หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดจากดอกสารภี (*Mammea siamensis*) ต่อการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์ 1 เบรคพอยท์คลัสเตอร์รีเจียน/อะเบลซัน และฟิมส์ไลค์ไทโรซีนไคเนส 3
ผู้เขียน	นางสาว รุ่งกาญจน์ สังฆรักษ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)
คณะกรรมการที่ปรึกษา	รศ. ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ. ดร. สาวิตรี เจียมพานิชยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

มะเร็งเม็ดเลือดขาว จัดเป็นความผิดปกติทางโลหิตวิทยาที่พบได้บ่อยและมีอัตราการตายสูง จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน (WT1) เบรคพอยท์คลัสเตอร์รี-เจียน/อะเบลซัน (Bcr/Abl) และฟิมส์ไลค์ไทโรซีนไคเนสทรี (FLT3) ในระดับสูงกว่าปกติ ซึ่งพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว ปัจจุบันนี้ การรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยยาเคมีบำบัด เป็นวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามเพื่อหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงอันเนื่องมาจากการใช้ยาเคมีบำบัด การนำพืชที่มีคุณสมบัติต้านมะเร็งจึงถูกนำมาใช้เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว การศึกษานี้ เป็นการศึกษาสารสกัดจากดอกสารภี (*Mammea siamensis*) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำรับยาไทยโบราณ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดเอทานอลจากดอกสารภีโดยแยกเป็นส่วนต่างๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทธิลอะซิเตท และเมทานอล ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Molt4 (human acute lymphoblastic leukemia), K562 (human chronic myelogenous leukemia) และ EoL-1 (human acute myeloblastic leukemia) และศึกษาผลของสารสกัดดังกล่าวต่อการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl ในเซลล์ K562 การแสดงออกของโปรตีน WT1 ในเซลล์ Molt4, K562 และ EoL-1 และการแสดงออกของโปรตีน FLT3 ในเซลล์ EoL-1 นอกจากนี้ ได้ศึกษาผลของสารสกัดเอทานอลจากดอกสารภีโดยแยกเป็นส่วนต่างๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทธิลอะซิเตท และเมทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสามชนิดโดยวิธี MTT จากผลการทดลองพบว่าสารสกัด เอทานอล เฮกเซนและเอทธิลอะซิเตท มีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสามชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตามความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่สารสกัดเมทานอล ไม่มีผลต่อความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง-เม็ดเลือดขาวทั้งสามชนิด โดยสารสกัดที่ได้จากเฮกเซนมีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ด-เลือดขาวได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 2.5 ถึง 2.7 µg/ml ในเซลล์ Molt4, 75.1 ถึง 80.1 µg/ml ในเซลล์ K562 และ 3.0 ถึง 4.6 µg/ml ในเซลล์ EoL-1 สำหรับผลการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl, WT1 และ FLT3 ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ศึกษาโดยใช้วิธี Western blot เพื่อดูผลของสารสกัดเอทานอล เฮกเซน และเอทธิลอะซิเตทต่อการการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl, WT1 และ FLT3 ผลการทดลองพบว่า เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสามชนิดที่ทดสอบด้วยสารสกัดเอทานอล เฮกเซน และเอทธิลอะซิเตทที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{20}) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่ได้จากเฮกเซนสามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl, WT1 และ FLT3 ได้ดีที่สุดตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น จากการทดลองทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดเฮกเซนจากดอกสารภีมีผลลดการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl, WT1 และ FLT3 ได้ดีที่สุดตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และเพื่อทราบถึงสารออกฤทธิ์สำคัญ สารสกัดจากเฮกเซนจึงถูกนำมาวิเคราะห์ต่อโดยใช้เทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) เปรียบเทียบกับสารสกัดจากเอทานอล เอทธิลอะซิเตท และเมทานอล ในการทดลองนี้ ใช้ HPLC fingerprint ของสารสกัดแยกบริสุทธิ์ mammea E/BB (ได้จากสารสกัดจากเมล็ด *M. siamensis*) เป็นสารมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่า สารสกัดที่แยกได้จากเฮกเซนมีปริมาณของ mammea E/BB มากที่สุดถึง 24.38% ดังนั้น สารออกฤทธิ์หลักที่ละลายอยู่ในสารสกัดที่ได้จากเฮกเซนน่าจะเป็น mammea E/BB ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกของสารภีที่ได้จากเฮกเซนน่าจะสามารถนำมาใช้เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน Bcr/Abl, WT1 และ FLT3 ในระดับสูง

