสี	13.12 ± 1.02	
เอื้องแวมยุรา	29.24 ± 2.03	
พวงหยก	14.13 ± 1.46	
หวายเหลืองจันทบูร	12.43 ± 1.40	
เอื้องมัจฉาเหลือง	7.78 ± 1.01	
เอื้องผึ้ง	12.39 ± 0.65	

สารสกัดของ ลำต้นกล้วยไม้	ร้อยละผลผลิต (%Yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
เอื้องจำปา	17.50 ± 0.88	
เอื้องเกือกัว	12.38 ± 2.64	
เอื้องมัจฉาณุ	14.29 ± 1.01	
เอื้องสายน้ำผึ้ง	11.36 ± 1.91	
เอื้องซ่างนาว	12.66 ± 2.79	
เอื้องมอนไซ่	12.51 ± 1.71	

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมจากสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยใช้วิธีของ กัญญารัตน์ ภิรมย์มัน (2550) ซึ่งใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ซึ่งคำนวณได้จาก linear regression equation ของกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 6.4301x + 0.1276$) โดยสามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 สายพันธุ์ คือ เอื้องสายหลวง เอื้องสายไหม เอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องสายสามสี เอื้องแวมยุรา พวงหยก หวายเหลืองจินฑูร เอื้องมัจฉาเหลือง เอื้องผึ้ง เอื้องจำปา เอื้องแก้วแก้ว เอื้องมัจฉาณู เอื้องสายน้ำผึ้ง เอื้องข้างน้ำวและ เอื้องมอนไซ์ ได้ผลดังภาพที่ 21 โดยแสดงปริมาณสารฟีนอลรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (GAE) ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/ g extract)



ภาพที่ 21 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด (means \pm SD, n=3)

จากภาพที่ 21 แสดงผลการเปรียบเทียบผลของปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบทั้ง 16 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ยแตกต่างกันโดยเมื่อทำการจัดกลุ่มแล้วพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นเอื้องมัจฉาเหลืองและหวายเหลืองจันทบูรให้ค่าเฉลี่ยปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดอื่น โดยมีค่าเท่ากับ 26.12 ± 4.14 mgGAE/g extract และ 25.53 ± 1.77 mgGAE/g extract ตามลำดับ รองลงมาเอื้องสายไหม (23.17 ± 1.84 mgGAE/g extract) หวายตะมอย (20.18 ± 1.13 mgGAE/g extract) เอื้องมัจฉา (17.22 ± 2.05 mgGAE/g extract) เอื้องสายน้ำผึ้ง (17.08 ± 1.30 mgGAE/g extract) เอื้องสายสามสี (16.75 ± 2.63 mgGAE/g extract) เอื้องจำปา (16.50 ± 1.30 mgGAE/g extract) เอื้องแก้วกวี (15.98 ± 2.38 mgGAE/g extract) พวงหยก (15.84 ± 0.93 mgGAE/g extract) เอื้องผึ้ง (15.82 ± 1.05 mgGAE/g extract) เอื้องสายน้ำนม (15.15 ± 1.09 mgGAE/g extract) เอื้องมอนไซ (14.16 ± 0.97 mgGAE/g extract) เอื้องช้างน้ำ (10.88 ± 0.59 mgGAE/g extract) เอื้องแวมยุรา (5.21 ± 2.28 mgGAE/g extract) และเอื้องสายหลวง (4.66 ± 0.37 mgGAE/g extract) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดของเอื้องแก้วกวีซึ่งมีรายงานการพบสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต คูมาริน แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ สเตอรอล และ ไกลโคไซด์ รวมถึงมีรายงานการพบปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดจากเอทานอลของเอื้องแก้วกวีโดยพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 5.52 ± 0.28 กรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมสารสกัด (Chimsook, 2016) ซึ่งให้ปริมาณมากกว่าสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด ที่ทำการศึกษา และสอดคล้องกับการศึกษาในตัวอย่างของเอื้องแก้วกวีซึ่งมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่ม *Dendrobium* โดยมีรายงานการพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารกลุ่ม แอลคาลอยด์ bibenzyls, phenanthrenes, fluorenones, sesquiterpenoids และฟลาโวนอยด์ รวมถึงมีรายงานการพบปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนลำต้นและใบของเอื้องแก้วกวีพบปริมาณโพลีฟีนอล ปริมาณมากซึ่งสูงอย่างมีนัยสำคัญ (Xu et al., 2013) การสกัดด้วย 60% เอทานอลให้ปริมาณฟีนอลิกสูงเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความเป็นขี้ จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีสภาพขี้ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขี้สูงในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสามารถละลายได้ดีในเอทานอล และละลายในน้ำได้เล็กน้อย ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการศึกษาคุณสมบัติ

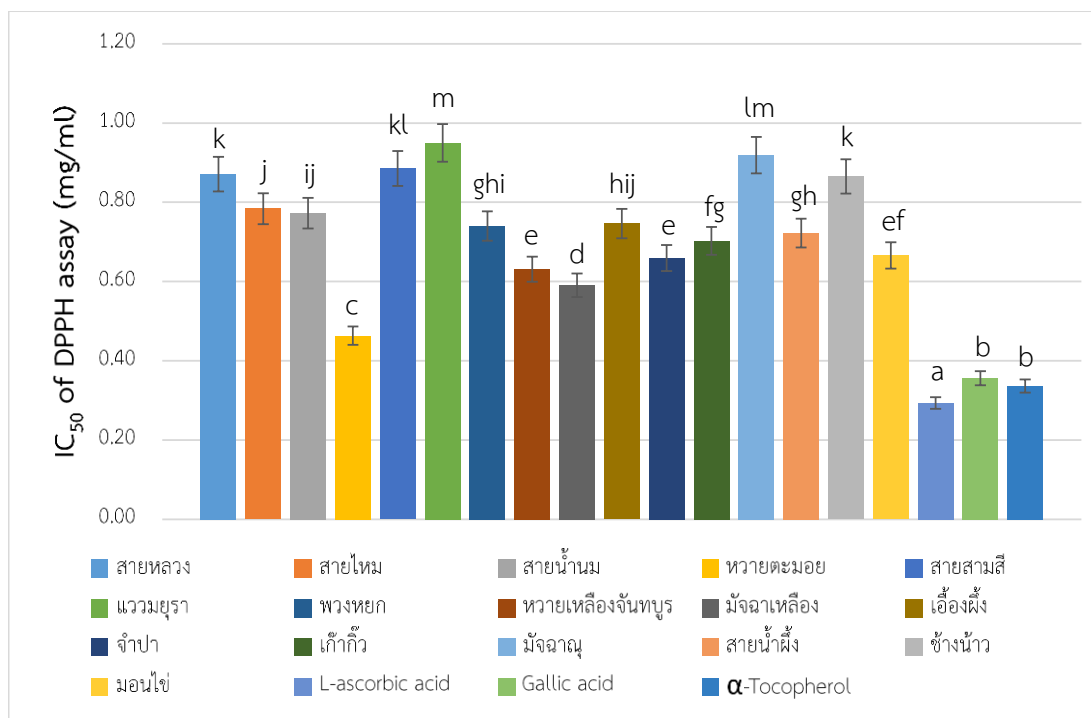
ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด (เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ, 2559) โดยผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกกล้วยไม้สกุลหวายที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด และในงานวิจัย (Zhou et al., 2016) ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้นของเอื้องแก้ว (D. nobile) โดยทำการสกัดด้วย 70% เอทานอล ในการทดลองพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มต่าง ทั้ง Phenanthrene และอนุพันธ์ของ Bibenzyl ซึ่งมีอนุพันธ์ของฟีนอลเป็นองค์ประกอบ จะเห็นว่าการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เพราะต่างก็เป็นสารอินทรีย์เหมือนกันที่เกิดการละลายกันตามหลักการละลายกันได้ (like dissolves like) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ เมทานอล เอทานอล โดยเป็นสารที่มีความปลอดภัยกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นนอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังสามารถละลายในน้ำได้

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH assay โดยใช้วิธีของ Paudel et. al. (2017) โดยรายงานผลเป็นค่า IC₅₀ หมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยพิจารณาจากค่าที่น้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC₅₀) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.01) โดยสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้ทุกชนิดมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 การกำจัดอนุมูล DPPH (IC₅₀) ของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด (means ± SD, n=3)

โดยพบว่าฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้มีความสอดคล้องไปทางเดียวกันคือ ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH เพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบทั้ง 16 ชนิด มีค่า IC₅₀ เฉลี่ยแตกต่างกัน เมื่อทำการจัดกลุ่มแล้วพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอย ให้ค่า IC₅₀ เฉลี่ยสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดอื่น โดยสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.46 ± 0.013 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ เอื้องมัจฉาเหลือง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.59 ± 0.019 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, หวายเหลืองจันทบูร ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.63 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องจำปา ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.66 ± 0.016 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมอนไซ ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.67 ± 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องแก้ว ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.70 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำผึ้ง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.72 ± 0.034 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, พวงหยก ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.74 ± 0.010 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องผึ้ง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.75 ± 0.019 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำนม ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.77 ± 0.008 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายไหม ค่า

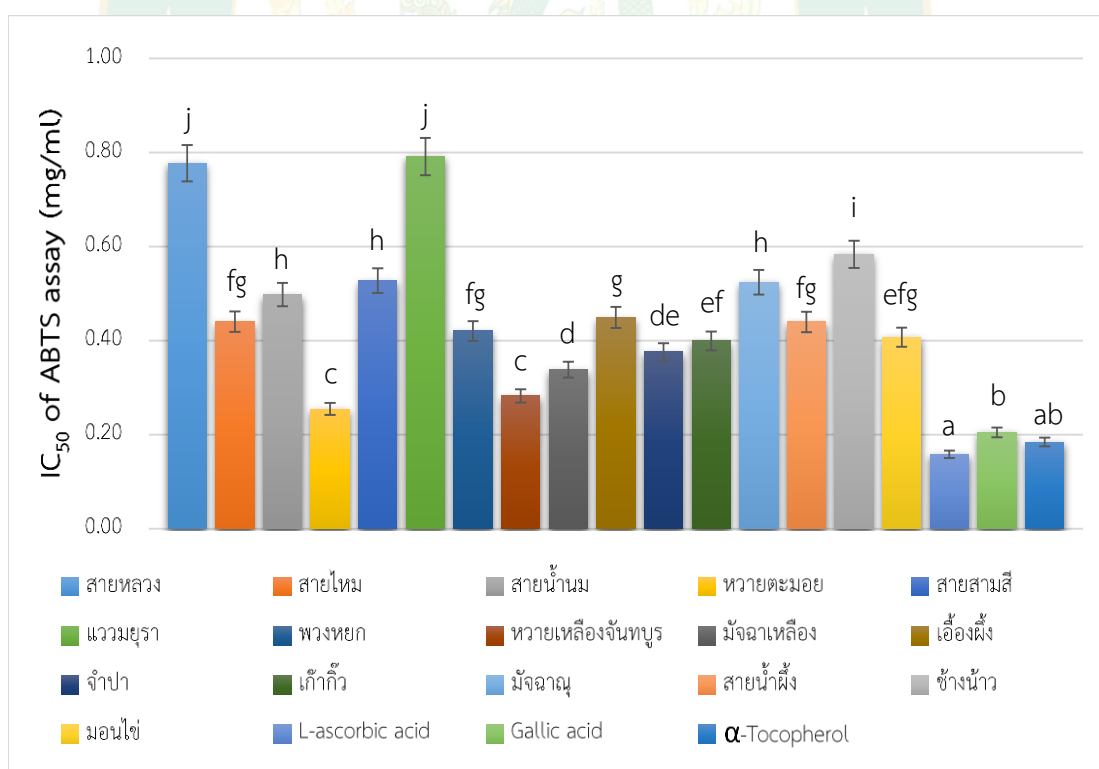
IC₅₀ เท่ากับ 0.78 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องช้างน้ำว ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.87 ± 0.059 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายหลวง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.87 ± 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายสามสี ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.89 ± 0.021 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมัจฉาณู ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.92 ± 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและเอื้องแวมยุรา ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.95 ± 0.044 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol (0.29 ± 0.003 , 0.36 ± 0.005 และ 0.34 ± 0.003 ตามลำดับ)

