องค์ประกอบที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิด KB จากเอื้องคำฝอย

Cytotoxic Constituents Against KB Cells from *Dendrobium brymerianum*

พรพรหม คล่องคำนวณการ (Pornprom Klongkumnuankarn)* บุญชู ศรีตุลารักษ์ (Boonchoo Sritularak)**
กิตติศักดิ์ ลิขิตวิทยาวุฒิ (Kittisak Likhitwitayawuid)***

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาเพื่อสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากเอื้องคำฝอย วงศ์กล้วยไม้ และประเมินฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิด KB ของสารสกัดที่แยกได้ ทำการศึกษาโดยการแยกสารจากสิ่งสกัดหยาบในชั้นเมทานอล แล้วพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปี (NMR, MS) ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลที่เคยมีรายงานมาก่อน โดยสามารถแยกได้ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ moscatilin, flavanthrinin และ lusianthridin เมื่อนำสารทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิด KB พบว่า moscatilin มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งแรงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นที่สามารถทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ 50% (IC_{50}) คือ 2.62 μM ขณะที่ flavanthrinin และ lusianthridin มีฤทธิ์ปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} 79.67 และ 44.50 μM ตามลำดับ โดยใช้ ellipticine (IC_{50} 5.00 μM) และ doxorubicin (IC_{50} 1.44 μM) เป็นชุดควบคุมผลบวก

ABSTRACT

The aims of the present study were to isolate active compounds from *Dendrobium brymerianum* (Orchidaceae), and to investigate cytotoxic activity against KB oral cavity cancer cell line. Phytochemical study of the methanol extract prepared from the whole part of *Dendrobium brymerianum* led to the isolation of three known compounds which are moscatilin, flavanthrinin and lusianthridin. Their structure determination was conducted by spectroscopic analysis (NMR, MS) and comparison the findings with previously reported data. These compounds were evaluated for cytotoxic activity against KB oral cavity cancer cell line. Moscatilin exhibited the strongest cytotoxic effect with IC_{50} 2.62 μM, whereas flavanthrinin and lusianthridin showed moderate activity with IC_{50} 79.67 and 44.50 μM, respectively. Ellipticine (IC_{50} 5.00 μM) and Doxorubicin (IC_{50} 1.44 μM) were used as a positive control.

คำสำคัญ: เอื้องคำฝอย ฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ ฟีแนนทรีน

Key Words: *Dendrobium brymerianum*, Cytotoxic activity, Phenanthrene

* *นิสิต หลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

** *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

*** *ศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

บทนำ

มะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากการแบ่งตัวอย่างผิดปกติของเซลล์ ทำให้เซลล์มีจำนวนมากและอัดตัวกันอย่างหนาแน่นเป็นก้อนเนื้องอก ส่งผลให้เกิดการขาดอาหารไปเลี้ยงเซลล์เนื่องจากมีเลือดไหลเวียนไม่เพียงพอ ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณนั้นตาย นอกจากนี้แล้วเซลล์มะเร็งยังสามารถลุกลามไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียงและแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ ได้ จากการสำรวจข้อมูลประชากรไทยพบว่า ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2550-2554 มะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของประเทศและคาดว่าอัตราการตายจากมะเร็งยังคงสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องไปในอนาคต (กระทรวงสาธารณสุข, 2554)

ปัจจุบัน การรักษามะเร็งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การผ่าตัด การฉายรังสี การใช้ฮอร์โมน การเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย และการใช้ยารักษาหรือที่เรียกว่า เคมีบำบัด โดยยาที่ดีควรมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้อย่างจำเพาะ มีประสิทธิภาพในการรักษาสูงและมีอาการข้างเคียงหรือความเป็นพิษต่ำ การใช้ยารักษามะเร็งส่วนใหญ่เป็นการใช้ยาหลายตัวร่วมกัน โดยควรเลือกยาที่มีกลไกการทำงานแตกต่างกันเพื่อเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่า ยามะเร็งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายนั้น ส่วนหนึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น ยาในกลุ่ม vinca alkaloids ได้แก่ vincristine และ vinblastine จากต้นแพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus*) และยาในกลุ่ม alkaloid ester ได้แก่ paclitaxel (Taxol®) จากเปลือกของต้น yew ในสกุล *Taxus* โดยยาทั้งสองกลุ่มนี้ มีกลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบจำเพาะต่อระยะหนึ่งของวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle specific) รบกวนการแบ่งตัวของเซลล์ รูปแบบที่ใช้เป็นยาฉีดเข้าเส้นเลือด (คณาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา, 2552) จึงมีความเป็นไปได้ว่า ในธรรมชาติน่าจะยังมีสารจากพืชชนิดอื่นๆที่มีศักยภาพพอในการที่จะพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งได้ต่อไป

