

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์
และเซลล์มะเร็งในช่องปากของสารสำคัญฟีนิลบิวทีนอยด์จากเหง้าไพล
In vitro Inhibition of *Candida albicans* and Oral Cancer by
Phenylbutenoids from *Zingiber cassumunar* Roxb. Rhizomes

ฉันทมนต์ ขวัญเกื้อ, ท.บ.*

วิชญสิทธิ อินทกุศล, วท.ม.**

สายสุรีย์ ประทีปทองคำ, ดร. Dr.rer. nat.***

เอศเธระ ประทีปทองคำ, ดร. Dr.med.dent, ท.บ., วุฒิปด. (ทันตกรรมทั่วไป)*

Thunyamon Kwangue, DDS.*

Wichayasith Inthakusol, M.Sc.**

Saisuree Prateeptongkum, Dr. rer. Nat.***

Esthera Prateeptongkum, DDS., Dr.med.dent, Dip., Thai Board of General Dentistry*

*สถาบันทันตกรรม กรมการแพทย์ จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย 11000

**ศูนย์วิจัยค้นคว้าและพัฒนาาย สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต)

จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย 12120

***คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต) จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย 12120

*Institute of Dentistry, Department of Medical Services, Nonthaburi Province, Thailand, 11000

**Drug Discovery and Development Center, Office of Advance Science and Technology,

Thammasat University, Pathum Thani Province, Thailand, 12120

***Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Pathum Thani Province, Thailand, 12120

Corresponding author, E-mail address: hahaha_happymak@yahoo.com

Received: 3 Aug 2025. Revised: 01 Oct 2025. Accepted: 25 Oct 2025.

บทคัดย่อ

หลักการและเหตุผล : ไพลมีสารสำคัญคือ สารกลุ่มฟีนิลบิวทีนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการแก้ปวด ลดการอักเสบ ยับยั้งจุลชีพและฤทธิ์ต้านมะเร็ง ปัจจุบันปัญหาการติดเชื้อจุลชีพในช่องปากเพิ่มมากขึ้น ในผู้ป่วยที่ใส่ฟันเทียมและการเกิดมะเร็งช่องปาก ทำให้ผู้ป่วยได้รับความเจ็บปวดและส่งผลต่อสุขภาพ

วัตถุประสงค์ : เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลชีพ *Candida albicans* และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากของสารสกัดและสารสำคัญจากไพล

วิธีการศึกษา : การวิจัยครั้งนี้ มีรูปแบบการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลองในหลอดทดลอง (*In vitro* experimental research) โดยการนำไพลแห้งและไพลสดมาสกัดด้วยเฮกเซนได้เป็นสารสกัดหยาบ และแยกสารสำคัญ คือ (E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl) but-3-en-1-ol (DMPBD) และ (E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl) but-3-en-1-ol dimers (DMPBD dimers) ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี ทดสอบสารที่ได้ในการยับยั้งจุลชีพ *C. albicans* ด้วยวิธี agar well diffusion และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (Human oral epidermoid carcinoma cell line; KB cell line) ด้วยวิธี MTT assay ข้อมูลเชิงปริมาณที่ได้ถูกวิเคราะห์ด้วยสถิติพรรณนา (descriptive statistics) และทดสอบความแตกต่างของประสิทธิภาพการยับยั้งระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA)

- ผลการศึกษา** : สารสกัดหยาบจากไพลสดสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ที่ความเข้มข้น 5,000 และ 10,000 $\mu\text{g/mL}$ ขณะที่สาร DMPBD ยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 1,000 5,000 และ 10,000 $\mu\text{g/mL}$ โดยฤทธิ์การยับยั้งของทั้งสองสารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ fluconazole ส่วนสารสกัดหยาบจากไพลแห้งและ DMPBD dimers ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากพบว่า DMPBD มีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ดีที่สุดคือ 64.99 $\mu\text{g/mL}$ ตามมาด้วย สารสกัดหยาบไพลสดและไพลแห้ง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับ Doxorubicin
- สรุป** : สารสกัดหยาบจากไพลสดและ DMPBD สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ และ DMPBD มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB cell line (Human oral epidermoid carcinoma cell line; KB cell line) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากไพลสดและไพลแห้งตามลำดับ ในขณะที่ DMPBD dimers ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง
- คำสำคัญ** : ไพล ฟีนิลบิวทีนอยด์ DMPBD DMPBD dimers