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ วิธี ABTS assay โดยใช้วิธีของ Tachalerdmanee, *et al.* (2016) โดยรายงานผลเป็นค่า IC₅₀ หมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระ ABTS โดยเป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ของสารสกัดของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC₅₀) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ซึ่งสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้ทุกชนิดมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล ABTS โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล ABTS ของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้มีความสอดคล้องไปทางเดียวกัน คือ ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล ABTS เพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบทั้ง 16 ชนิด เมื่อทำการจัดกลุ่มแล้วพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยให้ค่า IC₅₀ เฉลี่ยสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดอื่น โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล ABTS สูงที่สุด โดยที่ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.25 ± 0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ หวายเหลืองจันทบูร ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.28 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมัจฉาเหลือง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.34 ± 0.006 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องจำปา ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.38 ± 0.007 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องแก้วกวี ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.40 ± 0.009 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร, เอื้องมอนไข่ ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.41 ± 0.021 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, พวงหยก ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.42 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายไหม ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.44 ± 0.028 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำผึ้ง ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.44 ± 0.024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องผึ้ง ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.45 ± 0.026 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำนม ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.50 ± 0.022 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมัจฉาณู ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.52 ± 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายสามสี ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.53 ± 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องช้างน้าว ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.58 ± 0.028 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายหลวง ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.78 ± 0.061 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเอื้องแวมยुरา ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.79 ± 0.037 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีน้อยกว่าสารมาตรฐาน L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol (0.16 ± 0.005 , 0.21 ± 0.002 และ 0.18 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ)

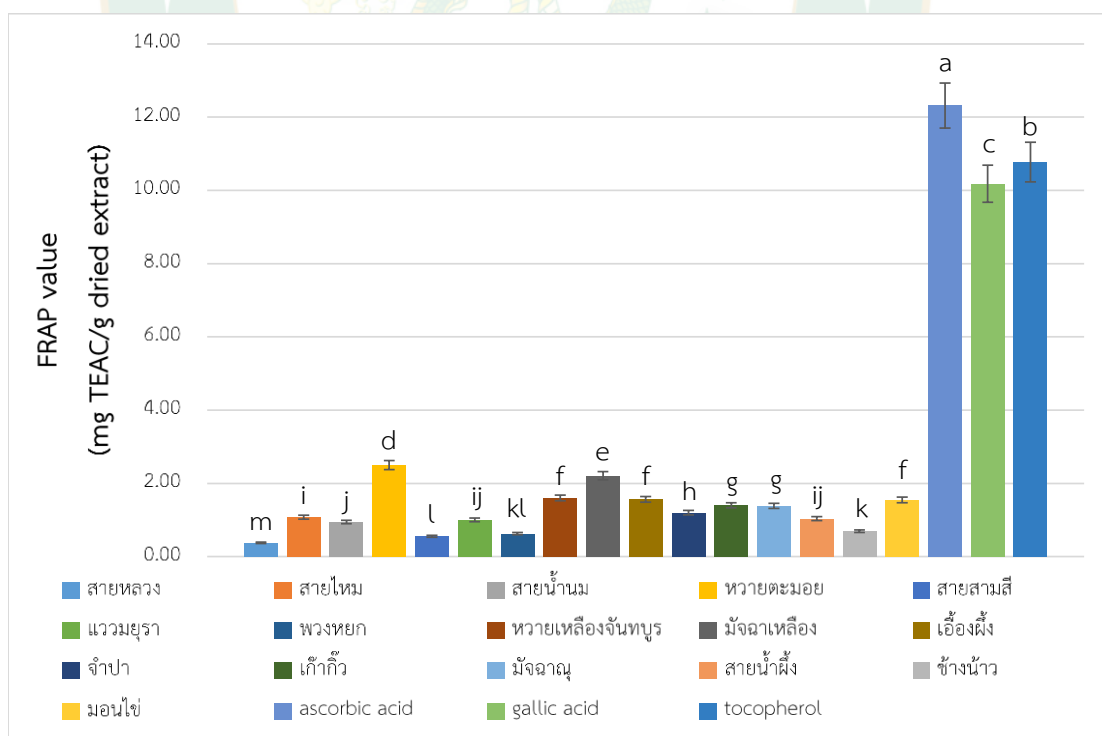


ภาพที่ 23 การกำจัดอนุมูล ABTS (IC_{50}) ของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย ทั้ง 16 ชนิด (means \pm SD, n=3)

การวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) โดยใช้วิธีของ Benzie และ Strain (1996) ซึ่งใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ Ferric Reducing Ability Power (FRAP) assay เป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} -TPTZ (Ferric tripyridyltriazine) จะถูกรีดิวซ์โดยสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก Fe^{2+} -TPTZ (Ferrous tripyridyltriazine) ซึ่งให้ผลเป็นสีน้ำเงินรายงานผลเป็นค่า FRAP value ซึ่งคำนวณได้จาก linear regression equation ของกราฟสารมาตรฐาน Trolox ($y = 0.2036x + 0.0535$, $R^2 = 0.9997$) โดยจะแสดงค่าในรูปมิลลิกรัมของ Trolox ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg TEAC/g dried extract) โดยพิจารณาค่าที่ได้ยิ่งมีค่ามากแสดงว่ามีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระสูงพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ FRAP value ของตัวอย่างสารสกัดทั้ง 16 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)



ภาพที่ 24 ค่า FRAP value ของส่วนสกัดของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด (means \pm SD, n=3)

จากภาพที่ 24 แสดงผลการเปรียบเทียบ ค่า FRAP value ของสารสกัดของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบทั้ง 16 ชนิด มีค่า FRAP value เฉลี่ยแตกต่างกัน โดยเมื่อทำการจัดกลุ่มแล้วพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยให้ค่า FRAP value เฉลี่ยสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดอื่น ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายตะมอยมีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 2.50 ± 0.06 mgTEAC/g dried extract รองลงมาคือ เอื้องมัจฉาเหลือง เท่ากับ 2.21 ± 0.05 mgTEAC/g dried extract, หวายเหลืองจันทบูร เท่ากับ 1.60 ± 0.02 mgTEAC/g dried extract, เอื้องผึ้ง เท่ากับ 1.57 ± 0.07 mgTEAC/g dried extract, เอื้องมอนไซ้ เท่ากับ 1.55 ± 0.04 mgTEAC/g dried extract, เอื้องแก้วกีว เท่ากับ 1.40 ± 0.04 mgTEAC/g dried extract, เอื้องมัจฉาญ เท่ากับ 1.39 ± 0.04 mgTEAC/g dried extract, เอื้องจำปา เท่ากับ 1.20 ± 0.05 mgTEAC/g dried extract, เอื้องสายไหม เท่ากับ 1.08 ± 0.06 mgTEAC/g dried extract, เอื้องสายน้ำผึ้ง เท่ากับ 1.04 ± 0.02 mgTEAC/g dried extract, พวงหยก เท่ากับ 0.63 ± 0.06 mgTEAC/g dried extract, เอื้องสายน้ำนม เท่ากับ 0.94 ± 0.03 mgTEAC/g dried extract, เอื้องชางิ้ว เท่ากับ 0.70 ± 0.03 mgTEAC/g dried extract, เอื้องแววมยุรา เท่ากับ 1.00 ± 0.01 mgTEAC/g dried extract, เอื้องสายสามสี เท่ากับ 0.55 ± 0.07 mgTEAC/g dried extract และ เอื้องสายหลวง เท่ากับ 0.37 ± 0.02 mgTEAC/g dried extract ตามลำดับ แต่สารสกัดกล้วยไม้ทั้ง 16 ชนิดมีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระ FRAP value น้อยกว่าสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด คือ L-ascorbic acid, gallic acid และ α -Tocopherol (12.32 ± 0.17 , 10.18 ± 0.03 และ 10.77 ± 0.10 mgTEAC/g dried extract ตามลำดับ)

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธีของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 16 ชนิด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกล้วยไม้แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้ง 16 ชนิด แต่สารสกัดลำต้นจากหวายตะมอยเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดใน การทดลองทั้ง 3 วิธี คือ DPPH, ABTS และ FRAP เนื่องจากมีการศึกษาสารสกัดจากกล้วยไม้พบมีองค์ประกอบทางเคมีหลากหลายชนิด ได้แก่ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และสารอื่นๆ (Cakova et al., 2017) ซึ่งสารแต่ละชนิดมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันและการทดสอบแต่ละวิธีมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาด้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการดักจับอนุมูลอิสระ ในปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่

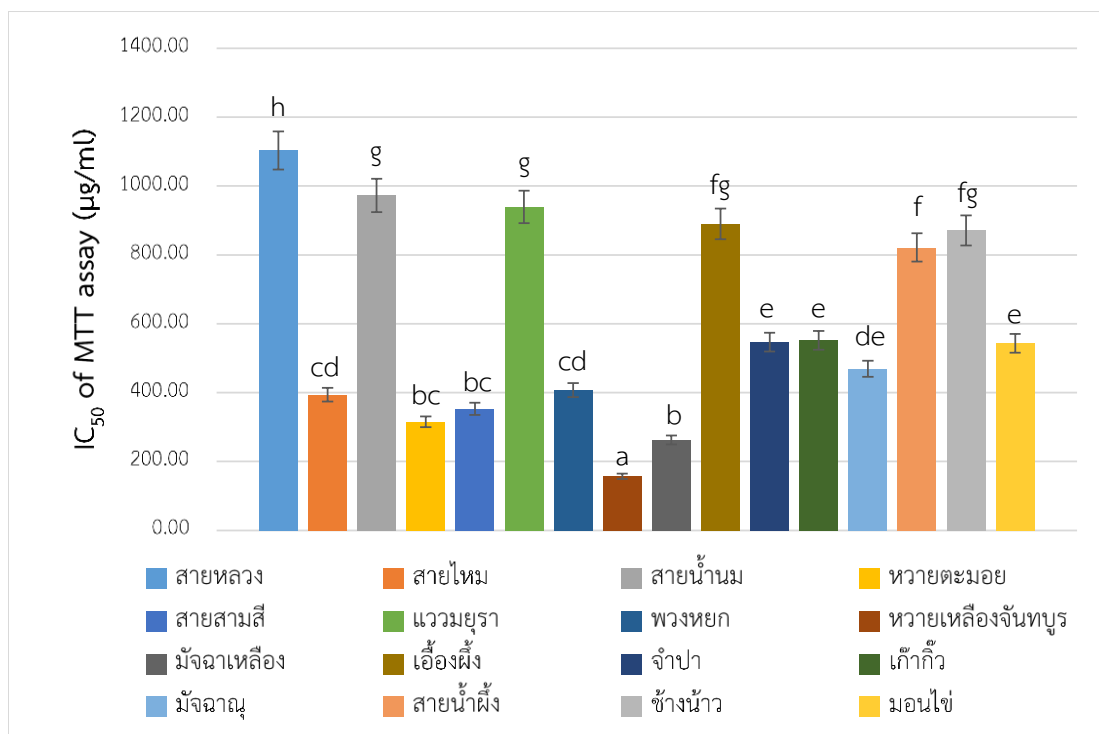
อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่เสถียร ปฏิกริยาจะเปลี่ยนจากสารสีม่วงเป็นสีเหลือง ซึ่งในการทดลองนี้พบว่า ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ กลไกในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เกิดจากการให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล ซึ่งจะได้เป็นสาร DPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป ส่วน phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจับกันเอง ทำให้เกิดปฏิกิริยาถูกละเหยของการเกิดอนุมูลอิสระหยุดลง เช่นเดียวกับปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่อนุมูลอิสระ ABTS เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะได้ ABTS ที่เสถียรปฏิกิริยาจะเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีเขียวที่จางลง ส่วนการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP Assay เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นอีกกลไกหนึ่งในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฟอร์ริกเป็นสารประกอบของธาตุเหล็ก ซึ่งธาตุเหล็กเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นต่อร่างกายเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากมีส่วนเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาทางชีวเคมีจำนวนมาก นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงอีกด้วย การขาดเหล็กจึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของร่างกายตลอดจนอาจทำให้เกิดภาวะโลหิตจางได้ อย่างไรก็ตามจากการที่เหล็กมีบทบาทสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ ปริมาณเหล็กในร่างกายที่มีมากเกินไปเกินความต้องการอาจส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้เช่นเดียวกัน ด้วยเหตุนี้ร่างกายจึงจำเป็นต้องมีกลไกการควบคุมสมดุลเหล็กที่มีประสิทธิภาพเพื่อรักษาระดับธาตุเหล็กให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยเหล็กมีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ในร่างกายซึ่งจะไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระหลายประเภทเช่น peroxy radical, hydroxyl radical และ alkyl radical รวมถึง singlet oxygen ดังนั้นการที่มีสารไปจับกับเหล็ก จะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของรัตนารักษ์ ชูหนองและคณะ (Choonong et al., 2019) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของอนุพันธ์ bibenzyl, flavonoids และ phenanthrene ในตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย 33 ชนิด (*Dendrobium spp.*) ที่ทำการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลจากชิ้นส่วนลำต้นกล้วยไม้ โดยผลการทดลองแสดงความสัมพันธ์ของสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assays เป็นวิธีการพื้นฐานสำหรับคัดกรองฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างพืชซึ่งมักจะรายงานเป็นค่า IC_{50} และ มิลลิกรัม Trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบว่าสารสกัดทั้ง 33 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในทั้ง 2 วิธีทดสอบ โดยตัวอย่างสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด 5 อันดับ คือในการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ได้แก่ *D. Fimbriatum*, *D. parishii*, *D. ellipsophyllum*, *D. lindleyi* และ *D. friedericksianum* โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25, 0.36, 0.37, 0.53 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และวิธี FRAP assay ได้แก่ *D. Fimbriatum*, *D. venustum*, *D. ellipsophyllum*, *D. parishii* และ *D. friedericksianum* โดยค่า