จะเห็นได้ว่าตั้งแต่อดีต มนุษย์ใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเฉพาะที่ได้จากพืชในการรักษาโรคและบรรเทาความเจ็บป่วยต่างๆมากมาย สารสกัดจากพืชหลายชนิดแสดงสรรพคุณในด้านต่างๆที่น่าสนใจ หนึ่งในนั้น ได้แก่ สารสกัดที่ได้จากกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* spp.) วงศ์ Orchidaceae ที่พบกระจายอยู่ทั่วไปทั้งในทวีปเอเชียและทวีปออสเตรเลีย โดยมีจำนวนมากกว่า 1,100 ชนิดทั่วโลก (Yang et al., 2006) ที่พบในประเทศไทยมีมากกว่า 150 ชนิด (เต็ม, 2544) การใช้ประโยชน์ของพืชสกุลนี้นอกจากเป็นไม้ประดับเพื่อความสวยงามแล้ว ยังได้มีการนำส่วนต่างๆมาใช้ทางยาอีกด้วย ซึ่งประเทศจีน ถือเป็นประเทศแรกที่มีหลักฐานแสดงถึงการเพาะปลูกกล้วยไม้และบรรยายถึงการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร ตำรับสมุนไพรของกล้วยไม้สกุลหวายที่รู้จักกันดีคือ สือ-หู (Shi-Hu) ประกอบด้วย *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)

เอื้องคำฝอย (*Dendrobium brymerianum* Rchb. f.) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีชื่ออื่นคือ เอื้องคำฝอยปาย ในประเทศไทยพบได้ตามป่าผลัดใบและป่าดิบ ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะทั่วไป เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นเป็นแท่งรียาว ป่องตรงกลางลำ ใบรูปรีแกมขอบขนาน มี 2-6 ใบต่อหนึ่งส่วนของลำต้น กว้าง 1.5-2.5 ซม. ยาว 10-15 ซม. ดอกสีเหลืองทอง ออกเป็นช่อจากใบ มี 1-3 ดอก ขนาดดอกบานกว้าง 3-5 ซม. กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ ขอบกลีบปากเป็นเส้นฝอยและแตกแขนงออกดอกช่วงเดือนสิงหาคม (Vaddhanaphuti, 2005)

เมื่อนำสิ่งสกัดในชั้นเมทานอลของเอื้องคำฝอยทั้งต้นมาทดสอบฤทธิ์ พบว่า สารสกัดในชั้นเมทานอลของเอื้องคำฝอยมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิด KB โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 70% ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL และจากการค้นคว้า

และรวบรวมข้อมูลการวิจัยพบว่ายังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับสารสำคัญและการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชต้นนี้มาก่อน จึงมีความสนใจทำวิจัยเพื่อสกัดแยกสารบริสุทธิ์และศึกษาฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ของเอื้องคำฝอย โดยงานวิจัยนี้น่าจะนำไปสู่การค้นพบสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งและมีสูตรโครงสร้างที่น่าสนใจ ซึ่งอาจมีบทบาทในการพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพทางการรักษา และข้อมูลที่ได้ยังเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาเคมีอนุกรมวิธาน (chemotaxonomy) ของพืชสกุล *Dendrobium* ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. สกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นเอื้องคำฝอย (*Dendrobium brymerianum*)
2. พิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้
3. ทดสอบฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่แยกได้

วิธีการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างพืช เอื้องคำฝอยได้จากสวนจตุจักร กรุงเทพมหานคร พิสูจน์เอกลักษณ์โดย รศ. ธาตรี ผดุงเจริญ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย ร่วมกับตรวจสอบความถูกต้องในหนังสือ A Field Guide to the Wild Orchids of Thailand (Vaddhanaphuti, 2005) และเก็บตัวอย่างพืชแห้งไว้ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การสกัดและแยกสารให้บริสุทธิ์ (โปรดดูในรูปที่ 1)

3. ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาหาสูตรโครงสร้างทางเคมีโดยเทคนิคสเปกโตรสโคปี ได้แก่ Mass spectrometry (MS) โดยเครื่องมือ ESI Mass Spectrometer ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และ Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy โดยเครื่องมือ Bruker Avance DPX-300 FT-NMR spectrometer คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลประกอบกันระหว่าง ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy ก็จะทำให้ทราบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

4. การทดสอบฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ ทำในหลอดทดลอง โดยเป็นการคัดกรองสารเบื้องต้นเพื่อหาสารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็ง โดยผู้วิจัยนำส่งสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่างไปตรวจฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ที่ห้องปฏิบัติการตรวจหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (Bioassay Laboratory, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) จากนั้นแยกสารสกัดหยาบออกเป็น fraction และนำแต่ละ fraction ไปตรวจหาฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์อีกครั้ง นำ fraction ที่มีฤทธิ์ดีมาแยกจนได้สารบริสุทธิ์ หลังจากพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีเรียบร้อยแล้วก็นำสารบริสุทธิ์ที่ได้ไปตรวจสอบหาฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์อีกครั้งโดยผลการทดลองที่ได้จะแสดงออกมาในรูปค่า IC_{50}

การทดสอบการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งใช้วิธีทดสอบคือ Resazurin microplate assay (REMA) มีสารควบคุมผลบวก คือ ellipticine และ doxorubicin และ สารควบคุมผลลบ คือ 0.5% DMSO ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง คือ 50 μg/mL ทำการทดลองโดยใช้ cell line ของเซลล์มะเร็งในมนุษย์ ได้แก่ KB cell line (epidermoid carcinoma of oral cavity, ATCC CCL-17) และใช้วิธีทดสอบตามที่เคยรายงานไว้ก่อนหน้านี้ของ O'Brien และคณะในปี ค.ศ. 2000 (O'Brien et al., 2000) โดยมีวิธีการสังเขปดังนี้

1. นำเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตในระยะ logarithm มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ (7×10^{4} cell/mL) ในอาหารใหม่

2. นำตัวอย่างปริมาตร 5 μL ที่ละลายใน 5% DMSO และนำเซลล์ปริมาตร 45 μL เติมลงในหลุมทดลองขนาด 384 หลุมต่อ plate บ่มที่อุณหภูมิ 37° C มี CO_2 เข้มข้น 5%

3. หลังจากบ่มเป็นเวลา 3 วัน เติมสาร resazurin ความเข้มข้น 62.5 µg/mL ปริมาตร 12.5 µL ลงไปในแต่ละหลุมและนำ plate ไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

4. วัดสัญญาณการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์โดยใช้เครื่อง SpectraMax M5 multi-detection microplate reader (Molecular Devices, USA) โดยใช้ความยาวคลื่นการกระตุ้น (excitation) และการปลดปล่อย (emission) เท่ากับ 530 และ 590 nm ตามลำดับโดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตสามารถคำนวณได้ตามสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = [1-(FU_T/FU_C)] \times 100$$