ABSTRACT

- Background** : The active compounds from *Zingiber cassumunar* (Plai) are phenylbutenoids, which exhibit analgesic effect, anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer activities. Oral cancer and denture stomatitis are dental problems causing pain and health impacts.
- Objective** : To evaluate the antimicrobial activity against *Candida albicans* and cytotoxic effects on oral cancer cells of the Plai extracts and active compounds.
- Methods** : This study was designed as an *in vitro* experimental research. Dried and fresh rhizomes of *Zingiber cassumunar* Roxb. (plai) were extracted with hexane to obtain crude extracts. The major compounds, (E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol (DMPBD) and (E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl) but-3-en-1-ol dimers (DMPBD dimers), were further isolated using column chromatography. The obtained substances were evaluated for antimicrobial activity against *Candida albicans* using the agar well diffusion method, and for cytotoxicity against human oral epidermoid carcinoma cells (KB cell line) using the MTT assay. Quantitative data were analyzed using descriptive statistics, and differences in inhibitory efficacy among groups were determined by one-way analysis of variance (ANOVA).
- Results** : The crude extract from fresh plai rhizomes inhibited *C. albicans* at concentrations of 5,000 and 10,000 $\mu\text{g/mL}$, whereas DMPBD showed inhibitory effects at 1,000, 5,000, and 10,000 $\mu\text{g/mL}$. The inhibitory activities of both substances were significantly different ($p < 0.05$)

compared with fluconazole. In contrast, the crude extract from dried plai and DMPBD dimers did not exhibit significant antifungal activity against *C. albicans*. Regarding cytotoxicity Human oral epidermoid carcinoma cell line (KB cell line), DMPBD demonstrated the most potent activity, with an IC_{50} value of 64.99 $\mu\text{g/mL}$, followed by the crude extracts from fresh and dried plai. The differences in cytotoxic effects were statistically significant ($p < 0.05$) compared with doxorubicin.

Conclusions : The crude extract from fresh plai and DMPBD were able to inhibit *C. albicans*, with DMPBD showing the most potent inhibitory effect on the growth of human oral epidermoid carcinoma cells (KB cell line), followed by the crude extracts from fresh and dried plai, respectively. In contrast, DMPBD dimers exhibited no inhibitory activity.

Keywords : Plai, Phenylbutenoid, DMPBD, DMPBD dimers.

หลักการและเหตุผล

จากข้อมูลสถิติประชากรของศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์ มูลนิธิสถาบันวิจัยและพัฒนาผู้สูงอายุ (มส.ผส.) พบว่า ประเทศไทยได้เริ่มเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างเป็นทางการตั้งแต่ปีพ.ศ.2548 และต่อมาในปีพ.ศ.2564 ได้เข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ (Aged society) ผู้สูงอายุจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาซึ่งส่งผลให้เกิดโรคในช่องปากได้ง่ายขึ้น เช่น โรคฟันผุ ปริทันต์อักเสบ โรคเชื้อราในช่องปาก และมะเร็งช่องปาก เป็นต้น⁽¹⁾

มะเร็งช่องปากมีสาเหตุจากหลายปัจจัย โดยปัจจัยเสี่ยงสำคัญ ได้แก่ การเคี้ยวหมาก ยาสูบ การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) ชนิดที่ 16 และ 18 และการอักเสบเรื้อรังในช่องปาก จากการเก็บข้อมูลโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ.2564 พบว่า ในเพศชายเป็นโรคมะเร็งในช่องปาก ร้อยละ 7.1 จัดเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดอันดับ 4 และในเพศหญิงเป็นโรคมะเร็งช่องปากร้อยละ 1.5 จัดเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดอันดับ 10⁽²⁾

จากการรายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ประเทศไทย พ.ศ. 2560 พบว่าเมื่ออายุเพิ่มขึ้น จะมีแนวโน้มในการสูญเสียฟัน

มากขึ้น ทั้งจาก โรคปริทันต์ โรคฟันผุ ทำให้ผู้ป่วยต้องใส่ฟันเทียมเพื่อช่วยในการบดเคี้ยว⁽³⁾ การดูแลความสะอาดฟันเทียมและการใช้งานฟันเทียมที่ไม่เหมาะสมสามารถนำไปสู่การเจริญเติบโตของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) ที่ฐานฟันเทียมได้

ประเทศไทยก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ทำให้ความต้องการด้านการดูแลสุขภาพเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการดูแลแบบองค์รวม การรณรงค์ผสมผสานกับสมุนไพรจึงมีบทบาทสำคัญ ซึ่ง “พล” เป็นสมุนไพรไทยที่ใช้ในตำรับยาและการแพทย์แผนไทยมาอย่างยาวนานโดยพล หรือ ว่านพล เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำรับยาแพทย์แผนไทยมาอย่างยาวนาน วิธีการใช้นั้นใช้ได้ทั้งภายในและภายนอก เช่น ยาเหลือง ลูกประคบ ยาพอกดูดพิษ ตำรับยาขี้ผึ้งพล และตำรับยาประสะพล เป็นต้น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber cassumunar* Roxb. มีสรรพคุณช่วยลดอาการอักเสบ ลดหอบหืด ลดภูมิแพ้ บรรเทาอาการปวดบวม มีสารสำคัญ 3 กลุ่มหลัก ดังนี้