FRAP Value เท่ากับ 53.02, 26.02, 25.96, 23.39 และ 19.62 มิลลิกรัม Trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างสารสกัดจากกล้วยไม้ โดยพบสารในกลุ่ม bibenzyl derivatives (moscatilin, gigantol, chrysotoxin, crepidatin), total flavonoids (eriodictyol, homoeriodictyol) และ phenanthrene lusianthridin ซึ่งสารแต่ละชนิดมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระ และการศึกษาของ Paudel และคณะ (Paudel et al., 2017) ที่ทำการศึกษากิจกรรมประเมิณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นเอื้องสายน้ำเขียว โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, อะซิโตน, เอทานอล และเมทานอล โดยมีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 45.34, 37.18, 61.27, 78.11 และ 28.89 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัดตามลำดับ โดยศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเอทานอลและอะซิโตนมีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ($94.69 \pm 0.10\%$ และ $93.41 \pm 0.86\%$ ตามลำดับ) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 73.90 g/ml และ 99.44 g/ml ซึ่งพบว่ามีความใกล้เคียงวิตามินซีซึ่งเป็นสารควบคุม จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณฟีนอลิกที่พบมากส่งผลให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่งสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายสูงตามไปด้วย

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้

MTT assay เป็นการทดสอบการทำงานของเซลล์จากความสามารถในการทำงานของไมโทคอนเดรียในการรีดิวซ์สาร MTT โดยเซลล์ที่มีชีวิต และไมโทคอนเดรียมีการทำงานโดยเอนไซม์ dehydrogenase และ cofactor ในไมโทคอนเดรียจะรีดิวซ์ MTT ให้กลายเป็นผลึก formazan ได้ ดังนั้นเมื่อนำสารละลาย MTT ไปบ่มในเซลล์ที่ต้องการทดสอบ เซลล์ที่ไมโทคอนเดรียทำงานปกติจะรีดิวซ์ MTT ให้เป็น formazan ที่มีสีม่วง ซึ่งเมื่อนำมาละลายในตัวทำละลาย DMSO จะได้สารละลายสีม่วงน้ำเงิน ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่อง spectrophotometer จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 (% inhibition)

ผลการทดสอบสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 สายพันธุ์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ของสารสกัด ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเพิ่มขึ้น โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้ความเข้มข้นของสารละลาย MTT เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 25 การยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด (means \pm SD, n=3)

จากภาพที่ 25 แสดงผลการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญ (IC₅₀) ของเซลล์ HT-29 ของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ได้ 50 % (IC₅₀) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ซึ่งเมื่อทำการจัดกลุ่มพบว่าสารสกัดหวาย ทั้ง 16 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 เฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่สารสกัดจากหวายเหลืองจันทบูรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดจากกล้วยไม้ชนิดอื่น โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 156.71 ± 33.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือเอื้องมัจฉาเหลือง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 262.34 ± 52.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, หวายตะมอย ค่า IC₅₀ เท่ากับ 315.22 ± 10.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายสามสี ค่า IC₅₀ เท่ากับ 353.02 ± 84.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายไหม ค่า IC₅₀ เท่ากับ 393.90 ± 50.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, พวงหยก ค่า IC₅₀ เท่ากับ 407.50 ± 20.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมัจฉาฉูด ค่า IC₅₀ เท่ากับ 469.51 ± 51.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมอนไข่ ค่า IC₅₀ เท่ากับ 543.54 ± 62.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องจำปา ค่า IC₅₀ เท่ากับ 546.78 ± 43.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องแก้วก๊วย ค่า

IC₅₀ เท่ากับ 551.83 ± 38.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำผึ้ง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 821.67 ± 90.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องช้าน้ำว ค่า IC₅₀ เท่ากับ 871.31 ± 62.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องผึ้ง ค่า IC₅₀ เท่ากับ 889.65 ± 90.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องแวมยูรา ค่า IC₅₀ เท่ากับ 939.23 ± 77.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องสายน้ำนม ค่า IC₅₀ เท่ากับ 972.57 ± 50.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและเอื้องสายหลวง ค่า IC₅₀ เท่ากับ $1,103.00 \pm 51.05$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HT-29 ซึ่งการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย สอดคล้องกับการศึกษาของการศึกษาวิจัยของ Song et al., (2012) ที่ทำการศึกษารูปแบบของ denbinobin จาก *D. nobile* ในการยับยั้งและเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ โดยศึกษาความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT พบว่าเมื่อเติม denbinobin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในเซลล์ตับมะเร็ง (SK-Hep-1), เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (SNU-484) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) พบว่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 16.4, 7.9 และ 22.3 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ รวมถึงการศึกษาของอภาพร มิตรภาพและคณะ (Mitrphaba et al., 2016) ที่ทำการศึกษารูปแบบสารสกัดโดยตัวทำละลายมานอล ผลการศึกษาพบอนุพันธ์ Bibenzyl phenanthrene จากเอื้องคำกิว คือ 3,4-dihydroxy-3,4'-dimethoxybibenzyl, dendrosignatol, dendrocandin B, dendrocandin I และ dendrofalconerol A จากนั้นนำตัวอย่างที่ระบุได้ทั้งหมดมาทำการทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธี MTT พบว่า dendrosignatol มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุดที่สุดในเซลล์มะเร็งเต้านม (MDAMB-231) โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 25.2 ± 1.4 ไมโครโมลาร์ ในตัวอย่างเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) พบว่าสาร Dendrocandin B มีฤทธิ์การยับยั้ง มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 49.6 ± 2.5 ไมโครโมลาร์ และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) พบว่าสารทั้ง 5 ชนิดที่พบในเอื้องคำกิวมีฤทธิ์ในการยับยั้งโดย Dendrocandin B มีฤทธิ์การยับยั้งดีที่สุดโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 29.3 ± 2.1 ไมโครโมลาร์ โดยตัวอย่างที่ระบุได้ทั้ง 5 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 16 ชนิด มีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้เนื่องจากสารที่เป็นองค์ประกอบที่พบในกล้วยไม้สกุล *dendrobium* ที่มีการรายงานมาแล้วเบื้องต้น

กลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส

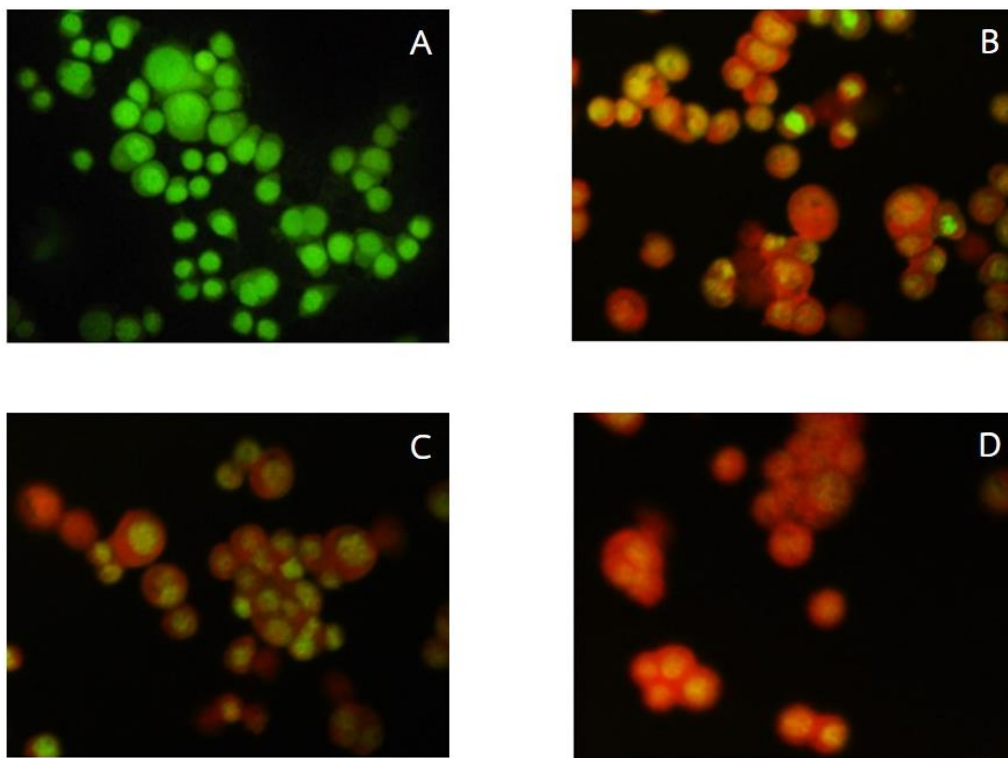
จากผลการวิเคราะห์การทดสอบข้างต้นของสารสกัดกล้วยไม้ ที่ทำการสกัดด้วย 60% เอทานอล ที่ให้ผลการทดสอบที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดสอบปริมาณฟีนอลิก ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assays และจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29)

โดยทำการคัดเลือก 3 สายพันธุ์ ที่ให้ผลการทดสอบดีที่สุด คือ หวายตะมอย หวายเหลืองจันทบูร และ เอื้องมัจฉาเหลือง

AO และ PI เป็นสีฟลูออเรสเซนต์ที่ย้อมติดนิวเคลียส โดย AO สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ปกติได้ แต่ PI ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ดังนั้นจึงสามารถระบุรูปแบบการตายของเซลล์ได้ และในการทดสอบการย้อมสีดังกล่าวนี้จึงสามารถแยกปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตจากเซลล์ที่ตาย ทั้งยังสามารถวิเคราะห์คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เรืองแสงเช่นเดียวกัน

