สัญญาเลขที่ R2559C206

สำนักหอสมุด

อภินันทนาการ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ของสารสกัดยางไม้จากชันโรง *Tetrigona apicalis* ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ผศ.ดร.จิรภาส จงจิตวิมล	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. รศ.ดร.ธัชคณิน จงจิตวิมล	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 14 มิ.ย. 2565
เลขทะเบียน 105812
เลขเรียกหนังสือ ว QL 568 .A6 ฉ448ร 2559

สนับสนุนโดย
งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีงบประมาณ 2559

สัญญาเลขที่ R2559C206

Executive Summary

ชื่อโครงการวิจัย ฤทธิ์ของสารสกัดยางไม้จากชันโรง *Tetrigona apicalis* ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์ ดร.จิรภาส จงจิตวิมล

สังกัด ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ความสำคัญ

ชันโรงเป็นแมลงกลุ่มเดียวกับผึ้ง แมลงกลุ่มนี้สามารถนำยางจากพืชมาเป็นองค์ประกอบหลักในการสร้างรัง โพรพอลิส (propolis) และปากทางเข้ารัง โดยยางที่ถูกใช้โดยชันโรงในแต่ละพื้นที่จะมีความแตกต่างกัน เนื่องจากภูมิศาสตร์ของแต่ละพื้นที่จะทำให้พบชนิดพืชแตกต่างกัน ทั้งนี้คณะผู้วิจัยยังไม่พบว่ามีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความเป็นไปได้ในการศึกษาคุณสมบัติของยางไม้ที่เป็นองค์ประกอบของปากทางเข้ารังของชันโรง *Tetrigona apicalis* (Smith, 1857) ในการเป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งที่ได้จากยางไม้ของชันโรง *T. apicalis* ในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

งานวิจัยนี้สอดคล้องการยุทธศาสตร์พัฒนาประเทศในการพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานความหลากหลายทางชีวภาพ โดยใช้ความหลากหลายทางชีวภาพและทรัพยากรชีวภาพของท้องถิ่น มาเป็นต้นทุนในการผลิตผลงานวิจัย เพื่อค้นหาชีวมวลท้องถิ่นที่มีศักยภาพ เพื่อการแข่งขันในระดับชาติและหรือระดับนานาชาติได้ โดยส่งผลต่อการเพิ่มมูลค่าของชีวมวลท้องถิ่นในเชิงพาณิชย์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากปากทางเข้ารังของชันโรง *T. apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง

สัญญาเลขที่ R2559C206

ผลสำเร็จของโครงการที่ได้รับ

ผลงานวิจัยได้ส่งให้ผู้ทรงคุณวุฒิของวารสารระดับนานาชาติ คือ Journal of Applied Pharmaceutical Science (เป็นวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล SCOPUS Q2) ซึ่งอยู่ระหว่างการพิจารณาให้ปรับแก้ในรอบที่ 2

ลงชื่อ.....

หัวหน้าโครงการ

สัญญาเลขที่ R2559C206

บทคัดย่อ

ชันโรงเป็นผึ้งที่ไม่มีเหล็กใน มีการสร้างปากทางเข้ารัง ซึ่งมียางไม้เป็นองค์ประกอบหลักคล้ายโพรพอลิส โดยโพรพอลิสมีการศึกษาอย่างกว้างขวางและพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบทางเคมี และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต่างๆ โดยเฉพาะในเซลล์มะเร็ง โดยยางที่ถูกใช้โดยชันโรงในแต่ละพื้นที่จะมีความแตกต่างกัน เนื่องจากภูมิศาสตร์ของแต่ละพื้นที่จะทำให้พบชนิดพืชแตกต่างกัน คณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากปากทางเข้ารังของชันโรง *T. apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง โดยนำตัวอย่างยางไม้ที่เก็บโดย *T. apicalis* ในแต่ละพื้นที่ แช่ลงใน 70% เอธานอล ที่อุณภูมิห้อง นาน 14 วัน แล้วนำสารละลายไปกรองและทำการสกัดตัวทำละลายออก นำสารสกัดหยาบยางไม้ไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และ เซลล์เลนส์ตาของมนุษย์ (LEP) พบว่าค่า LD50 ของเซลล์ HeLa และ LEP ของสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากพื้นที่ต่างๆ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งสองชนิดแบบ dose-dependent โดยมีค่า LD50 ต่อเซลล์มะเร็ง อยู่ในช่วง 461.8 - 525.4 µg/mL ซึ่งมีค่าต่ำกว่า LD50 ต่อเซลล์เลนส์ตาของมนุษย์ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 798.7 - 917.5 µg/mL คณะผู้วิจัยสรุปได้ว่า สารสกัดยางไม้จากปากทางเข้ารังชันโรงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง HeLa ได้ แต่อาจยังไม่เหมาะสมในการศึกษาถึงกลไกจากตายในระดับเซลล์ เนื่องจากข้อกำหนดของ American National Cancers of Institute (NCI) ระบุว่า ค่า IC50 (LD50) ของสารสกัดควรมีค่าต่ำกว่า 30 µg/mL จึงอยู่ในช่วงระดับความเป็นพิษระดับเซลล์ที่สามารถยอมรับได้