1. สารในกลุ่ม phenylbutenoids มีคุณสมบัติเด่นในด้านการลดอาการแพ้ ลดอาการอักเสบ เป็นต้น^(4, 5)

2. สารในกลุ่ม terpenoids จะอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหย มีสรรพคุณคลายเคล็ดขัดยอก⁽⁴⁾

3. สารในกลุ่ม curcuminoids มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ และลดระดับน้ำตาลในเลือด⁽⁶⁾

มีรายงานเกี่ยวกับคุณสมบัติการฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรค^(7, 8) โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันไพล ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อราและจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดได้ รวมทั้งรายงานการศึกษากลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอดโดยใช้ (E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol (DMPBD) dimers พบว่า DMPBD dimers สามารถชักนำให้เกิดการหยุดของวงจรเซลล์ในระยะ G₀/G₁⁽⁹⁾ แม้ว่าจะมีรายงานว่าสาร DMPBD dimers สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดผ่านกลไกการควบคุมวงจรเซลล์ แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์ที่ชัดเจนเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารดังกล่าวต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก ซึ่งมีบริบททางชีววิทยาที่แตกต่างกัน อีกทั้งเชื้อรา *Candida albicans* ยังเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในช่องปาก โดยเฉพาะในผู้สูงอายุที่ใส่ฟันเทียม ปัจจุบันยังไม่มียุทธศาสตร์การศึกษาที่ประเมินฤทธิ์ของสาร DMPBD และ DMPBD dimers ต่อทั้งเชื้อรา *C. albicans* และเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB cell line โดยตรง ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* และเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB cell line ของสารสกัดหยาบจากไพลสดและไพลแห้ง รวมถึงสารสำคัญในกลุ่ม phenylbutenoids ได้แก่ DMPBD และ DMPBD dimers เพื่อสร้างองค์ความรู้พื้นฐานที่อาจนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมในอนาคต

การพิสูจน์เอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ของสารสำคัญทำได้โดยการตรวจสอบเบื้องต้นด้วย Thin Layer Chromatography (TLC) และ melting point จากนั้นยืนยันโครงสร้างด้วย GC-MS และ ¹H NMR โดย GC-MS ช่วยแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบเชิงมวลได้อย่างแม่นยำ ส่วน ¹H NMR ใช้ตรวจสอบการจัดเรียงอะตอมไฮโดรเจนเพื่ออธิบายโครงสร้าง ผลการวิเคราะห์ยืนยันว่าสารที่แยกได้คือ DMPBD และ DMPBD dimers ในกลุ่ม phenylbutenoids เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้าน *C. albicans* และเซลล์มะเร็งช่องปาก^(10,11)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ *Candida albicans* ของสารสกัดและสารสำคัญจากไพล
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากของของสารสกัดและสารสำคัญจากไพล

ระเบียบวิธีการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ มีรูปแบบการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องทดลอง (*In vitro* experimental research) โดยดำเนินการวิจัยในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2566

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร คือ เชื้อราและเซลล์มะเร็งช่องปากสายพันธุ์ KB (Human oral epidermoid carcinoma cell line; KB cell line) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1955 จากเนื้อเยื่อมะเร็งเยื่อบุผิวในช่องปาก (oral epidermoid carcinoma) และได้รับการใช้อย่างยาวนานเป็นแบบจำลองในการศึกษาทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของมะเร็งช่องปาก

กลุ่มตัวอย่าง คือ *Candida albicans* DMST 5815 (ATCC 10231) และ Human oral epidermoid carcinoma cell line (KB cell line) : CLS300446

Intervention คือ สารสำคัญฟีนิลบิวทินอยด์จากเหง้าไพล

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 การสกัดไพล: เครื่องชั่ง (Mettler Toledo ML104), Rotary evaporator (Heidolph™ Hei-Vap™), เครื่องดูดสุญญากาศ อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Bandelin Sonorex Digitec)

1.2 การวิเคราะห์ DMPBD และ DMPBD dimers: GC-MS, คอลัมน์โครมาโตกราฟี ¹H NMR, HPLC

1.3 การทดสอบสาร: TLC Silica gel60 F254, UV-cabinet, PCR 96 well plate

2. สารเคมี

2.1 การสกัด/แยกสาร : Hexane, Ethyl acetate

2.2 การทดสอบ : Methanol, Chloroform-d1, Methanol-d4, Ethyl p-methoxy cinnamate (EPMC, internal standard for qNMR), Doxorubicin, Fluconazole

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ: Mueller Hinton agar

4. เชื้อที่ใช้ทดสอบ: *Candida albicans* DMST 5815 (ATCC 10231)