Thesis Title	Effects of Saraphi (*Mammea siamensis*) Flower Extracts on Leukemic Cell Proliferation and Expression of Wilms' tumor 1 Protein, Breakpoint Cluster Region/Abelson, and Fms-like Tyrosine Kinase 3	
Author	Miss Rungkarn Sangkaruk	
Degree	Master of science (Medical Technology)	
Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Songyot Anuchapreeda	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Sawitree Chiampanichayakul	Co-advisor

ABSTRACT

Leukemia is a hematopoietic disorder with a frequent incidence and high mortality rate. Previous studies showed that overexpression of Wilms' tumor 1 (WT1), Breakpoint Cluster Region/Abelson (Bcr/Abl), and Fms-like tyrosine kinase 3 (FLT3) proteins are associated with leukemogenesis. Nowadays, chemotherapy is generally effective treatment and is widely used for leukemia treatment. To avoid the severe side effects of drug chemotherapy, plants having anticancer activity are an alternative medicine for leukemic patients. In this study, Saraphi (*Mammea siamensis*) flower is a choice of Thai traditional medicine plant. This study aims to investigate the cytotoxic effect of crude ethanolic extract and fractional extracts including hexane, ethyl acetate, and methanol fractions from *M. siamensis* flowers in human leukemic cell lines; Molt4 (human acute lymphoblastic leukemia), K562 (human chronic myelogenous leukemia), and EoL-1 (human acute myeloblastic leukemia) and to determine their effect on Bcr/Abl protein expression in K562 cells, WT1 protein expression in Molt4, K562, and EoL-1 cells, and FLT3 protein expression in EoL-1 cells. MTT assay was used to determine the cytotoxicity of crude ethanolic extract and three fractional extracts at various concentrations on three leukemic cell lines. The result showed that crude ethanolic extract, hexane, and ethyl acetate fractions were toxic to all cell lines in a dose-dependent manner, while methanol fraction had no cytotoxic effect on three leukemic cell lines. Hexane fraction showed the strongest cytotoxic activity on all cell

lines with IC_{50} values ranging from 2.5 to 2.7 µg/ml in Molt4 cells, 75.1 to 80.1 µg/ml in K562 cells and 3.0 to 4.6 µg/ml in EoL-1 cells. The inhibitory effect of Bcr/Abl, WT1, and FLT3 protein expressions in leukemic cell lines were assessed by Western blot analysis. To determine the effect of effective extracts; crude ethanolic extract, hexane, and ethyl acetate fractions on Bcr/Abl, WT1, and FLT3 protein expressions, all leukemic cell lines were treated with non-cytotoxic concentrations (IC_{20} values). The result showed that hexane fraction was the best inhibitory effect on Bcr/Abl, WT1, and FLT3 protein expressions in a time- and dose- dependent manner. In summary, hexane fraction, an excellent of Saraphi flower extract, decreased Bcr/Abl, WT1, and FLT3 protein expressions in both time- and dose- dependent manner. The crude, hexane, ethyl acetate and methanolic fractions were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) as compared to those of ethanolic extract, hexane, ethyl acetate and methanolic fractions to identify the possible compounds in flower extracts. The HPLC fingerprint of a standard mammea E/BB (obtained from *M. siamensis* seed extract) was used as a standard marker. The hexane fraction contained the highest content of mammea E/BB with the value of 24.38%. Thus, the main active compound in hexane fraction may be the mammea E/BB. These findings suggest that hexane fraction of Saraphi flower extract may be used for alternative treatment in leukemia patients, especially in treating patients with Bcr/Abl, WT1, and FLT3-overexpressing leukemic cells.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved