องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของเมล็ดน้อยหน่าตายพราย

Chemical Constituents and Biological Activities of Unripe Fruits Seeds of *Annona squamosa*

บุษราคัม สิงห์ชัย* และ อัจฉราพรรณ บุญสิทธิ์

Butsarakham Singchai* and Adcharapan Boonsit

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University

Received : 22 August 2017

Accepted : 11 November 2017

Published online : 20 November 2017

บทคัดย่อ

น้อยหน่าตายพรายเป็นผลน้อยหน่าที่แห้งคาต้นก่อนสุก ถูกนำไปใช้ประโยชน์น้อยมาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอด และฤทธิ์ฆ่าเหาในหลอดทดลองของสกัดเมล็ดของน้อยหน่าตายพราย สกัดเมล็ดน้อยหน่าตายพรายด้วยเฮกเซน ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดด้วยเทคนิค GC-MS ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ด้วยวิธี Rasazurin microplate assay (REMA) โดยมีอิลิปติซีน และดอกโซรูบิซิน เป็นสารควบคุมเชิงบวก และทดสอบฤทธิ์ฆ่าเหาของสารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าว 10% w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันถั่วเหลือง 10% w/w และน้ำมันเมล็ดน้อยหน่าตายพรายในน้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดน้อยหน่าตายพรายในน้ำมันถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:2 โดยมีน้ำมันเมล็ดน้อยหน่าสดในน้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดน้อยหน่าสดในน้ำมันถั่วเหลือง เป็นสารควบคุมเชิงบวกและน้ำมันมะพร้าว 100% และน้ำมันถั่วเหลือง 100% เป็นสารควบคุมเชิงลบ สถิติที่ใช้ในการวิจัยได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และการเปรียบเทียบ One-way ANOVA ด้วยเทคนิค Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 จากการวิเคราะห์ GC-MS ของสารสกัดเฮกเซนเมล็ดน้อยหน่าตายพรายมี oleic acid เป็นองค์ประกอบหลัก ปริมาณสูงที่สุดร้อยละ 50.62 รองลงมาได้แก่ ethyl oleate n-hexadecanoic acid ethyl linoleate ethyl exadecanoate toluene ethyl octadecanoate 2,3-dihydroxypropyl elaidate และ (E)- methyl- 9-octadecenoate ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml สารสกัดเฮกเซนแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดร้อยละ 76.74 ค่า killing time (KT_{50}) ของ 10%w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าว เมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันมะพร้าว (1:2) และเมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันถั่วเหลือง (1:2) ดีที่สุด เท่ากับ 46.7±2.9 53.3±2.9 และ 63.3±7.6 นาที ตามลำดับและไม่มีความแตกต่างกันแต่แตกต่างจากสารควบคุมเชิงบวกและเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

คำสำคัญ : น้อยหน่าตายพราย ฤทธิ์ทางชีวภาพ องค์ประกอบทางเคมี

***Corresponding author. E-mail** : sbung13@yahoo.com

Abstract

Unripe fruits of *Annona squamosa* Linn. were unripe before mature, and there were a few useful. This research aimed to study chemical constituents, anti-lung cancer and anti-head lice *in vitro* of extract of unripe fruit seeds of *A. squamosa* Linn. The extract was successively extracted with hexane. The study of chemical constituents was measured by GC-MS. Antitumor activity toward human small cell lung carcinoma (NCI-H187) by using Rasazurin microplate assay (REMA) method and positive controls were ellipticine and doxorubicin. Anti-head lice effect *in vitro* were tested with 10% w/w hexane extract in coconut oil, 10% w/w hexane extract in soy bean oil, seed oil of unripe fruits in coconut oil, and seed oil of unripe fruits in soy bean oil with 1:2 of rate. The seed oil of ripe fruit in coconut oil and soy bean oil were used as positive controls, but coconut oil and soy bean oil were used as negative controls. The statistics of this research were percentage, mean, standard deviation and comparison with One-way ANOVA by Ducan test at 0.05 significant. The hexane extract had major constituent as oleic acid which showed the highest quantitative value of 50.62 percentage, following ethyl oleate, n-hexadecanoic acid, ethyl linoleate, ethyl exadecanoate, toluene, ethyl octadecanoate, 2,3-dihydroxypropyl elaidate and (E)- methyl- 9 - octadecenoate, respectively, by GC-MS analysis. At concentration of 50 µg/ml, hexane extract showed high activity against NCI-H187 cell line which the value of 76.74 percentage. The killing time (KT) of head lice effect of 10% w/w hexane extract in coconut oil, seeds oil of unripe fruits in coconut oil, and seed oil of unripe fruits in soy bean oil with 1:2 of rate showed highest activities of 46.7±2.9 53.3±2.9 and 63.3±7.6 minute, respectively. They were not significantly at 0.05, but they were differently with other tests with significant of 0.05.