เมื่อ FU_T และ FU_C คือ ค่าเฉลี่ยของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์จากสภาวะที่เติมและไม่ได้เติมสารทดสอบตามลำดับ กราฟการตอบสนองต่อขนาดสารที่ให้ (Dose response curve) สามารถทำได้จากการเตรียมสารตัวอย่าง 6 ความเข้มข้นโดยการเจือจางสารตัวอย่างทดสอบสองเท่าและค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50% หรือค่า IC_{50} สามารถคำนวณได้จากการใช้โปรแกรม SOFTMax Pro software (Molecular Devices, USA)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเอื้องคำฝอยโดยใช้เทคนิคทาง chromatography ได้แก่ column chromatography และ gel filtration chromatography นั้น สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 3 ชนิด คือ moscatilin (**1**), flavanthrinin (**2**) และ lusianthridin (**3**) ตามลำดับ ดังแสดงโครงสร้างในรูปที่ 2

สาร **1**: (moscatilin) มีลักษณะเป็นผลึกสีน้ำตาลละลายได้ใน acetone มีสูตรโมเลกุล $C_{17}H_{20}O_5$ ESI-MS มี pseudomolecular ion $[M+H]^+$ *m/z* 305 ^{1}H NMR (500 MHz, acetone-d_6) δ: 2.78 (4H, m, H_2-α , H_2-α′), 3.75 (6H, s, MeO-3, MeO-5), 3.76 (3H, s, MeO-3′), 6.48 (2H,s, H-2,6), 6.64 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6′), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5′), 6.78 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2′); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone-d_6) δ: 38.3 (C-α′), 38.8 (C-α), 56.1 (MeO-3′), 56.5 (MeO-3, MeO-5), 106.7 (C-2, C-6), 112.9 (C-2′), 115.4 (C-5′), 121.6 (C-6′), 133.1 (C-1), 134.1 (C-1′), 134.8 (C-4), 145.3 (C-4′), 147.9 (C-3′), 148.3 (C-3,5) (Majumder and Sen, 1987)

สาร **2**: (flavanthrinin) มีลักษณะเป็นผลึกสีน้ำตาลละลายได้ใน acetone มีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{12}O_3$ ESI-MS มี pseudomolecular ion $[M+H]^+$ *m/z* 241 ^{1}H NMR (500 MHz, acetone-d_6) δ: 4.15 (3H, s, MeO-4), 6.98 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-3), 7.06 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-1), 7.08 (1H, dd, *J* = 7.5, 2.5 Hz, H-6), 7.40 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-8), 7.42 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.49 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-10), 7.62 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone-d_6) δ: 58.5 (MeO-4), 102.5 (C-3), 107.7 (C-1), 114.0 (C-4a), 116.9 (C-6), 119.9 (C-4b), 121.0 (C-8), 126.9 (C-10), 127.4 (C-5), 129.7 (C-9), 134.9 (C-8a), 137.0 (C-10a), 155.2 (C-7), 156.3 (C-2), 157.3 (C-4) (Zhang et al., 2008)

สาร **3**: (lusianthridin) มีลักษณะเป็นผลึกสีน้ำตาลละลายได้ใน acetone มีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{14}O_3$ ESI-MS มี pseudomolecular ion $[M+H]^+$ *m/z* 243 ^{1}H NMR (500 MHz, acetone-d_6) δ: 3.72 (3H, s, MeO-2), 6.36 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-1), 6.42 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-3), 6.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, H-6), 6.70 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-8), 8.22 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone-d_6) δ: 30.6 (C-9), 31.4 (C-10), 55.2 (MeO-2), 101.5 (C-3), 105.8 (C-1), 113.4 (C-6), 114.9 (C-8), 115.7 (C-4a), 125.8 (C-4b), 129.8 (C-5), 139.7 (C-8a), 141.3 (C-10a), 155.8 (C-4), 155.9 (C-7), 159.2 (C-2) (Guo et al., 2007)

จากการพิสูจน์โครงสร้าง ทำให้สามารถจำแนกสารทั้งสามออกได้ดังนี้ สารกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ moscatilin (**1**) สารกลุ่ม phenanthrene ได้แก่ flavanthrinin (**2**) และสารกลุ่ม dihydrophenanthrene ได้แก่ lusianthrinin (**3**) เมื่อนำสารบริสุทธิ์ดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิด KB พบว่า สารทั้ง 3 ชนิดที่แยกได้ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งในช่องปากชนิด KB โดยที่ความเข้มข้น 50 µg/mL ของ moscatilin (**1**), flavanthrinin (**2**) และ lusianthridin (**3**) นั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ 71.05% , 98.30% และ 84.80% ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อนำมาคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50% (IC_{50}) พบว่า moscatilin (**1**) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} 2.62 µM โดยมีฤทธิ์แรงกว่า ellipticine ที่ใช้เป็นสารควบคุมผลบวกที่มี IC_{50} 5.0 µM และมีค่าใกล้เคียงกับ doxorubicin ที่มีค่า IC_{50} 1.44 µM ส่วน flavanthrinin (**2**) และ lusianthridin (**3**) นั้นมีฤทธิ์ปานกลางโดยมีค่า IC_{50} 79.67 และ 44.50 µM ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 จากการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า moscatilin (**1**) มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งชนิดนี้มากกว่าสารอีก 2 ชนิด

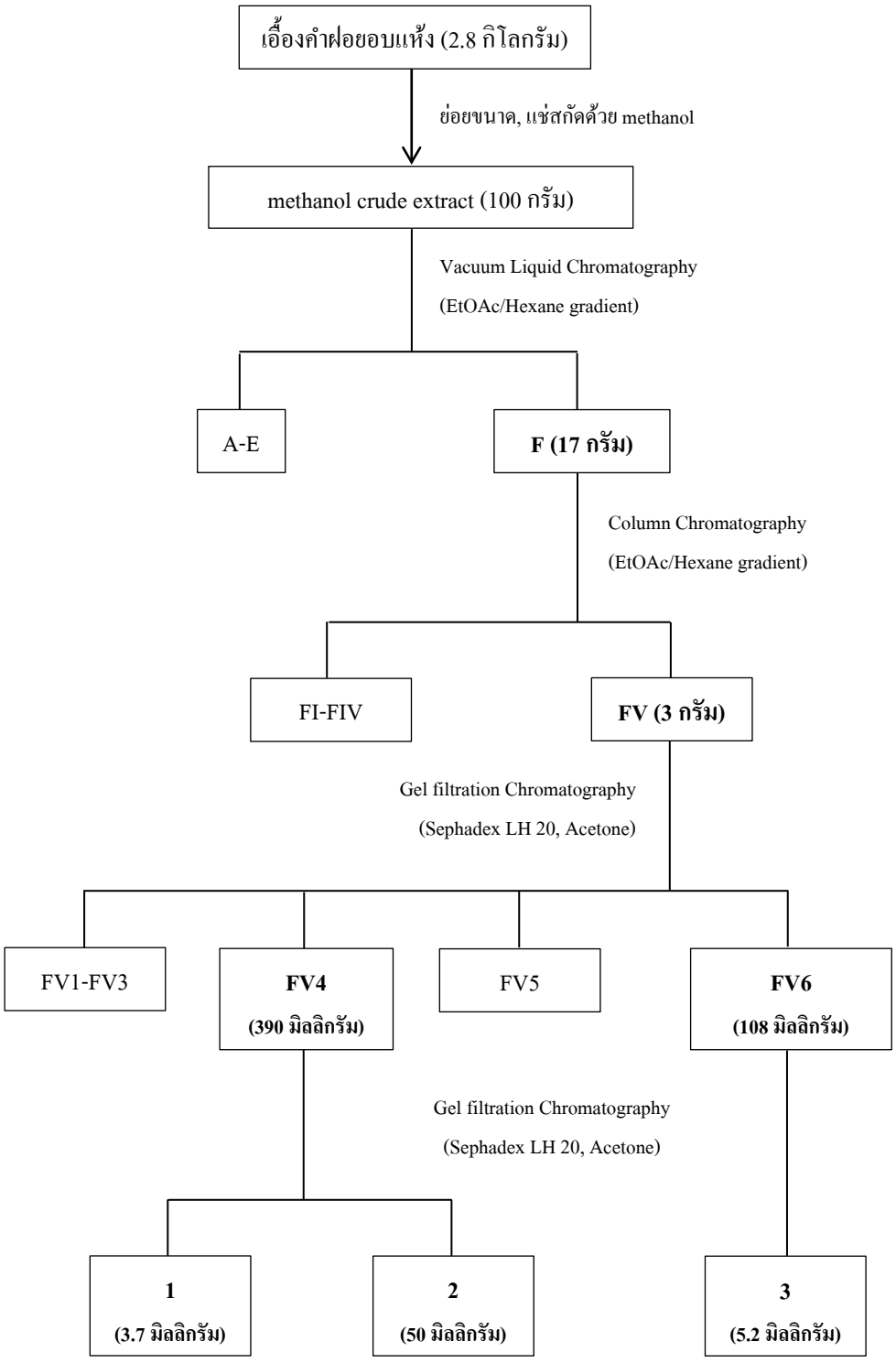
ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ น่าจะสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเป็นแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรชนิดนี้เป็นสารต้านมะเร็งเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่แยกได้จากเอื้องคำฝอย

