บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากมายหลายชนิดที่นำมาใช้ในคน ที่มีส่วนประกอบที่ได้จากสารสกัดพืชสมุนไพร ดังนั้นความปลอดภัยในการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาใช้ในคนจึงเป็นเรื่องสำคัญ จึงต้องมีวิธีการทดสอบคุณสมบัติของสารเหล่านั้นเพื่อความปลอดภัยโดยเฉพาะการทดสอบความเป็นพิษของสารซึ่งมีความสำคัญมาก ในการทดสอบความเป็นพิษของสารมีหลายวิธี เช่น การทดสอบโดยใช้สัตว์ทดลอง การทดสอบโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง เป็นต้น การนำเซลล์ของคนมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองเพื่อใช้ทดสอบคุณสมบัติของสารหรือความเป็นพิษของสาร เป็นวิธีที่ปัจจุบันเลือกใช้ทดสอบ มากกว่าที่จะทดสอบในสัตว์ทดลอง เช่น ทดสอบในหนู เนื่องจากทดสอบในสัตว์ทดลองถูกจำกัดหรือมีข้อกำหนดในการปฏิบัติอย่างเคร่งขัดทางด้านจริยธรรม และมีค่าใช้จ่ายสูง การทดสอบความเป็นพิษของสารโดยทดสอบกับเซลล์เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองจึงเป็นที่ยอมรับ และมีการพัฒนาทดสอบกับเซลล์ได้หลายชนิด ซึ่งเป็นข้อดีของวิธีนี้ เนื่องจากสามารถเลือกชนิดของเซลล์ที่จะใช้ทดสอบได้เหมาะสมกับฤทธิ์ของสารสกัด ตัวอย่างเซลล์ของคนที่ถูกเพาะเลี้ยงได้ในหลอดทดลอง ได้แก่ เซลล์เคอราติโนไซท์ (keratinocyte), เซลล์เมลาโนมา (melanoma), เซลล์เยื่อบุผิว (epithelium cells) เป็นต้น และเซลล์เพาะเลี้ยงบางชนิดสามารถเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองได้ตลอดกาล (cell lines) (Vunjak-Novakovic & Freshney, 2006)

ในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากทั้งต้น *Croton lechleri* และ *Lagestroemia speciosa* มาใช้ประโยชน์เกี่ยวกับสุขภาพหลายชนิด โดยสารสกัดที่ได้จาก *Croton lechleri* เป็นผงสีแดง เรียกว่า เลือดมังกร (dragon's blood) ซึ่งมีสารหลายชนิดเป็นส่วนประกอบ สารสำคัญที่พบในเลือดมังกร คือ proanthocyonidins และ taspine ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และรักษาแผล สำหรับสารสกัดจากต้น *Lagestroemia speciosa* หรือมีชื่อสามัญเรียกว่า ตะแบกดำ หรือ อินทนิลน้ำ (Queen's flower) สารที่สกัดได้จาก อินทนิลน้ำได้แก่ triterpene, corosolic acid, 31-norlagerenol acetate, และ sitosterol acetate เป็นต้น ซึ่งสารสกัดจากอินทนิลน้ำมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ แอนติออกซิเด้นท์ และต้านเซลล์มะเร็ง (Liu et al., 2001; Faruk et al., 2002; Ragasa et al., 2005; Kim et al., 2012) จากคุณสมบัติของสารสกัดที่มีฤทธิ์หลายด้าน จึงมีการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้งสองชนิดนี้มาใช้เป็นสารสำคัญหรือส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

จากการศึกษาของนักวิจัยกลุ่มอื่น ได้นำเซลล์เมลาโนมา มาใช้ศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญทางเครื่องสำอาง และทางเภสัช (McKim et al., 2012; Ribeiro et al., 2012) การศึกษาครั้งนี้ จึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกร และจากต้นอินทนิลน้ำ ต่อเซลล์เมลาโนมาของคน (human melanoma cell line, C32) (Chen et al., 1978; Chen & Shaw, 1973) เซลล์ชนิดนี้ เป็นเซลล์ที่พบในส่วนของผิวหนังของร่างกาย ทำหน้าที่สร้างเม็ดสี ซึ่งทำให้คนมีสีผิวแตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาครั้งนี้จะทำให้ทราบระดับความเป็นพิษของสารสกัดทั้งสองชนิด เพื่อความปลอดภัยในการนำสารสกัดเลือดมังกรและอินทนิลน้ำไปใช้ประโยชน์สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของคนในหลอดทดลอง
2. ศึกษาลักษณะของเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตาย

ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อเซลล์ของคนในหลอดทดลอง และมีการศึกษาลักษณะเซลล์เป็นและเซลล์ตายในหลอดทดลอง โดยใช้เซลล์ melanoma ที่ได้รับความอนุเคราะห์ จาก ศ. ดร. รัชนีย์ อุดมแสงเพ็ชร ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล มาทดสอบกับสารสกัดจากต้น *Croton lechleri* และ *Lagestroemia speciosa* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท คอสมีเทค จำกัด และบริษัทบรอนสันแอนด์จาคอบส์อินเตอร์เนชันแนล จำกัด การทำวิจัยจะดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการที่ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พร้อมทั้งมีการบูรณาการการเรียนการสอนให้กับนักศึกษาในการฝึกทักษะการเพาะเลี้ยงเซลล์และทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารด้วย

สมมติฐานการวิจัย

การทดสอบคุณสมบัติของสารที่เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางโดยการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงของคน มาทดสอบในหลอดทดลอง เป็นการทดสอบพื้นฐานหรือเบื้องต้นที่สำคัญก่อนที่จะนำสารนั้นมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ เพื่อความปลอดภัยต่อการนำไปใช้ในคนและเป็นการหลีกเลี่ยงการทดสอบในคน หรือในสัตว์ทดลอง

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง หมายถึง การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในการฆ่าเซลล์หรือยับยั้งการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยง โดยรายงานฤทธิ์ของสารสกัดเป็นค่า EC_{50} (effective concentration of herbal extracts that can inhibit cell viability 50 %) หมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งความมีชีวิตของเซลล์ 50 %

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำทักษะและวิธีการทดสอบไปเป็นพื้นฐานเพื่อต่อยอดงานวิจัยต่อไป
2. นำมาบูรณาการในการเรียนการสอนในเชิงปฏิบัติให้กับนักศึกษาชั้นปี 4