5. เซลล์ที่ใช้ทดสอบ Cytotoxicity: Human oral cavity carcinoma (KB; CLS300446)

วิธีการศึกษา

1. การสกัดและแยกสารสำคัญทำโดย นำผงโพลแห้ง (150 กรัม/ขวด) และโพลสดบด (170 กรัม/ขวด) สกัดด้วยเฮกเซนในอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 5 มิลลิลิตร ด้วยวิธี sonication 4 ครั้ง ๆ ละ 30 นาที จากนั้นกรองและระเหยตัวทำละลายด้วย rotary evaporator ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำไปแยกต่อด้วย column chromatography (silica gel 60; mobile phase: 5-30% ethyl acetate ใน hexane) และตรวจสอบด้วย TLC (silica gel 60 F254, UV 254 nm)

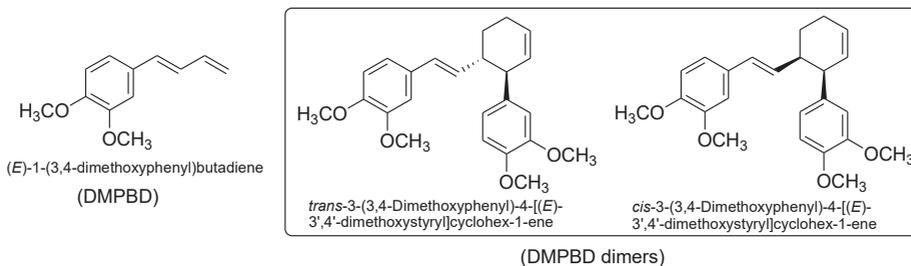


ภาพที่ 1 A) โพลแห้ง, B) โพลสด, C) สารสกัดหยาบโพล, D) การทำ column chromatograph, E) การทดสอบด้วย TLC

2. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญที่แยกได้

สารที่แยกได้จะถูกประเมินความบริสุทธิ์เบื้องต้นด้วย TLC, melting point และวิเคราะห์ด้วย

เทคนิคขั้นสูง เช่น GC-MS, ¹H NMR และพบว่าสารบริสุทธิ์ 2 ชนิดที่แยกได้จากสารสกัดหยาบ คือ DMPBD และ DMPBD dimers (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ DMPBD และ DMPBD dimers

3. การทดสอบฤทธิ์ความสามารถในการทำลายเชื้อ *C. albicans*; *in vitro* test

นำสารสกัดหยาบของไพล DMPBD และ DMPBD dimers ไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* (ATCC 10231) ด้วยวิธี agar well diffusion บน Mueller Hinton agar โดยเปรียบเทียบกับ fluconazole และ DMSO และทำซ้ำ 3 ครั้ง

4. การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก; *in vitro* test

นำสารสกัดหยาบของไพล DMPBD และ DMPBD dimers ไปทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก Human oral cavity carcinoma (KB) cell line โดยใช้วิธี MTT assay เทียบกับยา Doxorubicin ซึ่งเป็นยาต้านมะเร็งกลุ่ม anthracycline ที่มีฤทธิ์ต่อ KB cell line⁽¹²⁾ และมีกลไกการออกฤทธิ์โดยการแทรกตัวเข้ากับ DNA และยับยั้ง topoisomerase II ส่งผลให้เกิดความเสียหายของ DNA และการตายของเซลล์แบบ apoptosis⁽¹³⁾ และตัวทำละลายหลักไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide ;DMSO) โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง

จริยธรรมวิจัยและการพิทักษ์สิทธิของกลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณารับรองจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการวิจัยและจริยธรรมกรรมการแพทย์ หมายเลขรับรอง 2/2566 รหัสโครงการวิจัย 3/2566 วันที่รับรอง 24 มีนาคม พ.ศ. 2566

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบ Inhibition halo ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของสารไพล และ Fluconazole

Microbial สาร		<i>Candida albicans</i> Inhibition halo (mm.)	p-value
Crude ไพลสด (µg/mL)	1,000	<6	
	5,000	12±0.5	<0.001
	10,000	16±1.0	<0.001
Crude ไพลแห้ง (µg/mL) DMPBD Dimers (µg/mL)	1,000	<6	
	5,000	<6	
		<6	
	10,000	<6	
		<6	
	10,000	<6	

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* และเซลล์มะเร็งช่องปากถูกนำเสนอโดยใช้สถิติพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารสกัดและสารสำคัญจากไพลในการยับยั้งจุลชีพและเซลล์มะเร็งช่องปากโดยใช้สถิติเชิงอนุมาน คือ one-way ANOVA และเมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงวิเคราะห์ต่อด้วย Post Hoc ชนิด Scheffe test เพื่อระบุกลุ่มที่แตกต่างกันชัดเจน