สัญญาเลขที่ R2559C206

Abstract

Stingless bees construct their nest entrances from the plant resin, which is a major material like a propolis. In previous studies, propolis of stingless bees has anti-proliferative activity because it chemically contains phenolic content. The aim was to evaluate the anti-proliferative activity of resin collected from *T. apicalis'* nest entrances from Lower Northern Thailand areas. The samples were macerated in 70% ethanol and incubated in room temperature for 14 days. The supernatants were filtered and ethanol residues were then removed. For anti-proliferative activity, the extracted samples were examined against cervical cancer (HeLa) and human lens epithelial (LEP) cells. The result showed that LD50 values of extracts against HeLa and LEP cells were 461.8 - 525.4 and 798.7 - 917.5 µg/mL, which were inhibited as dose-dependent manners. In conclusion, the nest entrance extracts from *T. apicalis* could have an anti-proliferative effect.

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งเป็นสาเหตุของการตายลำดับต้นๆ ซึ่งหนึ่งในวิธีการรักษาคือการใช้สารเคมี (chemotherapy) เมื่อผู้ป่วยได้รับสารเคมีกลุ่มนี้เป็นเวลานานๆ อาจจะส่งผลต่อการที่เซลล์ตอบสนองต่อยาน้อยลงหรือดื้อยานั้นเอง ทั้งนี้เนื่องจากกลไกที่แตกต่างกันออกไป เช่น เกิดการ mutation, DNA methylation, histone modification เป็นต้น (1, 2) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการหายาใหม่ๆ เพื่อการรักษามะเร็ง โดยการวิจัยนี้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากชันโรงเป็นประเด็นที่น่าสนใจในการศึกษาคุณสมบัติต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์

ชันโรงเป็นแมลงกลุ่มเดียวกับผึ้ง แมลงกลุ่มนี้สามารถนำยางจากพืชมาเป็นองค์ประกอบหลักในการสร้างรัง โพรพอลิส (propolis) และปากทางเข้ารัง (3) โดยยางที่ถูกใช้โดยชันโรงในแต่ละพื้นที่จะมีความแตกต่างกัน เนื่องจากภูมิศาสตร์ของแต่ละพื้นที่จะทำให้พบชนิดพืชแตกต่างกัน ทั้งนี้การศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับคุณสมบัติของโพรพอลิสในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต่างๆ (โดยเฉพาะในเซลล์มะเร็ง) เป็นการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยการศึกษาหลักเป็นการศึกษาฤทธิ์ของ โพรพอลิสต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (4-12) ทั้งนี้คณะผู้วิจัยยังไม่พบว่ามีการศึกษาคุณสมบัติของยางไม้ที่ได้จากปากทางเข้ารังของชันโรงในการเป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความเป็นไปได้ในการศึกษาคุณสมบัติของยางไม้ที่เป็นองค์ประกอบของปากทางเข้ารังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในการเป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

งานวิจัยนี้สอดคล้องการยุทธศาสตร์พัฒนาประเทศในการพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานความหลากหลายทางชีวภาพ โดยใช้ความหลากหลายทางชีวภาพและทรัพยากรชีวภาพของท้องถิ่น มาเป็นต้นทุนในการผลิตผลงานวิจัย เพื่อค้นหาชีวมวลท้องถิ่นที่มีศักยภาพ เพื่อการแข่งขันในระดับชาติและหรือระดับนานาชาติได้ โดยส่งผลต่อการเพิ่มมูลค่าของชีวมวลท้องถิ่นในเชิงพาณิชย์

ทฤษฎีและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ยางไม้ที่พบในโพรพอลิสของผึ้งและชันโรงมีองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียง ได้แก่ สารประกอบในกลุ่ม flavonoids (phenolic compounds), aromatic acids, esters, aldehydes, ketones, fatty acids, terpenes, steroids, polysaccharides, hydrocarbons, alcohols, hydroxybenzene เป็นต้น (13-18) ทั้งขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของยางไม้และภูมิศาสตร์ของแต่ละพื้นที่