Keywords : Unripe fruits of *Annona squamosa*, biological activities, chemical constituents

บทนำ

น้อยหน่า (ภาพที่ 1) เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แตกกิ่งก้านสาขา เปลือกต้นเกลี้ยง สีเทาอมน้ำตาล ใบเดี่ยวรูปรี ดอกเดี่ยว ออกตามซอกใบ ห้อยลง กลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก สีเหลืองอมเขียว รูปหอก มี 6 กลีบ เรียง 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ กลีบหนาอวบน้ำ เกสรตัวผู้และรังไข่จำนวนมาก ผลเป็นผลกลุ่ม รูปกลมป้อม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 นิ้ว เปลือกผลเป็นสีเขียว ผิวขรุขระ เป็นปุ่มกลมนูนเชื่อมต่อกัน เนื้อผลสีขาว เมล็ดรูปไข่สีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม (Sansuk, 2016) นอกจากนี้น้อยหน่ายังเป็นผลไม้ประจำท้องถิ่นของบ้านบางเกตุ แต่ชาวสวนน้อยหน่ามักจะประสบปัญหาจากต้นน้อยหน่าไม่แข็งแรงทำให้ออกผลได้โตไม่เต็มที่บางผลก็เกิดแห้งคาต้นก่อนที่จะโตเต็มที่จนเก็บผลผลิตได้ (Smitinand, 2016)

น้อยหน่าในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 พันธุ์ใหญ่ๆ ได้แก่ พันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ฝ้าย และพันธุ์น้อยหน่าหนัง มีแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ นครราชสีมา ลพบุรี และสระบุรี (Naykasead, 2015) เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีเนื้อนุ่ม หอมหวาน และให้เนื้อมาก น้อยหน่าที่ปลูกโดยทั่วไปมักมีผลขนาดไม่ใหญ่มากนัก นอกจากกินเป็นผลไม้แล้ว ภูมิปัญญาไทยยังใช้ประโยชน์น้อยหน่าทางยาสมุนไพรหลายตำรับ เช่น ผล นำมาใช้ได้ทั้งผลสดที่ยังไม่สุกและผลแห้ง (หมากเขียบหลอด) ถ้าเป็นผลสดที่ยังไม่สุกจะเป็นยาแก้พิษงู แก้ฝีในคอ กลากเกลื้อน ฆ่าพยาธิ ผิวหนัง (Sansuk, 2016) ผลน้อยหน่า

ที่แห้งแข็งคาต้นนี้เรียกว่า น้อยหน่าตายพราย ลักษณะเป็นสีดำก่อนที่จะมีการสร้างน้ำตาลหรือยังเป็นผลที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งน้อยหน่าตายพรายนี้ไม่ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์มักปล่อยทิ้งไว้คาต้นจนหลุดร่วงจากต้นไปเอง ตำราพื้นบ้านที่มีการนำน้อยหน่าตายพรายไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคภายนอกเช่น โรคผิวหนัง โรคริดสีดวงทวาร เป็นต้น (Smitinand, 2016, Naykasead, 2015)

ภาพที่ 1 ผลน้อยหน่าตายพราย (ซ้าย) เมล็ดน้อยหน่าตายพราย (ขวา)