ผลการศึกษา

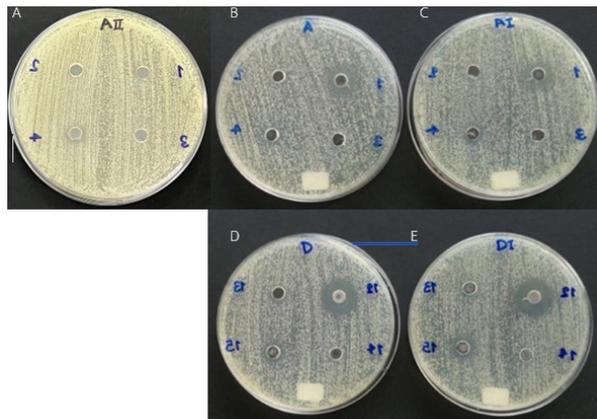
1. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans*

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* โดยสารสกัดหยาบไพลสดและไพลแห้ง DMPBD dimers และ DMPBD ที่ความเข้มข้น 1,000 5,000 10,000 µg/mL และ fluconazole (positive control) ที่ 250 µg/mL ได้ผล (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบ Inhibition halo ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของสารโพล และ Fluconazole (ต่อ)

Microbial สาร		<i>Candida albicans</i> Inhibition halo (mm.)	p-value
DMPBD ($\mu\text{g/mL}$)	1,000	8 ± 0.5	<0.001
	5,000	9 ± 0.5	<0.001
	10,000	10 ± 0.5	<0.001
Fluconazole 250 $\mu\text{g/mL}$		26 ± 1.0	
10% DMSO		<6	

ตัวย่อ DMSO, dimethyl sulfoxide



ภาพที่ 3 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* โดยวิธี agar well diffusion

A: ความเข้มข้นของสาร 1,000 $\mu\text{g/mL}$, B และ C: ความเข้มข้นของสาร 5,000 $\mu\text{g/mL}$ และ D และ E: ความเข้มข้นของสาร 10,000 $\mu\text{g/mL}$ โดย 1 หรือ 12 คือ สารสกัดหยาบโพลสด 2 หรือ 13 คือ สารสกัดหยาบโพลแห้ง 3 หรือ 14 คือ DMPBD dimers และ 4 หรือ 15 คือ DMPBD

จากตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ด้วยสารสกัดหยาบโพลสด สารสกัดหยาบโพลแห้ง DMPBD dimers DMPBD ที่ความเข้มข้น 1,000 5,000 10,000 $\mu\text{g/mL}$ และ Fluconazole ที่ 250 $\mu\text{g/mL}$ พบว่า inhibition halo ของสารสกัดหยาบโพลสด ที่ความเข้มข้น 1,000 สารสกัดหยาบโพลแห้งและ DMPBD Dimers ทุกความเข้มข้น มีค่าน้อยกว่า 6 มิลลิเมตร แสดงว่าไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ขณะที่ positive control มีค่า 26 ± 1.0 มิลลิเมตร โดยสารสกัดหยาบโพลสดที่ความเข้มข้น 5,000 10,000 $\mu\text{g/mL}$ และ DMPBD ทุกความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้เมื่อนำข้อมูลเข้าผ่านโปรแกรม SPSS พบว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) จึงนำมา

ทดสอบด้วย One-way Anova พบว่า Fluconazole มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. albicans* สูงที่สุด และแตกต่างจากทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Crude โพลสดที่ความเข้มข้น 5,000 และ 10,000 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้สูงกว่ากลุ่ม crude โพลแห้ง Dimers อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ DMPBD 10,000 $\mu\text{g/mL}$ แสดงฤทธิ์ดี ขณะที่ DMPBD 1,000 $\mu\text{g/mL}$ และ DMPBD 5,000 $\mu\text{g/mL}$ แสดงผลในระดับปานกลาง และไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ในทางกลับกัน กลุ่ม crude โพลแห้งทุกระดับความเข้มข้น DMPBD dimers ทุกกลุ่ม และ DMSO ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ และไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ

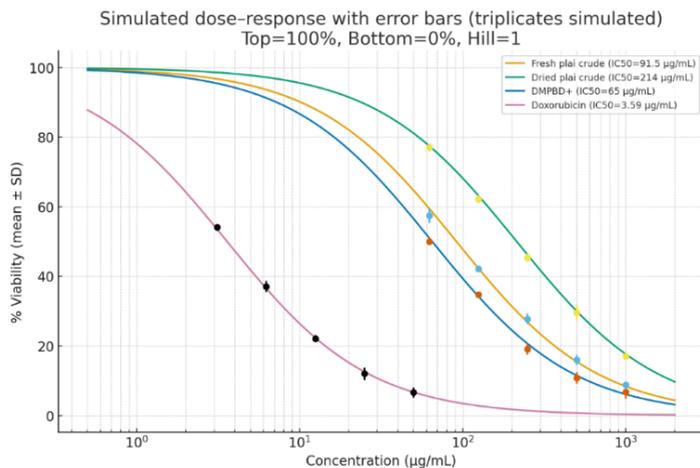
3. การวิเคราะห์ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์เบื้องต้น (primary screening) โดยสารสกัดหยาบโพลิสต สารสกัดหยาบโพลีแห้ง DMPBD และ DMPBD dimers