จากคุณสมบัติของโพรพอลิสต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งที่ได้จากทั้งผึ้งและชันโรงในหลายพื้นที่ทั่วโลก (4-12) รวมถึงประเทศไทย (19) จึงคาดว่ายางไม้จากชันโรงน่าจะคุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้เช่นกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของยางไม้จากชันโรงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย น่าจะมีความเป็นไปได้ในการเป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง

การทบทวนวรรณกรรม

องค์ประกอบและคุณสมบัติของยางไม้

ยางของพืชเป็นองค์ประกอบหลักของปากทางเข้าออกของชันโรง และโพรพอลิสที่พบในแมลงกลุ่ม Apidae ซึ่งยางและโพรพอลิสเป็นผลผลิตที่สำคัญอย่างหนึ่งของแมลงกลุ่มนี้ (17, 20) มีสารประกอบทางเคมีและชีวเคมีที่หลากหลาย เช่นสารประกอบในกลุ่ม flavonoids (phenolic compounds), aromatic acids, esters, aldehydes, ketones, fatty acids, terpenes, steroids, polysaccharides, hydrocarbons, alcohols, hydroxybenzene และอื่นๆ เป็นต้น (13-18) อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบดังกล่าวมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของยางไม้และภูมิศาสตร์ของแต่ละพื้นที่ รวมไปถึงชนิดสายพันธุ์ของผึ้งด้วย (17) โดยสารประกอบทางเคมีดังกล่าวมีคุณสมบัติที่หลากหลาย เช่น มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (antibacterial and fungal properties) (14, 19, 21, 22) มีฤทธิ์ต่อต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (anti-proliferative properties) (4-12, 23-26) มีฤทธิ์ต่อต้านปรสิต (antiparasitic properties) (27-29) เป็นต้น

ชันโรง

ชันโรงเป็นแมลงในกลุ่มเดียวกับผึ้งที่ให้น้ำหวาน วงศ์ Apidae อันดับ Hymenoptera (3) โดยชันโรงเป็นผึ้งซึ่งไม่มีเหล็กใน ขนาดตัวของชันโรงโดยเฉลี่ยมีขนาดเล็กกว่าผึ้งประมาณ 2-3 เท่า ชันโรงสามารถเก็บน้ำผึ้งและเก็บยางไม้เพื่อเป็นองค์ประกอบในโพรพอลิสได้เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของน้ำผึ้งและโพรพอลิสจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งพืชที่ชันโรงไปเก็บมา (30) ชันโรงที่พบในประเทศไทยมี 35 ชนิด (31) ชนิดที่มีการกระจายตัวมากในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย คือ *Tetrigona apicalis* (32, 33)

การรายงานคุณสมบัติของโพรพอลิสในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง

จากงานวิจัยทั้งในต่างประเทศและประเทศไทย พบว่าในส่วนของโพรพอลิสมีคุณสมบัติที่หลากหลาย หนึ่งในคุณสมบัติที่น่าสนใจคือ คุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง โดยสารประกอบเคมีที่ฤทธิ์ดังกล่าวมีหลากหลายชนิดเช่นกัน เช่น flavonoids, terpenes, caffeic acid