เหา (ภาพที่ 2) เป็นแมลงในกลุ่มปรสิตอาศัยอยู่บนร่างกายคนและดำรงชีวิตด้วยการกินขี้ไคลบนหนังศีรษะของคนเรา โดยเหาแต่ละชนิดจะอาศัยอยู่ในบริเวณต่าง ๆ ของร่างกาย อาทิ บนศีรษะ บนร่างกาย และบริเวณอวัยวะเพศ เหาสามารถแพร่กระจายจากคนสู่คนได้ โดยการอยู่ใกล้ชิดและคลุกคลีกับผู้ที่เป็นเหา จึงทำให้ผู้ที่เป็นเหานั้นก็มักจะถูกสังคมรังเกียจ เนื่องจากเกิดอาการคันและเป็นแผลติดเชื้อบนหนังศีรษะ นอกจากนี้เหายังวางไข่ทำให้เห็นเป็นจุดขาว ๆ ตามเส้นผม และจะไม่หลุดจากเส้นผมถึงแม้ว่าจะหายเป็นเหาแล้วก็ตาม นับว่าเป็นปัญหาหนึ่งที่เกิดกับเด็กในวัยเรียน (Siriudompas, 2016) ในทุก ๆ โรงเรียนของประเทศไทยรวมทั้งในจังหวัดเพชรบุรี พบว่าเด็กนักเรียนหญิงมีเหาจำนวนมาก และทางโรงเรียนจะดำเนินการกำจัดเหาในทุกสัปดาห์ เพื่อช่วยลดปัญหาการเกิดโรคเหาให้กับนักเรียน โดยการใช้น้อยหน่าส่วนใบสด หรือเมล็ดสดแช่ในน้ำมันก๊าดเพื่อหมักผมกำจัดเหา ทำให้เกิดอาการระคายเคือง และกลิ่นอันไม่พึงประสงค์จากตัวทำละลายดังกล่าว ในรายงานวิจัยพบว่ามีการศึกษาทั้งในน้ำมันหอมระเหย ใบ กิ่ง รากและผลของน้อยหน่าในด้านสารพฤกษเคมีต่างๆ และฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ฆ่าเหา พยาธิ ต้านเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ ผ่อนคลาย ลดเบาหวาน ต้านแบคทีเรีย ฆ่ายุง ฆ่าหอย ต้านไวรัสเริม ต้านออกซิเดชัน เป็นต้น (Ndob *et al.,* 2009, Pandey *et al.,* 2011, Chen, *et al*., 2012a, Chen, *et al*., 2012b, Kalidindi *et al*., 2015, Jayendra *et al.,* 2013, Masruri *et al.,* 2012)

ทั้งนี้ยังไม่เคยมีการศึกษาส่วนของน้อยหน่าตายพราย ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าตายพราย และฤทธิ์ทางชีวภาพของสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าตายพราย ได้แก่ฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดของสารสกัดเฮกเซน และฤทธิ์ฆ่าเหาของเมล็ดน้อยหน่าตายพรายเปรียบเทียบกับเมล็ดน้อยหน่าสดในน้ำมันพืชสองชนิดได้แก่น้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งอาจนำไปสู่การนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด ผลน้อยหน่าตายพรายถูกเก็บจากหมู่บ้านบางเกตุ ตำบลบางเก่า อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี เมื่อเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2559 พิสูจน์เอกลักษณ์พืชโดย อาจารย์ ดร.บุญสนอง ช่วยแก้ว นักพฤกษศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ตัวอย่างพืชเก็บไว้ที่หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี (PBRU075) แยกเมล็ดออกจากเปลือกผลน้อยหน่าตายพรายผึ่งลมให้แห้ง และบดให้ละเอียด แบ่งเป็นสองส่วน ส่วนแรกแช่หมักด้วยเฮกเซนเป็นเวลาสามวัน จำนวนสามครั้ง ระเหยตัวทำละลายจนหมดด้วยเครื่องระเหยลดความดัน เก็บสารสกัดไว้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ฤทธิ์ต้านมะเร็งปอด (NCI-H187) ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml และฤทธิ์ฆ่าเหาในหลอดทดลอง ส่วนที่สองนำมาสกัดด้วยน้ำมันพืชสองชนิดได้แก่น้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง โดยการแช่หมักอัตราส่วนเมล็ดพืชได้แก่เมล็ดน้อยหน่าตายพรายและเมล็ดน้อยหน่าสดต่อน้ำมันพืชในอัตรา 1:2 แช่หมักเป็นเวลา 30 นาทีแล้วกรองกากเมล็ดออกจากน้ำมันพืช จะได้น้ำมันเมล็ดน้อยหน่าตายพรายในน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันเมล็ดน้อยหน่าสดในน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง นำน้ำมันที่ได้ทดสอบฤทธิ์ฆ่าเหาต่อไป