กลไกของการตายของเซลล์นั้นมีความซับซ้อนและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาหลายอย่าง เช่น มีการหดตัวของเซลล์ (cell shrinkage) มีการหดตัวของโครมาติน (chromatin condensation) การแตกออกของนิวเคลียส (nuclear fragmentation) และมีการโป่งพองของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane blebbing) เป็นปัจจัยบางประการที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ (Prasad and Koch, 2014) สีย้อม AO มีคุณสมบัติพิเศษในการเรืองแสงสีที่แตกต่างกันตามลำดับเมื่อถูกผูกติดไว้กับออร์แกนเนลล์ที่แตกต่างกัน เช่น AO เปล่งแสงสีเขียวเมื่อจับกับ dsDNA ในขณะที่สีส้มเรืองแสงของ AO จะติดกับ ssDNA โดยสีย้อม AO สามารถที่จะเจาะพลาสมาเมมเบรนของเซลล์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ apoptotic ในช่วงต้นที่มี DNA ที่แยกส่วน อย่างไรก็ตามสีย้อม PI ไม่สามารถผ่านเมมเบรนของเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้นสามารถสังเกตได้เฉพาะในกรณีที่มีเซลล์ที่ตายแล้วซึ่งจะเรืองแสงสีแดง ดังภาพที่ 26

สารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถชักนำให้เซลล์ HT-29 ตายแบบอะพอพโทซิส โดยมีการจับตัวกันแน่นของโครมาติน เกิดการแตกหักของนิวเคลียสและสามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์โป่งและแตกได้ ภายในระยะเวลาเวลา 24 ชั่วโมง โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดหวายเหลืองจันทบูรที่ 156.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, เอื้องมัจฉาเหลือง 262.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและหวายตะมอย 315.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถทำให้เซลล์ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเซลล์ HT-29 มีการตายแบบ apoptosis ในตัวอย่างสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 สายพันธุ์

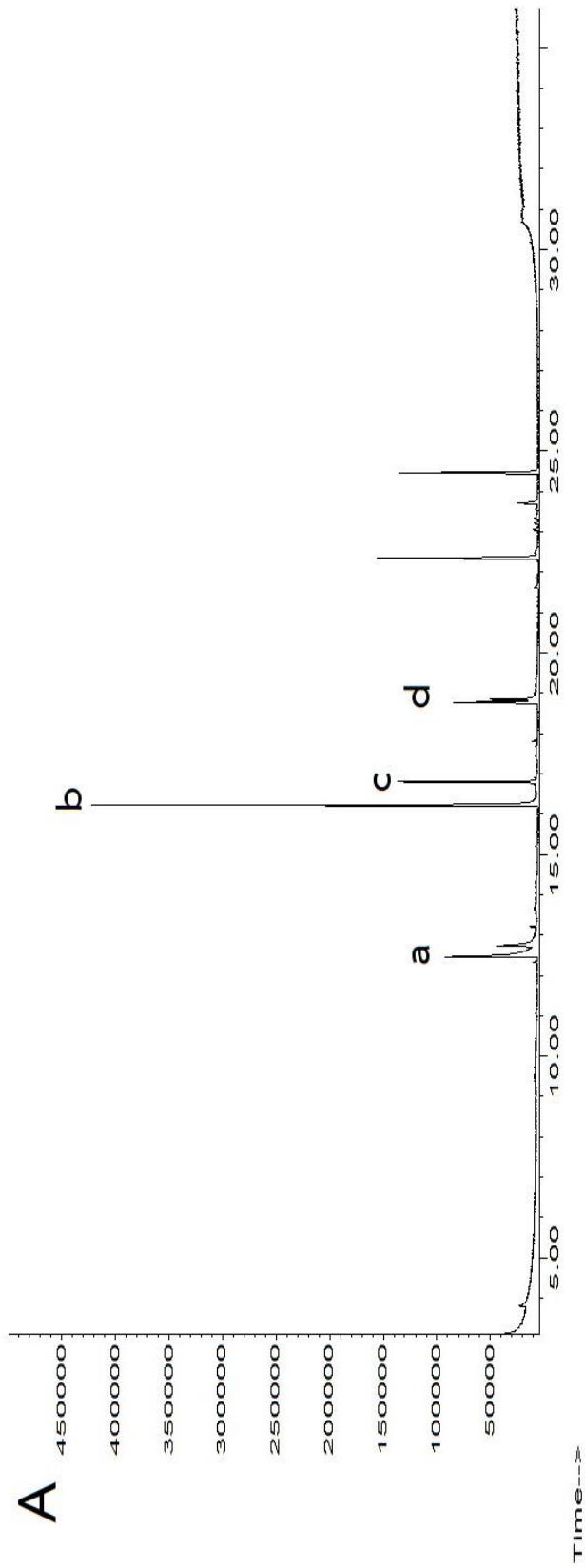


ภาพที่ 26 เซลล์ HT-29 ที่ได้รับสารสกัดจากลำต้นหวายตะมอย, หวายเหลืองจันทบูร และมังฉาเหลืองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- A) เซลล์ HT-29 ที่ไม่ได้รับการเติมสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวาย
- B) เซลล์ HT-29 ที่ได้รับการเติมสารสกัดจากลำต้นหวายเหลืองจันทบูร 156.71 $\mu\text{g/ml}$
- C) เซลล์ HT-29 ที่ได้รับการเติมสารสกัดจากลำต้นหวายตะมอย 315.22 $\mu\text{g/ml}$
- D) เซลล์ HT-29 ที่ได้รับการเติมสารสกัดจากลำต้นเอื้องมังฉาเหลือง 262.34 $\mu\text{g/ml}$

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดลำต้นกล้วยไม้

GC-MS spectra ของสารสกัด 60% เอทานอล จากลำต้นกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด คือ หวายเหลืองจันทบูร เอื้องมังฉาเหลืองและหวายตะมอย นำเสนอในภาพที่ 27-29 และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้ทั้ง 3 ด้วยวิธี GC-MS ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 6 โดยเรียงลำดับตามเวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์ (retention time)



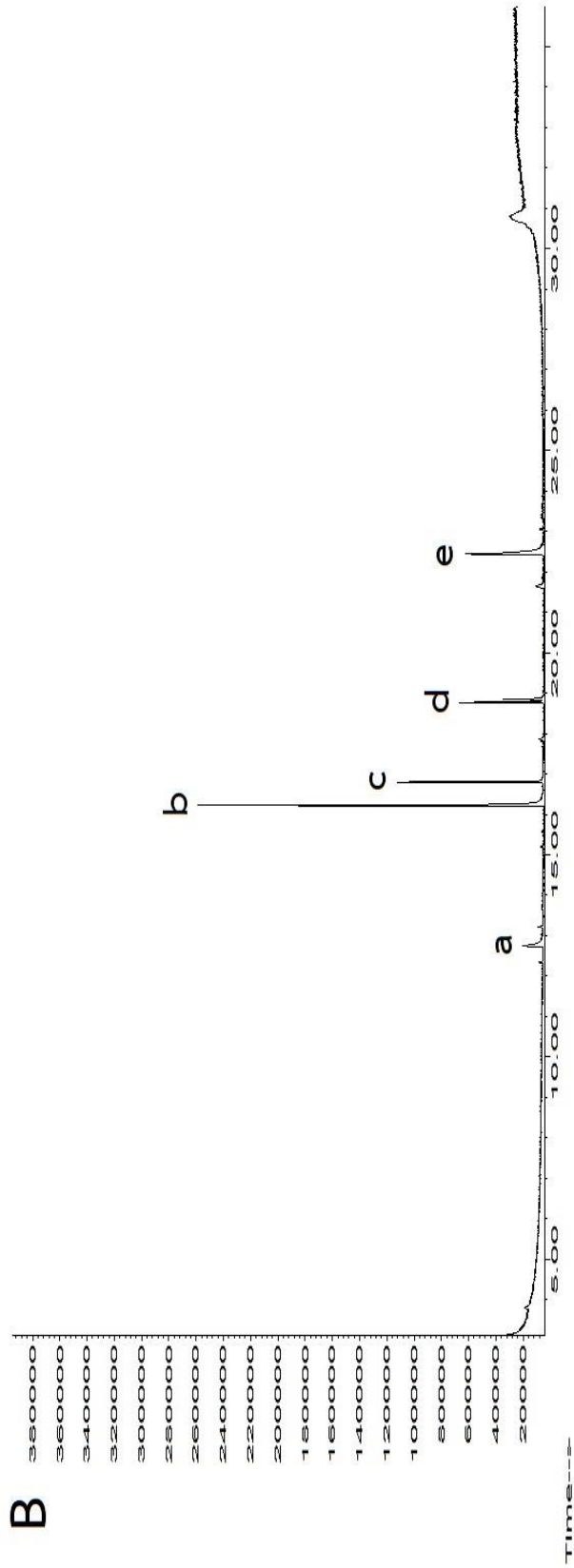
ภาพที่ 27 GC-MS spectra ของสารสกัดหางจากลำต้นเหวายเหลืองจันทร์ที่ทำการสกัดด้วย 60% เอทานอล

a 3,5-Dimethylbenzaldehyde

b 1-Decene

c 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol

d Cyclododecane



ภาพที่ 28 GC-MS spectra ของสารสกัดหายจากลำต้นเอื้องมัจฉาเหนือซึ่งทำการศึกษาการสกัดด้วย 60% เอทานอล

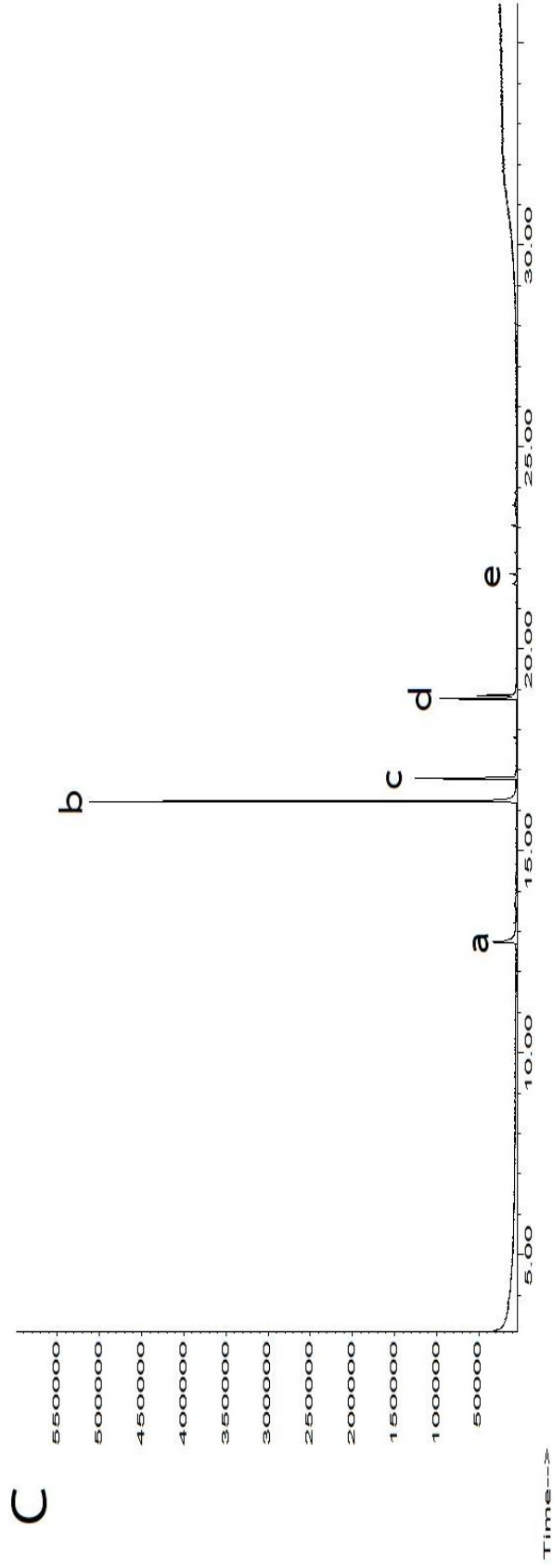
a 3,4-Dimethylbenzaldehyde

b Cyclododecane

c 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol

d 2-Propenoic acid (acrylic acid)

e 6-methoxy-4-phenyl-1,2-dihydronaphthalene



ภาพที่ 29 GC-MS spectra ของสารสกัดหยาบจากลำต้นหวายต้มยอที่ทำการสกัดด้วย 60% เอทานอล

a 3,5-Dimethylbenzaldehyde

b 1-Decene

c 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol

d Cyclododecane

e Octadecanoic acid

องค์ประกอบหลักทางเคมีของสารสกัดจากลำต้นหวายเหลืองจันทบุรีโดยการสกัดด้วย 60% เอทานอล สารที่พบในสารสกัดจากลำต้นหวายเหลืองจันทบุรี มีองค์ประกอบหลักทั้งหมด 4 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบหลักและปริมาณร้อยละ peak area ดังนี้ 1-Decene มีปริมาณร้อยละ peak area สูงสุด เท่ากับ 19.993 % รองลงมาเป็น 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 3,5-dimethyl-Benzaldehyde และ Cyclododecane มีค่าร้อยละ peak area เท่ากับ 7.251, 4.902 และ 3.748 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