phenethyl ester (CAPE) เป็นต้น (18) ในประเทศอินเดีย มีการศึกษาคุณสมบัติของโพรพอลิสที่ได้จากชันโรงในเขตพื้นที่หนึ่งในประเทศอินเดียต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งของมนุษย์หลายชนิด เช่น MCF-7 (breast cancer), HT-29 (colon adenocarcinoma), Caco-2 (epithelial colorectal adenocarcinoma) เป็นต้น พบว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยเอธานอลสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งดังกล่าวได้ (6) ในการศึกษาของ de Cunha (7) เกี่ยวกับฤทธิ์ของโพรพอลิสของชันโรง *Melipona scutellaris* ในประเทศของบราซิลต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งหลายชนิด พบว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยเอธานอลสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ปกติในระดับต่ำ (weak activity) ขณะที่สามารถยังยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งบางชนิดในระดับกลาง (moderate activity) เช่น melanoma cell lines (UACC-62), ovarian cancer cell lines (OVCAR-3) เป็นต้น สำหรับในประเทศไทยมีรายงานคุณสมบัติของโพรพอลิสที่ได้จากชันโรงสายพันธุ์ *Trigona laeviceps* ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยการศึกษานี้พบว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของมะเร็ง SW620 (colon carcinoma cell) มากกว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยเมธานอล ทั้งนี้ผ่านการตายของเซลล์แบบ necrosis (19) ยังมีการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์อีกมากซึ่งให้ผลการศึกษาสอดคล้องกันกับผลของโพรพอลิสที่ได้จากประเทศต่างๆทั่วโลก เช่น เนเธอร์แลนด์ (4), นิวซีแลนด์ (5), เกาหลี (8), อินโดนีเซีย (9), ญี่ปุ่น (10), ตุรกี (11), โปแลนด์ (12) เป็นต้น ทั้งนี้ฤทธิ์ดังกล่าวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโพรพอลิสที่ใช้ในแต่ละงานวิจัย (4-12)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากปากทางเข้ารังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ทราบคุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของปากทางเข้าออกรังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย และทำให้มีข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการต่อยอดงานวิจัยในระยะยาวทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างยางไม้ที่ได้จากปากทางเข้าออกของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในภาชนะทึบที่มีฝาปิด ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย กำแพงเพชร และเพชรบูรณ์ เพื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอล (70%v/v) ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม เพื่อให้ได้เป็น ethanolic crude extracts
2. นำตัวอย่างมาสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย 70%v/v ethanol ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน แล้วกรองตะกอนออก นำตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวผ่านการระเหยเอาส่วนของตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator (Buchi R-124, Switzerland) เรียกส่วนนี้ว่า ethanolic nest entrance extracts (eNEEs) โดยให้สารสกัดแต่ละชนิดมีชื่อตามตาราง 1 ทั้งนี้เก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนใช้จะนำมาละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO)

ตาราง 1. ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างชันโรงและการเรียกชื่อสารสกัด

ตำแหน่ง		UTM Coordinate	ชื่อสารสกัด
จังหวัด	อำเภอ		eNEEs
พิษณุโลก (PLK)	วังทอง	47Q 0660845E 1865406N	eNEE1
เพชรบูรณ์ (PCB)	เขาค้อ	47Q 0706787E 1839503N	eNEE2
สุโขทัย (SKT)	คีรีมาศ	47Q 0573280E 1866562N	eNEE3
กำแพงเพชร (KPP)	คลองลาน	47Q 0528036E 1790434N	eNEE4

3. เซลล์มะเร็งที่ใช้ในการทดสอบคือ เซลล์ HeLa (เซลล์มะเร็งปากมดลูก) และเซลล์ควบคุม คือ เซลล์ LEP (เซลล์เลนส์ตาของมนุษย์) จะอยู่ในสภาวะที่ไม่มีและมีสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048, 4096 µg/mL โดยทำการเพาะเลี้ยงในหลุมที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสม และในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
4. ทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ โดยวิธี cell counting kit-8 (Boster Biological Technology, CA, USA).
5. ทดสอบการปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกรวม โดยวิธี Folin-Ciocalteu (34, 35) และปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม โดยวิธีของ Zongo และคณะ (35) รวมทั้งวัดความเข้มข้นสารในกลุ่มของโพลิฟินอลิก โดยใช้วิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ร่วมกับ diode array detector (DAD) และ mass spectrometry detection (MSD) (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) โดยใช้ Zorbax SB C18 column (CA, USA)
6. วิเคราะห์ผลและสรุปผล เขียนรายงานฉบับสมบูรณ์ และเตรียมการเผยแพร่ผลงานวิจัย

บทที่ 3
ผลการวิจัย

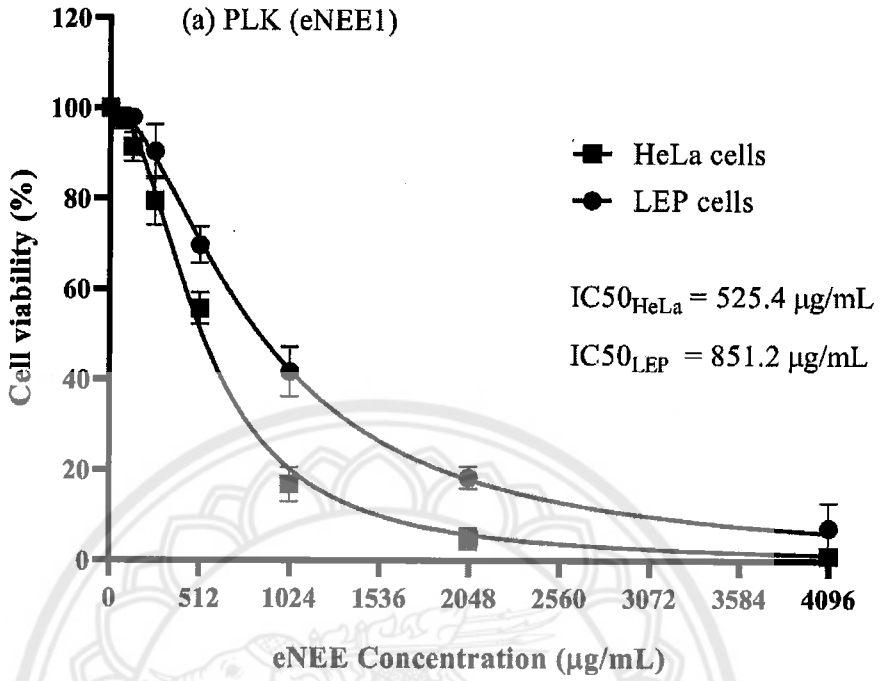
จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดยางไม้ที่ได้จากปากทางเข้ารังของขันโรง *T. apicalis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่าง จากจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย กำแพงเพชร และเพชรบูรณ์ สกัดด้วยตัวทำละลาย 70% ethanol โดยมีตำแหน่งและการเรียกชื่อดังตาราง 1 จากนั้นนำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cells) และเซลล์ควบคุม (LEP cells) ให้ผลการทดสอบดังนี้