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันในสารสกัดเฮกเซน โดยเตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้น 10 % ในเมทานอลวิเคราะห์ด้วยเครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ รุ่น HP 5890 และเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟีรุ่น HP 5972 ตรวจวัดด้วย Mass Selective Detector และ ใช้สภาวะการทดสอบดังนี้ อุณหภูมิของ injector 240 °C ใช้แก๊สฮีเลี่ยมเป็นแก๊สพา (He carrier) อัตราการพา (flow rate) 1.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิเริ่มต้น 60 °C 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 10 °C/นาที จนถึงอุณหภูมิ 250 °C คงที่เป็นเวลา 10 นาที สัดส่วนมวลต่อประจุ (m/z) เท่ากับ 30-500 คอลัมน์ (Column) ชนิด HP-5MS 5 % phenyl methyl silox ยาว 30 m เส้นผ่านศูนย์กลาง 250 µm หนา 0.25 µm ตรวจชนิดองค์ประกอบที่แยกได้จากเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟโดยใช้เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ที่ต่ออยู่กับเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟ (Gas Chrmatograph / Mass Spectrometer, GC/MS) โดย ใช้พลังงานในการทำให้เป็นอิออน 70 อิเล็คตรอนโวลต์ แล้วเปรียบเทียบแมสสเปคโตรแกรมขององค์ประกอบที่แยกได้แต่ละชนิดกับแมสสเปคโตรแกรมของสารมาตรฐานที่มีอยู่ในฐานข้อมูล (NIST library) (Masruri *et al*., 2012)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) โดยห้องปฏิบัติการตรวจหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ ด้วยวิธี Rasazurin microplate assay (REMA) (Brien *et al*., 2000) ดังนี้ บ่มเชื้อมะเร็งในอาหาร (complete medium, RPMI-1640 Supplemented) ที่ประกอบด้วย 15% heat-inactivated fetal bovine serum, 1 mM sodium pyruvate, 2.5 g/L Glucose and 2.2 g/L sodium bicarbonate) ที่สภาวะ 37 °C 5% CO_2 นำเซลล์มะเร็งจำนวน $6.7x10^4$ cells ลงในจานเลี้ยงเชื้อชนิด 384-well เติมสารสกัด 5 µl เติม cell suspension 45 µl บ่มที่ 37 °C 5% CO_2 เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นเติม 0.0625 mg/ml สารละลาย resazurin แล้วบ่มที่ 37 °C 5% CO_2 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วัดค่าการเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm พลังงานกระตุ้นและที่ความยาวคลื่น 590 nm สำหรับการถ่ายเทพลังงาน โดยอาศัย bottom-reading mode ของเครื่อง SOFT Max fluorometer (Molecula Devices, USA) ทำการทดลองสองซ้ำ และคำนวณค่าการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งดังสมการต่อไปนี้

% การรอดของเซลล์มะเร็ง= $(FU_T/FU_C)X100$

เมื่อ FU_T and FU_C คือค่าเฉลี่ยของการเรืองแสงแต่ละหลุมของเซลล์เมื่อเติมสารสกัดหรือสารควบคุมเชิงบวกและสารควบคุมเชิงลบตามลำดับ