สารสกัดจากลำต้นเอื้องมัจฉาเหลืองโดยการสกัดด้วย 60% เอทานอล สารที่พบในสารสกัดจากลำต้นเอื้องมัจฉาเหลือง มีองค์ประกอบหลักที่พบทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบหลักและปริมาณร้อยละ peak area ที่พบดังนี้คือ Cyclododecane มีปริมาณร้อยละ peak area สูงสุด เท่ากับ 35.998 % รองลงมาเป็น 6-methoxy-4-phenyl-1,2-dihydronaphthalene, 3,4-Dimethylbenzaldehyde, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol และ 2-Propenoic acid มีค่าร้อยละ peak area เท่ากับ 17.084, 13.863, 12.348 และ 6.884 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

สารสกัดจากลำต้นหวายตะมอยโดยการสกัดด้วย 60% เอทานอล สารที่พบในสารสกัดจากลำต้นหวายตะมอย มีองค์ประกอบหลักทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบหลักและปริมาณร้อยละ peak area ดังนี้ 1-Decene โดยมีปริมาณร้อยละ peak area สูงสุด เท่ากับ 53.571 % รองลงมาเป็น 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol, Cyclododecane, 3,5-Dimethylbenzaldehyde และ Octadecanoic acid มีค่าร้อยละ peak area เท่ากับ 13.864, 10.543, 8.558 และ 1.146 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีที่ตรวจพบในสารสกัดจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิด คือ หวายเหลืองจันทบุรี เอื้องมัจฉาเหลืองเหลืองและหวายตะมอย

No.	RT	Name of the compound	Molecular formula	MW	% Peak area	% similar
หวายเหลืองจันทบุรี (<i>D. friedericksianum</i>)						
1	12.74	3,5-Dimethylbenzaldehyde	C ₉ H ₁₀ O	134.175	4.902	76
2	16.22	1-Decene	C ₁₀ H ₂₀	140.266	19.993	95
3	16.80	2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206.324	7.251	97
4	18.77	Cyclododecane	C ₁₂ H ₂₄	168.319	3.748	95

No.	RT	Name of the compound	Molecular formula	MW	% Peak area	% similar
เอื้องמצฉากเลียอง (<i>D. griffithianum</i>)						
1	12.73	3,4-Dimethylbenzaldehyde	C ₉ H ₁₀ O	134.175	13.863	91
2	16.23	Cyclododecane	C ₁₂ H ₂₄	168.319	35.998	97
3	16.80	2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206.324	12.348	97
4	18.77	2-Propenoic acid (acrylic acid)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254.414	6.884	91
5	22.45	6-methoxy-4-phenyl-1,2-dihydronaphthalene	C ₁₇ H ₁₆ O	236.314	17.084	83
หวายตะมอย (<i>D. crumenatum</i>)						
1	12.74	3,5-Dimethylbenzaldehyde	C ₉ H ₁₀ O	134.178	8.558	93
2	16.22	1-Decene	C ₁₀ H ₂₀	140.266	53.571	97
3	16.80	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206.324	13.864	97
4	18.77	Cyclododecane	C ₁₂ H ₂₄	168.319	10.543	95
5	21.85	Octadecanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.538	1.146	72

โดยเมื่อทำการรวบรวมข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างในกล้วยไม้กลุ่ม *Dendrobium* พบว่าสารออกฤทธิ์หลายชนิดมีผลทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง เช่น denbinobin จากเอื้องแก้วก็มีความสามารถในการยับยั้งฟิโนไทป์ของเซลล์ SNU-484 พบว่า denbinobin มีความสามารถทำให้เอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMP)-2 และ MMP-9 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง MMPs มีบทบาทต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง และการแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆของร่างกาย นอกจากนี้เรายังแสดงหลักฐานว่า denbinobin ทำให้เกิดอะพอพโทซิสผ่านการควบคุม Bcl-2 และการควบคุมของ Bax การค้นพบครั้งนี้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ โดย denbinobin มีความสามารถในการป้องกันหรือบรรเทาผลร้ายของอาหารระยะลุกลามได้ (Song et al., 2012) หรือสารกลุ่ม bibenzyls จากการศึกษาของ ปิติ จันวรโชติ และคณะ (Chanvorachote et al., 2013) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการแพร่กระจายเซลล์มะเร็งจากลำ

ต้นเอื้องช้างน้าว จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากเอื้องช้างน้าวสามารถแยกสารในกลุ่ม bibenzyls ออกเป็น 4 ชนิด คือ chrysotobibenzyl, chrysotoxine, crepidatin และ moscatilin การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นความสามารถของสารประกอบทั้ง 4 ชนิดนี้ในการส่งเสริมกระบวนการตายของเซลล์แบบ anoikis และยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด นอกจากนี้ Zhou et al. (2016) ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ Phenanthrene และอนุพันธ์ของ Bibenzyl จากลำต้นของเอื้องแก้วก๊ว (*D. nobile*) ที่สกัดด้วย 70% เอทานอล พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ได้แก่ spirodiketones, denobilone, อนุพันธ์ phenanthrene (denobilones B, denobilones C, 7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthrene-dione, hircinol, ephemeranthol-A, erianthridin, 4,5-dihydroxy-2-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene, flavanthridin, lusianthridin, 6,7-dihydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrene-dione, moscatin, confusarin, nudol และ lusianthrin) รวมทั้ง biphenanthrenes (denthysinol A, denthysinol B, denthysinol C, denthysinol, phochinenin G, phochinenin D และ 4,4',7,7'-tetrahydroxy-2,2'-dimethoxy-9,9',10,10'-tetrahydro-1,1'-phenanthrene) รวมทั้งอนุพันธ์ bibenzyl (3',4'-dihydroxy-3,5'-dimethoxybibenzyl, 3-hydroxy-5-methoxybibenzyl, batatasin, tristin และ 3,3',5-trihydroxybibenzyl) (Zhou et al., 2016) และทำการศึกษาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HeLa, MCF-7 และ A549 โดยวิธี MTT พบว่าสารที่พบทุกชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ทั้ง 3 ชนิด รวมทั้งในศึกษาของ มุฑิตา อนุวัฒน์ (มุฑิตา อนุวัฒน์, 2553) ทำการศึกษาพิษของเอื้องเงิน (*D. draconis*) ผลการศึกษาพบว่า สามารถแยกสารใหม่ในกลุ่มฟิแนนควิโนนได้ 1 ชนิด คือ 5-methoxy-7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthrenequinone และสารที่เคยมีรายงานแล้ว 5 ชนิด ได้แก่ hircinol, gigantol, batatasin III, 4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,5,7-triol และ tristin และได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้ พบว่า 4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,5,7-triol มีฤทธิ์ในการจับสารอนุมูลอิสระ DPPH ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox และ การศึกษาของ Paudel et al. (2019) ทำการศึกษาการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์เนื้องอกของสมอง glioblastoma (U251) ของสารสกัดจากลำต้นเอื้องสายน้ำเขียว โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, อะซิโตน, เอทานอล และเมทานอล โดยศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT พบว่าที่ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุดโดยสารสกัดจากเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์ glioblastoma (U251) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 194.14 ± 4.94 และ 301.99 ± 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษของเซลล์จากสารสกัดดังกล่าวอาจเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS ได้แก่ tetracosane,

triacontane, stigmasterol และอนุพันธ์ฟีนอลบางชนิดเช่น 2-methoxy-4-vinylphenol, 2-methoxy-5-(1-propenyl)-phenol, p-mesyloxyphenol และ 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol (Paudel et al., 2019) รวมถึงพบการรายงานของ Zhao et al. (2020) ที่รวบรวมข้อมูลของ 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol โดยพบว่าสารดังกล่าวที่สกัดได้จากดอกกล้วยไม้ สายพันธุ์ *D. moniliforme* มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Zhao et al., 2020)

โดยมีรายงานการรวบรวมข้อมูลการศึกษาของ (2S)-eriodictyol, (2S)-homoeriodictyol, dendroflorin, moscatilin, lusianthridin, gigantol, nobilone, chrysotoxine และ crepidatin ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทฟีนอล ในกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่ม *Dendrobium* พบว่าในหวายตะมอยพบสารทุกชนิดที่ทำการศึกษา โดยพบ dendroflorin, moscatilin และ lusianthridin มากที่สุด (0.0433, 0.0834 และ 0.0079% w/w ตามลำดับ) ส่วนสาร (2S)-eriodictyol และ (2S)-homoeriodictyol พบมากที่สุดในหวายเหลืองจันทร์บูร (0.0549 และ 0.0425% w/w ตามลำดับ) ซึ่งองค์ประกอบที่กล่าวมาข้างต้นมีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง โดยเมื่อคุณผลวิเคราะห์องค์ประกอบจากลำต้นกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์บูร หวายตะมอย และเอื้องมัจฉาเหลือง พบสารในกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ sesquiterpens และ naphthalene ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีรายงานการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตามที่รายงานข้างต้น

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้ง 16 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยเอื้องมัจฉาเหลืองให้ปริมาณสูงที่สุด มีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 26.12 ± 4.14 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก (GAE) ต่อสารสกัด 1 กรัม

2. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assays

2.1 การวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC_{50}) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยสายพันธุ์ที่ดีที่สุดได้แก่หวายตะมอย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.46 ± 0.013 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS assay พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC_{50}) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยสายพันธุ์ที่ดีที่สุด คือ หวายตะมอย โดยที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25 ± 0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 การวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP assay พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ FRAP value ของตัวอย่างสารสกัดทั้ง 16 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยหวายตะมอยมีค่า FRAP value สูงที่สุด เท่ากับ 2.50 ± 0.06 มิลลิกรัม Trolox ต่อสารสกัด 1 กรัม

3. การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ด้วยวิธี MTT assay พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ HT-29 ได้ 50 % (IC_{50}) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยสารสกัดหยาบจากหวายเหลืองจันทบูร มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งลำไส้สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 156.71 ± 33.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การทดสอบกลไกการตายของเซลล์ โดย 3 สายพันธุ์ที่ดีที่สุด คือ หวายตะมอย หวายเหลืองจันทบูร และ เอื้องมัจฉาเหลือง พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งลำไส้ผ่านกลไกการตายแบบอะพอโทซิส

5. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีทั้ง 3 สายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สุดโดยวิธี GC-MS

5.1 หวายเหลืองจันทบูรพบสาร 1-Decene, 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 3,5-Dimethylbenzaldehyde และ Cyclododecane

5.2 เอื้องมัจฉาเหลืองพบองค์ประกอบของ Cyclododecane, 6-methoxy-4-phenyl-1,2-dihydronaphthalene, 3,4-Dimethylbenzaldehyde, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol และ 2-Propenoic acid

5.3 หวายตะมอย พบ Cyclododecane, 1-Decene, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 3,5-Dimethylbenzaldehyde และ Octadecanoic acid

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายจากการสกัดด้วย 60% เอทานอล เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรค และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น
2. ควรมีการศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระจากส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้สกุลหวาย
3. ควรมีการศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในตัวอย่างที่ทำการศึกษา เช่น แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลิฟีนอล แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