ที่ความเข้มข้น 1000 µg/mL และ doxorubicin 100 µg/mL รวมถึงค่าความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) ซึ่งทดสอบด้วยวิธี MTT assay ได้ผล (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4)

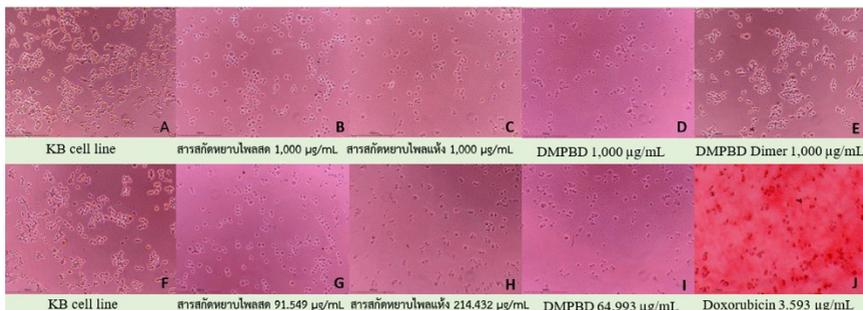
ตารางที่ 2 แสดงผลร้อยละการยับยั้งเซลล์ (Cytotoxicity) และค่า IC₅₀ ของสารสกัดต่างๆ จากโพลี

สาร	% cytotoxicity	p-value	IC ₅₀ (µg/mL)	p-value
สารสกัดหยาบโพลิสต	83.8±0.4	0.896	91.5±0.57 (n=3)	<0.001
สารสกัดหยาบโพลีแห้ง	80.5±0.6	0.003	214.4±1.53 (n=3)	<0.001
DMPBD	80.0±0.3	0.001	65.0±1.42 (n=3)	<0.001
DMPBD dimers	13.4±0.3	<0.001		
Doxorubicin	83.4±0.3		3.6 ±0.04 (n=3)	
1% DMSO	4.1	<0.001		

ตัวย่อ IC₅₀; half maximal inhibitory concentration, DMSO; dimethyl sulfoxide



ภาพ 4 แสดงเส้นโค้งความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองทางชีววิทยา (Dose-Response Curve) โดยจำลองผลของสารสกัดต่างๆ ที่มีต่อความมีชีวิตของเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB cell line



ภาพ 5 แสดงภาพเซลล์มะเร็งช่องปากหลังได้รับสารทดสอบ 24 ชั่วโมง ที่กำลังขยาย 200 เท่า โดย A)-E) แสดงผลการทดสอบ %cytotoxicity (primary screening) และ F)-J) แสดงการหา IC₅₀

การคำนวณ ร้อยละการยับยั้งเซลล์ ใช้สูตร $\%Cytotoxicity = (1-OD \text{ sample} / OD \text{ control}) \times 100$ โดยที่ OD sample คือ ความหนาแน่นแสงของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ และ OD control คือ ความหนาแน่นแสงของเซลล์ควบคุม (ร้อยละ 1 DMSO)

การคำนวณค่า IC_{50} (ความเข้มข้นที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ ร้อยละ 50) ได้จากการสร้าง dose-response curve โดยวางความเข้มข้นของสาร ($\mu\text{g/mL}$) บนแกน X และ ร้อยละของ cytotoxicity บนแกน Y ใช้ nonlinear regression (4-parameter logistic model) ผ่านซอฟต์แวร์ GraphPad Prism เพื่อหาค่า IC_{50}

จากภาพที่ 4 เส้นโค้งแสดงถึงค่า IC_{50} โดยเส้นสีม่วงคือ Doxorubicin มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มากที่สุด สีฟ้าเข้มคือ DMPBD สีส้มคือ สารสกัดหยาบไพลสด และสีเขียวคือสารสกัดหยาบไพลแห้ง

จากตารางที่ 2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากด้วยวิธี MTT assay (primary screening) พบว่า สารสกัดหยาบไพลสด มีฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด (ร้อยละ 83.8) ใกล้เคียงกับ doxorubicin (ร้อยละ 83.4) ขณะที่ DMPBD dimers มีค่าต่ำที่สุด (ร้อยละ 13.4)