4. การทดสอบฤทธิ์ฆ่าเหา ใช้วิธีการเดียวกับ Intaranongpai *et al*., 2006 เก็บเหาจากเด็กนักเรียนในโรงเรียน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี และนำมาทำการทดลองทันที โดยนำกระดาษกรองวางลงไปบนจานเพาะเชื้อ นำสารตัวอย่างที่เตรียมไว้อย่างละ 0.5 มิลลิลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง นำตัวเหาใส่ลงไปจานละ 7 ตัวขนาดเท่าๆ กัน จับเวลานับจำนวนตัวเหาทุก ๆ 5 นาที จนกว่าเหาจะตายหมด แล้วนำผลที่ได้ทั้งหมดมาเปรียบเทียบกัน โดยมีถาดน้ำมันมะพร้าว 100% น้ำมันถั่วเหลือง 100% เป็นสารควบคุมเชิงลบและเมล็ดน้อยหน่าสุกในน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง อัตราส่วน 1:2 เป็นสารควบคุมเชิงบวก ทำการทดลองสามซ้ำ

5. สถิติที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่า S.D และการเปรียบเทียบ Ducan ที่ระดับความเชื่อ 0.05

ภาพที่ 2 เหาที่ใช้ในการทดลอง

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

เนื่องจากสารสกัดเฮกเซนมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก ร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดต่อน้ำหนักพืชแห้งเท่ากับ 19.3 ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงศึกษาองค์ประกอบหลักด้วย GC-MS พบว่าสารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าตายพรายประกอบด้วย oleic acid ปริมาณสูงที่สุดร้อยละ 50.62 (ตารางที่ 1) รองลงมาได้แก่ ethyl oleate ร้อยละ 15.35 n-hexadecanoic acid ร้อยละ 14.28 ethyl linoleate ร้อยละ 6.69 ethyl exadecanoate ร้อยละ 3.33 toluene ร้อยละ 2.83 ethyl octadecanoate ร้อยละ 2.75 2,3-dihydroxypropyl elaidate ร้อยละ 1.20 และ (E)- methyl 9-octadecenoate ร้อยละ 0.57 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดของเมล็ดน้อยหน่าตายพรายและเมล็ดน้อยหน่าสด

สารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าตายพราย		
RT	**ชนิดสาร**	**ร้อยละ**
2.807	toluene	2.83
18.42	n-hexadecanoic acid	14.28
18.677	ethyl hexadecanoate	3.33
19.697	(E)-methyl hexadec-9-enoate	0.57
20.207	oleic acid	50.62
20.275	ethyl linoleate	6.69
20.324	ethyl oleate	15.35
20.532	ethyl octadecanoate	2.75
26.904	2,3-dihydroxypropyl elaidate	1.20

* ข้อมูลจาก Masruri *et al.,* 2012

จากรายงานการวิจัยของ Masruri และคณะ พบว่าสารสกัดไดเอทิลอีเทอร์ของเมล็ดน้อยหน่าสด มีองค์ประกอบหลัก ethyl hexadec-9-enoate ร้อยละ 57.4 และสารอื่นๆอีกได้แก่ ethyl hexadecanoate ร้อยละ 14.9 ethyl octadecanoate ร้อยละ 9.36 octadec-9-enaldehyde ร้อยละ 7.67 2-hydroxy-1,3-propanediyl hexadecanoate ร้อยละ 1.32 และ2,6-di-*tert*-butyl-3,5-bis(3-methylbut-2-en-1-yl) phenol ร้อยละ 1.21 ตามลำดับ จะเห็นว่าสาร ethyl hexadecanoate เป็นองค์ประกอบที่เหมือนกับในการวิจัยครั้งนี้ ส่วนการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดน้อยหน่าสด ของ Intaranongpai และคณะ (Intaranongpai *et al.,* 2013) พบว่าสารสกัดเฮกเซนที่ถูกนำมาแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตรกราฟีจะมีองค์ประกอบหลักเป็นสาร oleic acid ร้อยละ 51.6 จะเห็นได้ว่ามีปริมาณใกล้เคียงกันมากกับสารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าตายพรายที่ศึกษาในการวิจัยนี้

ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเซลล์มะเร็ง (ตารางที่ 2) พบว่าสารสกัดเฮกเซนแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด ร้อยละ 76.74 ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml นอกจากการวิจัยครั้งนี้แล้วยังมีการรายงานการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าสดโดย Chen et al., 2012b พบว่าสารสกัดเอทิลแอซีเตทของเมล็ดน้อยหน่าสดแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งปอดและ มะเร็งปากมดลูก ด้วยค่า IC_{50} 0.25 0.36 3.2 และ 13.0 µg/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ร้อยละการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ของสารสกัดเฮกเซนเมล็ดน้อยหน่าตายพราย

สารทดสอบ	**ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ** (µg/ml)	**%การยับยั้ง**
สารสกัดเฮกเซน	50.00	76.74±2.62
อิลิปติซิน	8.00	99.54±0.50
ดอกโซรูบิซิน	0.80	88.78±1.70

การศึกษาฤทธิ์ฆ่าเหาของสารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าวความเข้มข้น 10%w/w และการสกัดน้ำมันจากเมล็ดด้วยมันมะพร้าวในอัตราส่วน 1:2 ของเมล็ดพืชแห้งกับน้ำมันพืช (ตารางที่ 3) ผลการทดสอบพบว่า ค่า killing time (KT) ของ 10%w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าว สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันมะพร้าว (1:2) และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันถั่วเหลือง (1:2) ดีที่สุด โดยค่า KT เท่ากับ 46.7±2.9 53.3±2.9 และ 63.3±7.6 นาที ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 จะเห็นได้ว่าสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าตายพรายที่สกัดด้วยตัวทำละลายและที่สกัดด้วยน้ำมันพืชแสดงฤทธิ์ที่ดีกว่าเมล็ดน้อยหน่าสุก แต่ในรายงานการศึกษาผลของ Intaranongpai *et al*., 2006 นั้นพบว่าสารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าสุกในน้ำมันมะพร้าว (1:2) มีฤทธิ์ในการฆ่า โดยแสดงค่า Killing time ที่ 34.33±4.04 นาที และน้ำมันมะพร้าว 100% แสดงค่า KT มากกว่า 180 นาที (Intaranongpai *et al.,* 2006) ซึ่งสารสกัดเฮกเซนของเมล็ดน้อยหน่าสดในน้ำมันมะพร้าว มีฤทธิ์ใกล้เคียงกับการวิจัยในครั้งนี้ ส่วนเมล็ดน้อยหน่าสุกต่อน้ำมันมะพร้าว (1:2) และเมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันถั่วเหลือง (1:2) แสดงฤทธิ์ฆ่าเหาด้วยค่า KT เท่ากับ 53.3±2.9 และ133.3±2.9 นาที ตามลำดับ แสดงว่าการสกัดน้ำมันจากเมล็ดน้อยหน่าสดด้วยน้ำมันมะพร้าวดีกว่าน้ำมันถั่วเหลือง ส่วนน้ำมันมะพร้าว 100% และน้ำมันถั่วเหลือง 100% แสดงฤทธิ์ ฆ่าเหาด้วยค่า KT เท่ากับ 450.0±30 และ141.7±2.9 นาที ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้ทำให้เราสามารถประยุกต์นำเมล็ดน้อยหน่าตายพรายที่ไม่ใช้ประโยชน์หรือในช่วงระยะเวลานอกฤดูของผลน้อยหน่าสุก มาใช้ประโยชน์ทดแทนกัน และนำน้ำมันถั่วเหลืองในครัวเรืองมาใช้แทนน้ำมันมะพร้าวในการสกัดสารจากน้อยหน่าเพื่อฆ่าเหาได้ เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวหายากและราคาแพงกว่า ประโยชน์จากการวิจัยนี้อาจนำไปสู่การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่สะดวกในการนำมาประยุกต์ใช้ได้