บรรณานุกรม

- กันญารัตน์ ภิรมย์มัน. 2550. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นกระเทียมป่า และว่านริดสีดวง. วิทยาศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็ง. 2561. ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2560. กรุงเทพฯ: บริษัท พรทรัพย์การพิมพ์ จำกัด
- เกสรี กลิ่นสุคนธ์, อุดมลักษณ์ สุขอัติตะ, ประภัสสร รักถาวร และ ลลิตา คชรัตน์. 2559. การศึกษาคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54, 849-856.
- จิตราพรรณ พิสิท. 2550. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. เอกสารประกอบการฝึกอบรมประชาชน หลักสูตรการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ณ สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จุฬารัตน์ ศรีประเสริฐ. 2559. การทดสอบสารฟลักซ์เคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคนา. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ชมพูทนต์ อันศรี, วราภรณ์ แก้วคอน, รัตติยา ทองรุ่ง, กรรณก อิงคนินันท์ และ นันทิทิพย์ ลิ้มเพ็ชรขอบ. 2010. ฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ของสมุนไพรไทยในเซลล์เพาะเลี้ยง. *Thai J Pharmacol* 32(1), 41-45.
- เต็ม สมิตินันท์. 2557. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย = **Thai plant names**. กรุงเทพฯ: สำนักหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์. 2560. ความหลากหลายของกล้วยไม้ในมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์การศึกษาสามพร้าว จังหวัดอุดรธานี. อุดรธานี: ศรีอักษรการพิมพ์.
- นิตยา จุลโพธิ์. 2559. การทดสอบสารฟลักซ์เคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- พรพิมล จงรักวิทย์ และ กันทิมาณี ประเดิมวงศ์. 2554. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากหน้าดอกขาว *Vernonia cinerea* Less. การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2554, 99-103.
- ภาควิชาเภสัชวิทยา. 2552. เภสัชวิทยา. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มาลินี อินทรวงศ์. 2553. ความสามารถในการผสมข้ามหมู่ของกล้วยไม้สกุลหวายของไทยและหวายพันธุ์การค้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- มุขิตา อนุวัฒน์. 2553. สารต้านอนุมูลอิสระจากเอื้องเงิน. เภสัชศาสตร์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ระพี สาคริก. 2530. กล้วยไม้. กรุงเทพฯ: ช่อนนทรี.
- วรรณนท์ ทองอินลา, ชลธิชา วรรณวิมลรักษ์ และ ภารดี ช่วยบำรุง. 2557. ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 19(2), 93-104.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2562. วิตามินซี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก

<https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%A7%E0%B8%B4%E0%B8%95%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%8B%E0%B8%B5>. (25 พฤศจิกายน 2562)

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2558. แนวทางการตรวจคัดกรอง วินิจฉัย และรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ และไส้ตรง.

กรุงเทพฯ: บริษัท โฆสิตการพิมพ์ จำกัด.

---. 2562. ความรู้เรื่องโรคมะเร็ง [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก [http://](http://www.nci.go.th/th/Knowledge/index.html)

www.nci.go.th/th/Knowledge/index.html. (21 พฤศจิกายน 2562)

สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. 2555. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. เชียงใหม่: สมาร์ท โคตติง แอนด์ เซอร์วิส จำกัด.

สลิล สิทธิธรรม. 2551. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

สหพันธ์ บริศร์รักษ์. 2548. อะพอพโทสิส. ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น: คลังนานาวิทยา.

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช. 2556. คู่มือการจำแนกชนิดกล้วยไม้สกุลหวายโดยไม่ใช้ดอก สำหรับพนักงานเจ้าหน้าที่ตาม

พระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

อบฉันท ไททอง. 2548. กล้วยไม้เมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 10. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

อรพินทร์ เชียงบัว. อะพอพโทสิส: โปรแกรมจบบชีวิตของเซลล์. วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี, 80-87.

อรุณรัตน์ สันฐิติวินสกุล และ ชิมัมพร พันหูน. 2556. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 80 เปอร์เซ็นต์

เอทานอลจากหญ้าตีนตุ๊กแก. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขา

วิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 77-83.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ

Radical Scavenging Agent. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Badr, M. 2012. **The ribosome-inactivating protein gelonin and parts thereof to be employed for a potential treatment of cancer.** Germany: Department of Chemistry/Biochemistry Technical University Kaiserslautern.

Cakova, V., Bonte, F. & Lobstein, A. 2017. *Dendrobium*: Sources of Active Ingredients to Treat Age-Related Pathologies. **Ageing and disease**, 8(6), 827-849.

Chanvorachote, P., Kowitdamrong, A., Ruanghirun, T., Sritularak, B., Mungmee, C. & Likhitwitayawuid, K. 2013. Anti-metastatic Activities of Bibenzyls from *Dendrobium pulchellum*. **Natural Product Communications**, 8(1), 115 - 118.

Chimsook, T. 2016. Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant Activities and Cytotoxicity of *Dendrobium signatum* Leaves. **MATEC Web of**

Conferences 62(03005).

- Choonong, R., Sermpradita, W., Kitisripanyac, T., Sritularakd, B. & Putaluna, W. 2019. The contents of bibenzyl derivatives, flavonoids and a phenanthrene in selected *Dendrobium spp.* and the correlation with their antioxidant activity. **ScienceAsia** 45(245–252).
- Denizot, F. & Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **Journal of Immunological Methods** 89(2), 271-277.
- F.F.Benziea, I. & J.J.Strainb. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, 239(1), 70-76.
- Gupta, S. 2001. Molecular steps of death receptor and mitochondrial pathways of apoptosis. **Life Sciences**, 69(25–26), 2957-2964.
- Hossain, M. M. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances — An overview. **Fitoterapia**, 82(2), 102-140.
- Jin, Q., Jiao, C., Sun, S., Song, C., Cai, Y., Lin, Y., Fan, H. & Zhu, Y. 2016. Metabolic Analysis of Medicinal *Dendrobium officinale* and *Dendrobium huoshanense* during Different Growth Years. **PLOS ONE**, 11(1), 1-17.
- Luo, A., Ge, Z., Fan, Y., Luo, A., Chun, Z. & He, X. 2011. In Vitro and In Vivo Antioxidant Activity of a Water-Soluble Polysaccharide from *Dendrobium denneanum*. **molecules**, 16(1579-1592).
- Majno, G. & Joris, I. 1995. Apoptosis, Oncosis, and Necrosis: An Overview of Cell Death. **American Journal of Pathology**, 146(1), 3-15.
- Mittraphaba, A., Muangnoib, C., Likhitwitayawuida, K., Rojsitthisakc, P. & Sritularaka, B. 2016. A New Bibenzyl-phenanthrene Derivative from *Dendrobium signatum* and its Cytotoxic Activity. **Natural Product Communications**, 11(5), 657-659.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, 65(1–2), 55-63.
- Paudel, M. R., Chand, M. B., Pant, B. & Pant, B. 2017. Cytotoxic Activity of Antioxidant-Riched *Dendrobium longicornu*. **Pharmacogn J.**, 9(4), 499-503.

- Paudel, M. R., Chand, M. B., Pant, B. & Pant, B. 2019. Assessment of Antioxidant and Cytotoxic Activities of Extracts of *Dendrobium crepidatum*. **Biomolecules**, 9(478), 1-13.
- Prasad, R. & Koch, B. 2014. Antitumor Activity of Ethanolic Extract of *Dendrobium formosum* in T-Cell Lymphoma: An In Vitro and In Vivo Study. **BioMed Research International**, 1(1-11).
- Rampal, G., Khanna, N., Thind, T. S., Arora, S. & Vig, A. P. 2012. Role of isothiocyanates as anticancer agents and their contributing molecular and cellular mechanisms. **Medicinal Chemistry & Drug Discovery**, 3(2), 79-93.
- Rao, R., Ellerby, H. & Bredesen, D. 2004. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. **Cell Death and Differentiation** 11(372-380).
- Smitinand, T. 2001. **Thai Plants Names (Botanical Names - Vernacular Names)**. Bangkok: Forest Herbarium, Royal Forest Department.
- Song, J. I., Kang, Y. J., Yong, H.-Y., Kim, Y. C. & Moon, A. 2012. Denbinobin, a phenanthrene from *Dendrobium nobile*, inhibits invasion and induces apoptosis in SNU-484 human gastric cancer cells. **ONCOLOGY REPORTS**, 27(813-818).
- Tachalerdmanee, P., Moonmangmee, S., Suwakul, W. & Charnvanich, D. 2016. Effect of total phenolic content on free radical scavenging activities of Boletes mushroom extracts. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, 40(88-91).
- Wikimedia. 2019. **Alpha-Tocopherol**. [Online]. Available <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Alpha-Tocopherol.svg>. (25 November 2019)
- Xu, J., Han, Q.-B., Li, S.-L., Chen, X.-J., Wang, X.-N., Zhao, Z.-Z. & Chen, H.-B. 2013. Chemistry, bioactivity and quality control of *Dendrobium*, a commonly used tonic herb in traditional Chinese medicine. **Phytochem Rev**, 12,341–367.
- Zhang, G.-N., Zhong, L.-Y., Bligh, S. W. A., Guo, Y.-L., Zhang, C.-F., Zhang, M., Wang, Z.-T. & Xu, L.-S. 2005. Bi-bicyclic and bi-tricyclic compounds from *Dendrobium thysiflorum*. **Phytochemistry**, 66(10), 1113-1120.
- Zhang, X., Xu, J.-K., Wang, J., Wang, N.-L., Kurihara, H., Kitanaka, S. & Yao, X.-S. 2007. Bioactive Bibenzyl Derivatives and Fluorenones from *Dendrobium nobile*. **J. Nat. Prod.**, 70(1), 24-28.

- Zhao, F., Wang, P., Lucardi, R. D., Su, Z. & Li, S. 2020. Natural Sources and Bioactivities of 2,4-Di-Tert-Butylphenol and Its Analogs. **Toxins**, 12(35), 1-26.
- Zhou, X.-M., Zheng, C.-J., Gan, L.-S., Chen, G.-Y., Zhang, X.-P., Song, X.-P., Li, G.-N. & Sun, C.-G. 2016. Bioactive Phenanthrene and Bibenzyl Derivatives from the Stems of *Dendrobium nobile*. **Journal of Natural Products**, 79,1791-1797.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. เตรียม 60 % เอทานอล ปริมาตร 7.5 ลิตร
โดยตวง 95% เอทานอล จำนวน 4,736.84 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 2,763.16 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลาย 7% sodium carbonate ปริมาตร 250 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร sodium carbonate 17.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้ว
ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร
3. เตรียมสารละลาย 0.25 มิลลิโมลาร์ DPPH ในเอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (M.W. = 394.33)
จาก $g / M.W. = CV / 1000$
 $g = (0.25 \times 10^{-3}) \times 10 \times 394.33 / 1000$
 $g = 0.00087$ กรัม
ดังนั้น ชั่งสาร DPPH 0.00087 กรัม ละลายในเอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
4. เตรียมสารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร ascorbic acid 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร
5. เตรียมสารละลาย α -Tocopherol ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร α -Tocopherol 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร
6. เตรียมสารละลาย gallic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร gallic acid 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
7. เตรียมสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร TPTZ 0.0468 กรัม ละลายใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
8. เตรียมสารละลาย 40 มิลลิโมลาร์ HCl ในน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
ปิเปต HCl ปริมาตร 0.06 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

9. เตรียมสารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ FeCl_3 ในน้ำกลั่น ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร FeCl_3 0.081 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
10. เตรียมสารละลาย 0.3 โมลาร์ Sodium Acetate buffer (pH=3.6) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
ชั่ง Sodium acetate 0.62 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 160 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid ปริมาตร 3.2 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 3.6 ด้วย acetic acid หรือ NaOH ปรับ ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร
11. เตรียมสารละลาย Trolox ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
โดยชั่งสาร ascorbic acid 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร
12. เตรียมอาหาร dulbecco's modified eagle medium (DMEM) สำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
- ชั่งอาหาร dulbecco's modified eagle medium (DMEM) 2.68 กรัม
 - ชั่ง Sodium hydrogen carbonate 0.74 กรัม
- ละลายในน้ำกลั่น 186 มิลลิลิตร เติม ซีรัมลูกวัว 5% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติม Non-amino acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