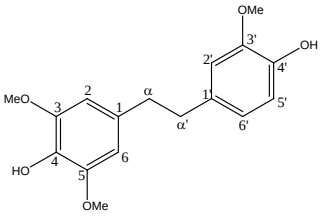
ชื่อสาร (ความเข้มข้น)	**% Inhibition**	**IC_{50} (µM)**
Moscatilin (**1**) (50 µg/mL)	71.05 %	2.62
Flavanthrinin (**2**) (50 µg/mL)	98.30 %	79.67
Lusianthridin (**3**) (50 µg/mL)	84.80 %	44.50
Ellipticine (5 µg/mL)	93.95 %	5.00
Doxorubicin (5 µg/mL)	67.16 %	1.44

กิตติกรรมประกาศ

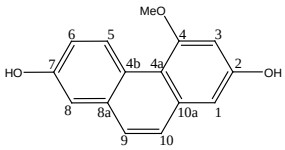
ขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิจัยทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอบคุณ รศ.ธาตรี ผดุงเจริญ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเอื้องคำฝอย ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตในการทำวิจัยครั้งนี้



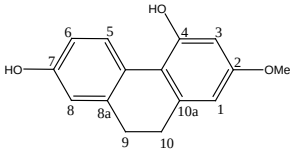
รูปที่ 1 ขั้นตอนการแยกสกัดจนได้สารบริสุทธิ์จากเอื้องคำฝอย



Moscatilin (**1**)



Flavanthrinin (**2**)



Lusianthridin (**3**)

รูปที่ 2 โครงสร้างของสารที่แยกได้จากเอื้องคำฝอย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มภารกิจด้านข้อมูลข่าวสารสุขภาพ สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. 10 ลำดับการตาย ปี 2550-2554. ค้นเมื่อ 30 สิงหาคม 2556, จาก http://bps.ops.moph.go.th/Healthinformation/index.htm.

คณาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา. 2552. เภสัชวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สวนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.

Guo, XY., Wang, J., Wang, NL., *et al*. 2007. 9,10-Dihydrophenanthrene derivatives from *Pholidota yunnanensis* and scavenging activity on DPPH free radical. Journal of Asian Natural Products Research. 9:165-174.

Hossain, MM. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances-An overview. Fitoterapia. 82: 102-140.

Majumder, PL., and Sen, RC. 1987. Moscatilin, a bibenzyl derivative from the orchid *Dendrobium moscatum*. Phytochemistry. 26: 2121-2124.

O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., and Pognan, F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. European Journal of Biochemistry. 267: 5421-5426.

Vaddhanaphuti, N. 2005. A Field Guide to the Wild Orchids of Thailand. Fourth and expanded edition. Bangkok: O.S.Printing House.

Yang, L., Wang, Z., and Xu, L. 2006. Simultaneous determination of phenols (bibenzyl, phenanthrene, and fluorenone) in *Dendrobium* species by high-performance liquid chromatography with diode array detection. Journal of Chromatography A. 1104: 230-237.

Zhang, X., Xu, JK., Wang. NL., *et al*. 2008. Antioxidant phenanthrenes and lignans from *Dendrobium nobile*. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences. 17:314-318.