จากผลการคัดกรองเบื้องต้น ได้คัดเลือก สารที่มีร้อยละการยับยั้งเซลล์มากกว่า 50 ได้แก่ สารสกัดหยาบไพลสด สารสกัดหยาบไพลแห้ง สาร DMPBD และ doxorubicin เพื่อนำไปทดสอบหาค่า IC_{50} ต่อไป โดยพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ doxorubicin ส่วน DMPBD dimers ไม่ได้ทดสอบค่า IC_{50} เนื่องจากมีร้อยละการยับยั้งต่ำกว่าร้อยละ 50 ซึ่งไม่สามารถใช้ข้อมูลทำ curve fitting ได้อย่างแม่นยำและเกิดการ extrapolation เกินขอบเขตข้อมูลที่เชื่อถือได้ จึงไม่รายงานค่า IC_{50} ของสารนี้ในงานวิจัย

อภิปรายผล

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* พบว่า สารสกัดหยาบไพลแห้ง และ DMPBD dimers ไม่มี inhibition halo เกิดขึ้น แสดงว่า สารไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* ส่วนในสารสกัดหยาบไพลสด พบมี inhibition halo ที่ความเข้มข้น 5,000 และ 10,000 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 12 ± 0.5 และ 16 ± 1 มิลลิเมตร ในสาร DMPBD พบมี inhibition halo ที่ความเข้มข้น 1,000 5,000 และ 10,000 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 8 ± 0.5 , 9 ± 0.5 และ 10 ± 0.5 มิลลิเมตร เนื่องจากไพลสดมีสาร DMPBD จำนวนมาก และไพลแห้งมีสาร DMPBD dimers จำนวนมาก^(14,15) ผลการทดลองสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันคือ สารสกัดหยาบไพลแห้ง และ DMPBD dimers ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา และสารสกัดหยาบไพลสด DMPBD มีความสามารถในการยับยั้ง *C. albicans* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jantan และคณะ⁽⁶⁾ ที่ได้ทำการทดสอบ essential oil จากไพล ซึ่งมี (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-butadiene สามารถในการฆ่าเชื้อรา *C. albicans* โดยมี zone of inhibition 14.0 ± 1.7 มิลลิเมตร เมื่อใช้ essential oil ดังกล่าว 0.75 มิลลิกรัม/disc

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก KB cell ในการทำ primary screening ด้วยวิธี MTT assay โดยทดสอบกับสารสกัดหยาบไพลสดและไพลแห้ง DMPBD และ DMPBD dimers พบว่า สารสกัดหยาบไพลสด มีค่าร้อยละการยับยั้งเซลล์ (cytotoxicity) สูงสุดเมื่อเทียบกับสารชนิดอื่น โดยมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกับยา doxorubicin (ร้อยละ 83.8 และ 83.4 ตามลำดับ) และ DMPBD dimers มีค่าร้อยละการยับยั้งเซลล์ (cytotoxicity) ต่ำที่สุดคือ ร้อยละ 13.4

เมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} ของ DMPBD สารสกัดหยาบไพลสด และ สารสกัดหยาบไพลแห้ง เทียบกับยา doxorubicin พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สาร DMPBD ซึ่งเป็นสารสำคัญที่แยกได้จากไพล แสดงค่าฤทธิ์ยับยั้งที่สูงรองลงมา ($IC_{50} = 65.0 \mu\text{g/mL}$) และแตกต่างจากสารสกัดไพลสด ($IC_{50} = 91.5 \mu\text{g/mL}$) และ สารสกัดไพลแห้ง ($IC_{50} = 214.4 \mu\text{g/mL}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาข้อมูลเชิงโครงสร้าง (structure-activity relationship, SAR) พบว่า DMPBD (monomer) เป็นอนุพันธ์ของ chalcone-like compound ที่มีโครงสร้าง α , β -unsaturated ketone อันเป็น pharmacophore สำคัญในการกระตุ้นการยับยั้งการเจริญเติบโตและกระบวนการ apoptosis ของเซลล์มะเร็ง ขณะที่ DMPBD dimers เกิดจากการเชื่อมต่อของ DMPBD สองโมเลกุล ทำให้มีขนาดใหญ่และซึมผ่านเซลล์ได้ยากขึ้น แม้จะมีศักยภาพในการจับโปรตีนหลายตำแหน่ง แต่ประสิทธิภาพลดลง⁽¹⁶⁾ คาดว่าน่าจะเป็นเหตุให้ DMPBD อาจมีศักยภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปาก KB cell line ได้ดีกว่า และ DMPBD dimers ไม่มีศักยภาพ

สรุป

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากของสารสกัดไพลและสารสำคัญ DMPBD กับ DMPBD dimers พบว่า สารสกัดหยาบไพลสดยับยั้งเชื้อได้ที 5,000 $\mu\text{g/ml}$ ส่วน DMPBD มีฤทธิ์ยับยั้งที่ 1,000 $\mu\text{g/ml}$

สำหรับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์มะเร็งช่องปาก KB cell line พบว่า DMPBD อาจมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากไพลสด และไพลแห้งตามลำดับ ในขณะที่ DMPBD dimers ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำไปใช้

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก KB cell line ของสารสกัดไพล DMPBD อาจมีศักยภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง แต่เนื่องจากในงานวิจัย มีข้อจำกัดที่ไม่ได้ทำการทดสอบกับเซลล์ช่องปากปกติ จึงควรจะมีการพัฒนาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ช่องปากปกติเพื่อความปลอดภัยในการพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- Lauritano D, Moreo G, Della Vella F, Di Stasio D, Carinci F, Lucchese A, et al. Oral Health Status and Need for Oral Care in an Aging Population: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16(22): 4558. doi: 10.3390/ijerph16224558.
- Ploysawang P, Rojanamatin J, Prapakorn S, Jamsri P, Pangmuang P, Seeda K, et al. National Cervical Cancer Screening in Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021;22(1):25-30. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.1.25.
- จิราพร ชิตดี, สุรัตน์ มงคลชัยอรัญญา, นพวรรณ โพนนุกูล, พัชรวรรณ สุขุมาลินท์. ผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปาก. ใน: จิราพร ชิตดี, สุรัตน์ มงคลชัยอรัญญา, นพวรรณ โพนนุกูล, พัชรวรรณ สุขุมาลินท์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัท สามเจริญพาณิชย์ (กรุงเทพ) จำกัด ; 2561 : 15-21.
- Bhuiyan MNI, Chowdhury JU, Begum J. Volatile constituents of essential oils isolated from leaf and rhizome of *Zingiber cassumunar* Roxb. *Bangladesh J Pharmacol* 2008;3(2):69-73. doi:10.3329/bjp.v3i2.844.
- Jeenapongsa R, Yoovathaworn K, Sriwatanakul KM, Pongprayoon U, Sriwatanakul K. Anti-inflammatory activity of (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene from *Zingiber cassumunar* Roxb. *J Ethnopharmacol* 2003;87(2-3):143-8. doi: 10.1016/s0378-8741(03)00098-9.
- Jantan IB, Yassin MS, Chin CB, Chen LL, Sim NL. Antifungal activity of the essential oils of nine Zingiberaceae species. *Pharm Biol* 2003;41(5):392-7. <https://doi.org/10.1076/phbi.41.5.392.15941>

7. Han AR, Kim MS, Jeong YH, Lee SK, Seo EK. Cyclooxygenase-2 inhibitory phenylbutenoids from the rhizomes of *Zingiber cassumunar*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2005;53(11):1466-8. doi: 10.1248/cpb.53.1466.
8. Pithayanukul P, Tubprasert J, Wuthi-Udomlert M. In vitro antimicrobial activity of *Zingiber cassumunar* (Plai) oil and a 5% Plai oil gel. *Phytother Res* 2007;21(2):164-9. doi: 10.1002/ptr.2048
9. Lee JW, Min HY, Han AR, Chung HJ, Park EJ, Park HJ, et al. Growth inhibition and induction of G1 phase cell cycle arrest in human lung cancer cells by a phenylbutenoid dimer isolated from *Zingiber cassumunar*. *Biol Pharm Bull* 2007;30(8):1561-4. doi: 10.1248/bpb.30.1561.
10. Silverstein RM, Bassler GC. Spectrometric identification of organic compounds. *J Chem Educ* 1962;39(11):546. <https://doi.org/10.1021/ed039p546>
11. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Time-Domain Information. In: Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Principles of Instrumental Analysis*. 7th.ed. Australia : Cengage Learning ; 2018 : 6.
12. Alaeddini M, Fouladdel S, Etemad-Moghad am S, Azizi E. Expression of fascin protein and mRNA in the KB carcinoma cell line following treatment with doxorubicin. *J Cancer Res Ther* 2011;7(4):427-32. doi: 10.4103/0973-1482.92009.
13. Johnson-Arbor K, Dubey R. Doxorubicin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. [cited 2025 Jan 15]. Available from:URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459232/>
14. Lim TK. *Edible medicinal and non-medicinal plants*. Vol. 1. Netherlands : Springer Dordrecht ; 2012.
15. Kabkrathok P, Jarussophon S, Unger O, Lomarat P, Reutrakul V, Pittayanurak P, et al. Mass spectral analysis of secondary metabolites from *Zingiber montanum* rhizome extract using UHPLC-HR-ESI-QTOF-MS/MS. *Phytochem Anal* 2022;33(1):57-71. doi: 10.1002/pca.3068.
16. Yang J, Lv J, Cheng S, Jing T, Meng T, Huo D, et al. Recent Progresses in Chalcone Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Anticancer Agents Med Chem* 2023;23(11):1265-83. doi: 10.2174/1871520623666230223112530.