การคำนวณร้อยละผลผลิต (% yield)

ลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายเอื้องสายหลวง

น้ำหนักของสารสกัดหยาบ = 104.09 กรัม

น้ำหนักของลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายเอื้องสายหลวง = 2,977.65 กรัม

แทนค่า % yield = (น้ำหนักสารสกัดหยาบ / น้ำหนักตัวอย่าง) × 100

% yield = (0.7085/4.56) × 100, % yield = 15.54

สารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์เอื้องสายหลวงที่สกัดด้วย 60% เอทานอล มี % yield = 15.54

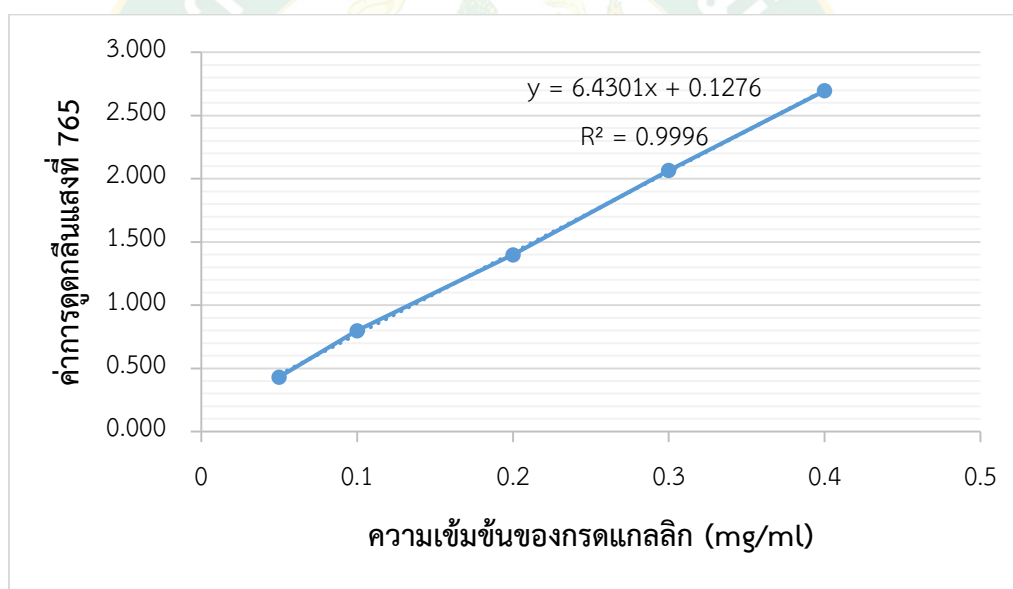
ตารางภาคผนวกที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากลำต้นเอื้องกล้วยไม้สกุลหวาย

สายพันธุ์	% yeild			% yeild เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	14.98	14.29	15.54	14.93 ± 0.63
สายใหม่	17.30	15.62	13.92	15.61 ± 1.69
สายน้ำนม	14.71	11.78	12.09	12.86 ± 1.61
หวายตะมอย	9.84	7.94	9.20	8.99 ± 0.96
สายสามสี	13.38	12.01	13.99	13.12 ± 1.02
แววมยุรา	11.98	15.07	15.82	14.29 ± 2.03
พวงหยก	30.93	28.35	28.45	29.24 ± 1.46
หวายเหลืองจันทร์บูร	12.51	14.88	14.99	14.13 ± 1.40
มัจฉาเหลือง	13.51	12.26	11.51	12.43 ± 1.01
เอื้องผึ้ง	8.29	7.04	8.00	7.78 ± 0.65
จำปา	11.91	11.85	13.40	12.39 ± 0.88
แก้วกวี	19.82	14.63	18.04	17.50 ± 2.64
มัจฉาณู	13.33	12.50	11.31	12.38 ± 1.01
สายน้ำผึ้ง	10.77	9.80	13.50	11.36 ± 1.91
ช้างน้ำว	15.05	13.32	9.60	12.66 ± 2.79
มอนไข่	10.56	13.75	13.23	12.51 ± 1.71

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

ความเข้มข้นของ กรดแกลลิก (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm		เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0.05	0.434	0.427	0.431
0.1	0.802	0.796	0.799
0.2	1.401	1.394	1.398
0.3	2.068	2.062	2.065
0.4	2.700	2.692	2.696



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ได้สมการ $y = 6.4301x + 0.1276$, $R^2 = 0.9996$

วิธีการการคำนวณ

หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์เอื้องสายหลวงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด (mg GAE/g extract) โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

ตัวอย่างเช่น

$$\text{จากสมการ } y = 6.4301x + 0.1276$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.160$$

$$0.160 = 6.4301x + 0.1276$$

$$x = 0.005$$

สารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกรวม 0.005 mgGAE/g extract

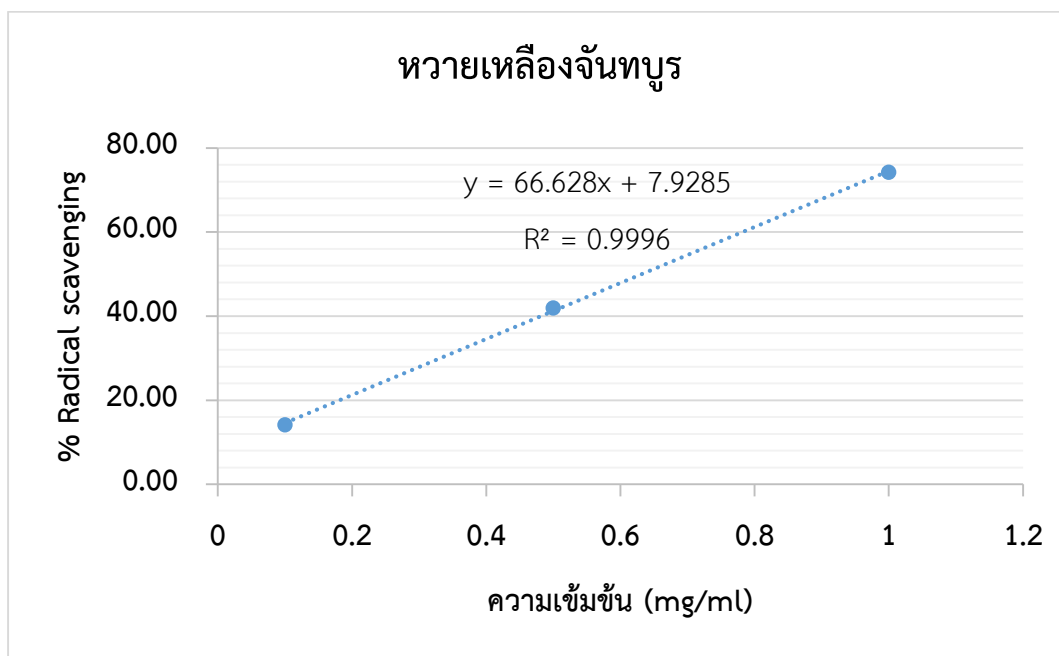
ดังนั้นถ้าสารตัวอย่าง 1000 มิลลิกรัม จะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 5 mgGAE/g extract

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

สายพันธุ์	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g extract)			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	4.99	4.73	4.26	4.66 ± 0.37
สายไหม	24.48	23.96	21.06	23.17 ± 1.84
สายน้ำนม	16.34	14.21	14.89	15.15 ± 1.09
หวายตะมอย	19.45	21.47	19.61	20.18 ± 1.13
สายสามสี	15.87	19.71	14.68	16.75 ± 2.63
แวมยुरา	7.84	3.85	3.95	5.21 ± 2.28
พวงหยก	16.91	15.41	15.20	15.84 ± 0.93
หวายเหลืองจันทร์บูร	27.17	23.65	25.77	25.53 ± 1.77
มัจฉาเหลือง	21.58	27.12	29.66	26.12 ± 4.14
เอื้องผึ้ง	16.75	14.68	16.03	15.82 ± 1.05
จำปา	17.27	14.99	17.22	16.50 ± 1.30
แก้วกวี	13.44	18.15	16.34	15.98 ± 2.38
มัจฉาณู	15.72	16.39	19.55	17.22 ± 2.05
สายน้ำผึ้ง	17.53	18.10	15.61	17.08 ± 1.30
ช้างน้ำ	11.36	11.05	10.22	10.88 ± 0.59
มอนไข่	13.07	14.94	14.47	14.16 ± 0.97

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การหาค่า IC_{50} ของหวายเหลืองจันทบูร (วิธี DPPH)



ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟ %Radical scavenging ของหวายเหลืองจันทบูร ด้วยวิธี DPPH

จากสมการ $y = 66.628x + 7.9285$

แทนค่า $y = 50$, $50 = 66.628x + 7.9285$

$66.628x = 42.0715$

$x = 0.6314$

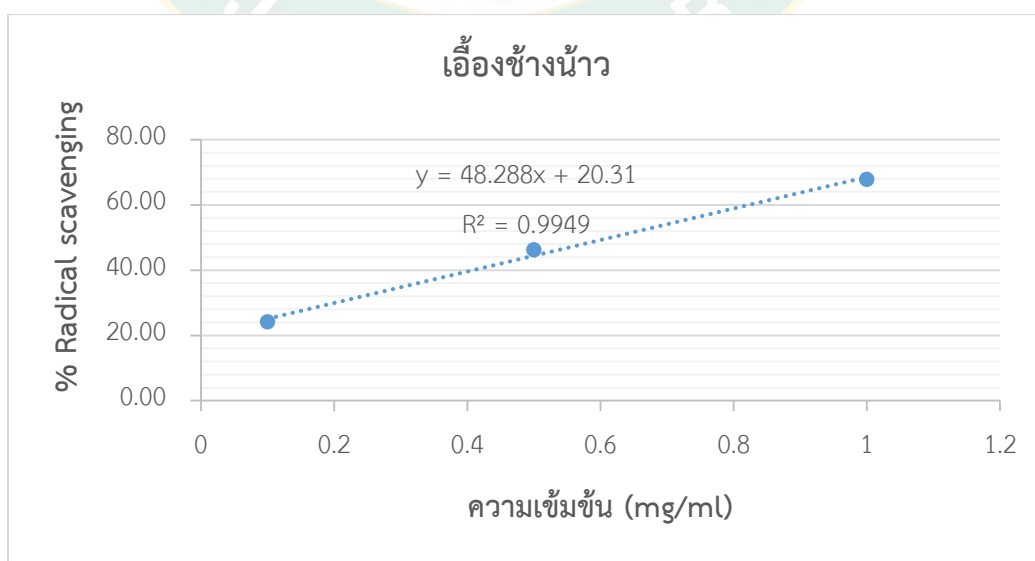
ดังนั้น ความเข้มข้นสาร = 0.6314 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย ด้วยวิธี DPPH

สายพันธุ์	IC_{50} (mg/ml)			เฉลี่ย (mg/ml)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	0.85	0.86	0.91	0.87 ± 0.030
สายใหม่	0.78	0.78	0.79	0.78 ± 0.004
สายน้ำนม	0.77	0.78	0.77	0.77 ± 0.008
หวายตะมอย	0.45	0.47	0.47	0.46 ± 0.013
สายสามสี	0.86	0.90	0.90	0.89 ± 0.021

สายพันธุ์	IC ₅₀ (mg/ml)			เฉลี่ย (mg/ml)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
แวมยูรา	0.98	0.90	0.97	0.95 ± 0.044
พวงหยก	0.73	0.73	0.75	0.74 ± 0.010
ทวายเหลืองจันทบูร	0.63	0.63	0.63	0.63 ± 0.002
มัจฉาเหลือง	0.57	0.60	0.61	0.59 ± 0.019
เอื้องผึ้ง	0.73	0.75	0.76	0.75 ± 0.019
จำปา	0.67	0.64	0.67	0.66 ± 0.016
เกือกัว	0.70	0.71	0.70	0.70 ± 0.005
มัจฉาญ	0.89	0.91	0.95	0.92 ± 0.029
สายน้ำผึ้ง	0.76	0.72	0.69	0.72 ± 0.034
ข้าน้ำ	0.82	0.93	0.85	0.87 ± 0.059
มอนไข่	0.70	0.65	0.65	0.67 ± 0.029
L-ascorbic acid	0.29	0.29	0.30	0.29 ± 0.003
Gallic acid	0.36	0.35	0.36	0.36 ± 0.005
α-Tocopherol	0.33	0.33	0.34	0.34 ± 0.003