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ฆ่าเหาของเมล็ดน้อยหน่า

สารทดสอบ	**KT ±SD (นาที)***
น้ำมันมะพร้าว 100%	450.0±30[a]
10%w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าว	46.7±2.9[b]
เมล็ดน้อยหน่าตายพราย:น้ำมันมะพร้าว (1:2)	53.3±2.9[b]
เมล็ดน้อยหน่าสุก:น้ำมันมะพร้าว (1:2)	78.3±2.9[c]
น้ำมันถั่วเหลือง 100%	141.7±2.9[d]
10%w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันถั่วเหลือง	103.3±2.9[e]
เมล็ดน้อยหน่าตายพราย:น้ำมันถั่วเหลือง (1:2)	63.3±7.6[bc]
เมล็ดน้อยหน่าสุก:น้ำมันถั่วเหลือง (1:2)	133.3±2.9[d]

*อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดน้อยหน่าตายพรายมีองค์ประกอบหลัก oleic acid ปริมาณสูงที่สุดร้อยละ 50.62 รองลงมาได้แก่ ethyl oleate n-hexadecanoic acid ethyl linoleate ethyl exadecanoate toluene ethyl octadecanoate 2,3-dihydroxypropyl elaidate และ (E)- methyl 9-octadecenoate ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml สารสกัดเฮกเซนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) สูง ร้อยละ 76.74 ส่วนค่า killing time (KT) ของ 10%w/w สารสกัดเฮกเซนในน้ำมันมะพร้าวและเมล็ดน้อยหน่าตายพรายต่อน้ำมันถั่วเหลือง (1:2) ดีที่สุด KT เท่ากับ 46.7±2.9 และ 63.3±7.6 นาที ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณครูและนักเรียนโรงเรียนสุวรรณรังสฤษฎ์วิทยาลัย อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บรวบรวมเหา และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการตรวจหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพที่เอื้อเฟื้อการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด

เอกสารอ้างอิง

Brien,J. O., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F. (2000). Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem., 267*, 5421-6.

Chen, Y., Chen, J., Wang, Y., Xu S., Li. X. (2012a). Six cytotoxic annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* seeds. *Food Chem., 135*, 960–966.

Chen, Y. Xu, S. Chen, J. Wang, Y. Xu, H. Fan, N. Li X. (2012b). Anti-tumor activity of *Annona squamosa* seeds extract containing annonaceous acetogenin compounds. *J Ethnopharmacol., 142*, 462–466.

Intaranongpai, J., Chavasiri W. and Gritsanapan. W. (2006). Antil-head lice effect of *Annona squamosa* seeds. *Southeast Asian J Trop Med Public Health., 37*(3), 532-535.

Jayendra, and Kumar Y. (2 0 1 3). New compound 6,7-dimethoxy-2-methylisoquinolinium from Indian medicinal plant *Annona squamosa* L. ijcas., *4*,161-168.

Masruri, Sharma, M., Warsito, and Adi, P. (2012). Renewable oil extracted from Indonesian Srikaya's (*Annona squamosa* sp.) seed: another potent source for biodiesel. *J. Pure App. Chem. Res., 1* (1), 51-57.

Naykasead. (2015). Nouyhnataipraykupsuppakuldeedee. Thairath. 12 October, 2015. (in Thai)

Ndob, I.B. ba, Champy, P., Gleye, C., Lewin, G. and Akendengue, B. (2009). Annonaceous acetogenins: Precursors from the seeds of *Annona squamosa*. *Phytochemistry Letters*. 272–76.

Pandey, N. and Barve D. (2011). Phytochemical and Pharmacological Review on *Annona squamosa* Linn. *IJRPBS., 2*(4). 1404-1412.

Sansuk, M. (2016). Nouyhnapunmaiphaykaeykasead 2. Bangkok. Ypsee group. (in Thai)

Siriudompas, S. (2016). Houlaeloan. Bangkok. Rangsit University. (in Thai)

Smitinand, T. (2016). Thai plant names (botanical names-vernacular names) revised edition. Bangkok. The forest Herbarium, Royal Forest Department. (in Thai)