การหาค่า IC₅₀ ของเอื้องข้าน้ำ (วิธี ABTS)



ภาพภาคผนวกที่ 3 กราฟ %Radical scavenging ของ เอื้องข้าน้ำ ด้วยวิธี ABTS

$$\text{จากสมการ } y = 48.288x + 20.31$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 48.288x + 20.31$$

$$48.288x = 29.69$$

$$x = 0.6149$$

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร = 0.6149 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

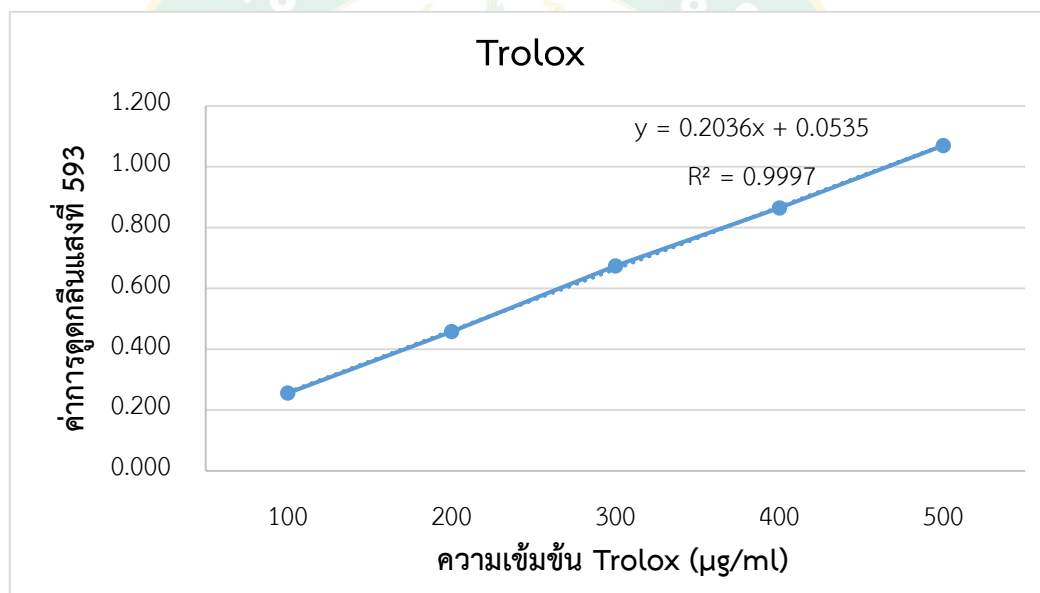
ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย ด้วยวิธี ABTS

สายพันธุ์	IC_{50} (mg/ml)			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	0.71	0.80	0.83	0.78 ± 0.061
สายใหม่	0.47	0.42	0.43	0.44 ± 0.028
สายน้ำนม	0.50	0.47	0.52	0.50 ± 0.022
หวายตะมอย	0.28	0.25	0.24	0.25 ± 0.020
สายสามสี	0.50	0.55	0.53	0.53 ± 0.030
แววมยุรา	0.77	0.77	0.83	0.79 ± 0.037
พวงหยก	0.42	0.42	0.42	0.42 ± 0.004
หวายเหลืองจันทร์पुर	0.29	0.28	0.28	0.28 ± 0.003
มัจฉาเหลือง	0.33	0.34	0.34	0.34 ± 0.006
เอื้องผึ้ง	0.42	0.45	0.47	0.45 ± 0.026
จำปา	0.38	0.38	0.37	0.38 ± 0.007
แก้วกวี	0.41	0.40	0.39	0.40 ± 0.009
มัจฉาณู	0.52	0.49	0.55	0.52 ± 0.030
สายน้ำผึ้ง	0.47	0.43	0.42	0.44 ± 0.024
ช้างนำว	0.61	0.58	0.56	0.58 ± 0.028
มอนไข่	0.43	0.40	0.39	0.41 ± 0.021
L-ascorbic acid	0.16	0.15	0.16	0.16 ± 0.005
Gallic acid	0.21	0.21	0.20	0.21 ± 0.002
α -Tocopherol	0.18	0.18	0.19	0.18 ± 0.003

การหาปริมาณ FRAP value

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm ของสารมาตรฐาน Trolox

ความเข้มข้นของ Trolox (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
100	0.247	0.257	0.263	0.256
200	0.471	0.452	0.449	0.457
300	0.668	0.672	0.681	0.674
400	0.850	0.867	0.877	0.865
500	1.063	1.073	1.074	1.070



ภาพภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน Trolox

กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ได้สมการ $y = 0.2036x + 0.0535$, $R^2 = 0.9997$

วิธีการการคำนวณ

หาปริมาณ FRAP Value ของสารสกัดหายจากลำต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์เอื้องสายหลวงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด (mg TAEC/g extract) โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

ตัวอย่างเช่น

$$\text{จากสมการ } y = 0.2036x + 0.0535$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.126$$

$$0.126 = 0.2036x + 0.0535, x = 0.354$$

สารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม มีปริมาณ FRAP Value 0.354 $\mu\text{g TEAC/g dried extract}$

ดังนั้น ถ้าสารตัวอย่าง 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณ FRAP Value 354.45 $\mu\text{g TEAC/g dried extract}$

ตารางภาคผนวกที่ 7 ค่า FRAP Value ของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย

สายพันธุ์	FRAP value (mg TEAC/ g dried extract)			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	0.35	0.39	0.38	0.37 \pm 0.02
สายใหม่	1.05	1.15	1.04	1.08 \pm 0.06
สายน้ำนม	0.91	0.95	0.97	0.94 \pm 0.03
หวายตะมอย	2.51	2.55	2.43	2.50 \pm 0.06
สายสามสี	0.49	0.53	0.63	0.55 \pm 0.07
แวมยुरา	1.00	1.00	1.01	1.00 \pm 0.01
พวงหยก	0.64	0.68	0.56	0.63 \pm 0.06
หวายเหลืองจันทร์บูร	1.60	1.63	1.58	1.60 \pm 0.02
มัจฉาเหลือง	2.26	2.21	2.16	2.21 \pm 0.05
เอื้องผึ้ง	1.49	1.62	1.59	1.57 \pm 0.07
จำปา	1.19	1.15	1.25	1.20 \pm 0.05
แก้วกวี	1.42	1.35	1.42	1.40 \pm 0.04
มัจฉาณู	1.41	1.34	1.41	1.39 \pm 0.04
สายน้ำผึ้ง	1.02	1.06	1.03	1.04 \pm 0.02
ช้างน้ำ	0.72	0.69	0.67	0.70 \pm 0.03
มอนไซ	1.54	1.51	1.60	1.55 \pm 0.04
L-ascorbic acid	12.40	12.12	12.43	12.32 \pm 0.17
Gallic acid	10.16	10.21	10.18	10.18 \pm 0.03
α -Tocopherol	10.71	10.73	10.88	10.77 \pm 0.10

การหาค่า IC_{50} ของ หวายเหลืองจันทบูร (วิธี MTT)

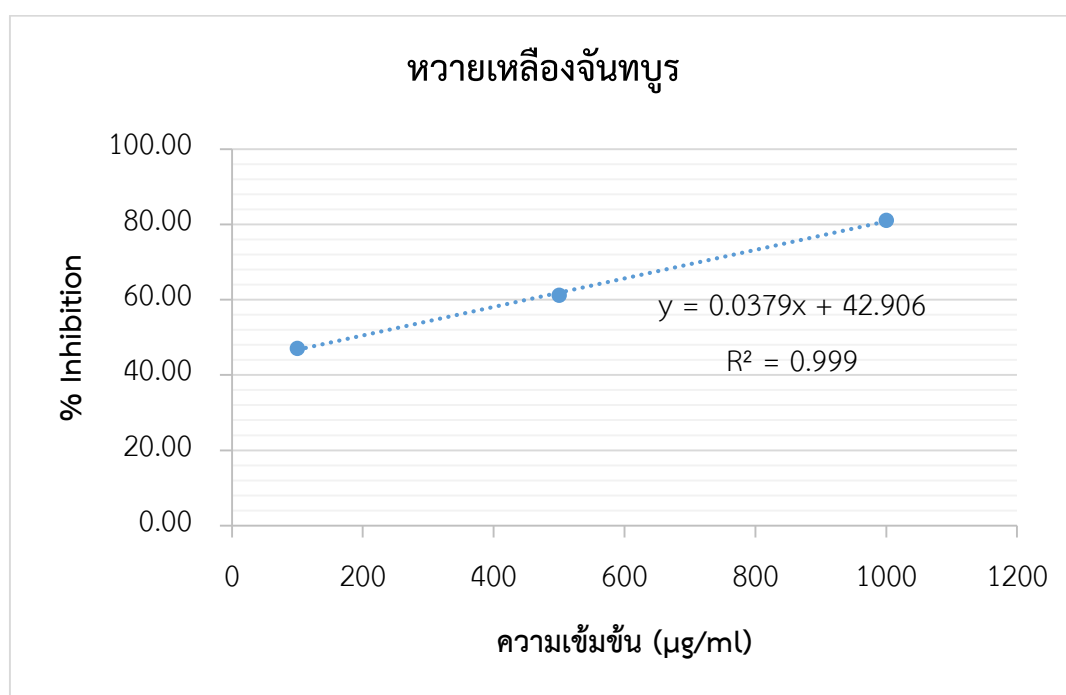
$$\text{จากสมการ } y = 0.0379x + 42.906$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0379x + 42.906$$

$$0.0379x = 7.094$$

$$x = 492.0141$$

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร = 187.1768 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวกที่ 5 กราฟสารสกัดจากหวายเหลืองจันทบูร (วิธี MTT)

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่า IC₅₀ ของสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลหวาย ด้วยวิธี MTT

สายพันธุ์	IC ₅₀ (µg/ml)			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
สายหลวง	1106.85	1050.13	1152.01	1,103.00 ± 51.05
สายไหม	443.52	395.40	342.78	393.90 ± 50.39
สายน้ำนม	1014.54	986.28	916.89	972.57 ± 50.25
หวายตะมอย	305.71	326.20	313.74	315.22 ± 10.33
สายสามสี	315.55	450.24	293.28	353.02 ± 84.93
แวมยुरา	869.89	1023.13	924.66	939.23 ± 77.65
พวงหยก	391.13	401.22	430.14	407.50 ± 20.25
หวายเหลืองจันทบูร	120.97	161.98	187.18	156.71 ± 33.42
มัจฉาเหลือง	277.04	306.23	203.75	262.34 ± 52.80
เอื้องผึ้ง	943.09	940.33	785.53	889.65 ± 90.18
จำปา	507.63	539.41	593.31	546.78 ± 43.31
เก้าแก้ว	551.52	513.31	590.66	551.83 ± 38.68
มัจฉาญ	472.75	519.27	416.52	469.51 ± 51.45
สายน้ำผึ้ง	893.32	851.73	719.97	821.67 ± 90.50
ช้างน้ำ	820.73	941.01	852.20	871.31 ± 62.38
มอนไซ	579.75	470.86	580.00	543.54 ± 62.94

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวจุฑามาศ วงศ์จักร์
เกิดเมื่อ	24 พฤศจิกายน 2535
ประวัติการศึกษา	ประถมศึกษา - โรงเรียนบ้านเวียงเดิม อ.เวียงชัย จ.เชียงราย มัธยมศึกษา - โรงเรียนดำรงราษฎร์สงเคราะห์ อ.เมือง จ.เชียงราย ปริญญาบัณฑิต - สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