3.1 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งปากมดลูกและเซลล์เลนส์ตา มีรูปแบบการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นแบบ dose-dependent

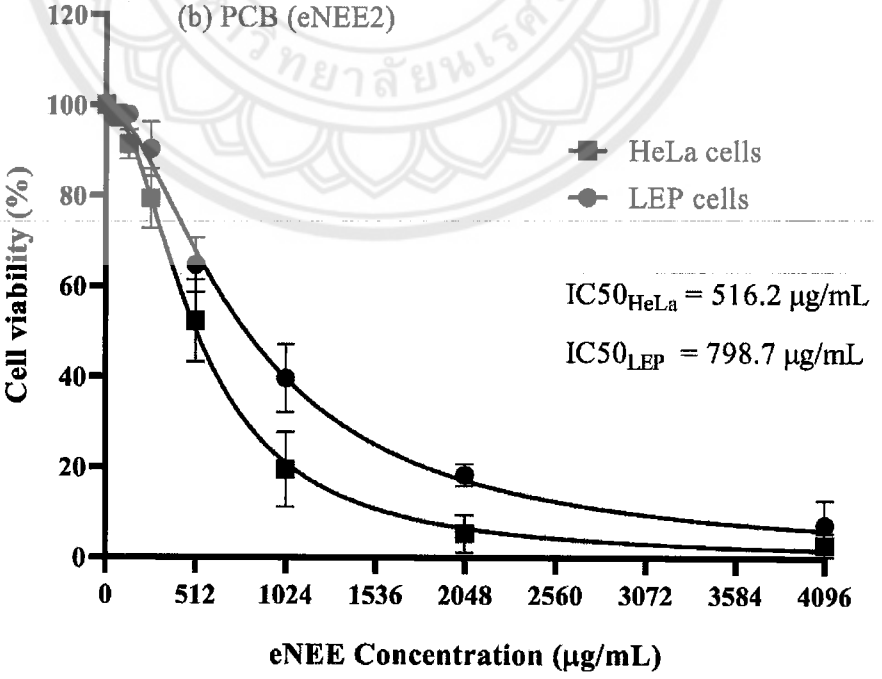
หลังจากเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรงแต่ละชนิด (eNEE1, eNEE2, eNEE3 และ eNEE4) พบว่าเซลล์มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีลักษณะกลมขึ้น มีการลอยตัวบนอาหารเลี้ยงเซลล์ เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้เลี้ยงร่วมกับสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรง เมื่อทำการล้างเซลล์ที่ไม่ได้เกาะกับจานเพาะเลี้ยงออก และทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ โดยใช้ CCK-8 assay kit พบว่าแนวโน้มการเป็นพิษต่อเซลล์คล้ายคลึงกัน โดยผลค่า LD50 ของเซลล์ HeLa และ LEP ของสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรงที่ได้จากจังหวัดต่างๆ แสดงในตาราง 2 และผลการมีชีวิตรอดของเซลล์ทั้งสองชนิด เมื่อเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสภาวะที่มีสารและไม่มีสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรงที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังจาก 48 ชั่วโมง โดยสารสกัดที่ได้จากตัวอย่างในจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย กำแพงเพชร และเพชรบูรณ์ แสดงในภาพ 1a, 1b, 1c และ 1d ตามลำดับ

ตาราง 2 LD50 ของเซลล์ HeLa และ LEP ของสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรงที่ได้จากจังหวัดต่างๆ

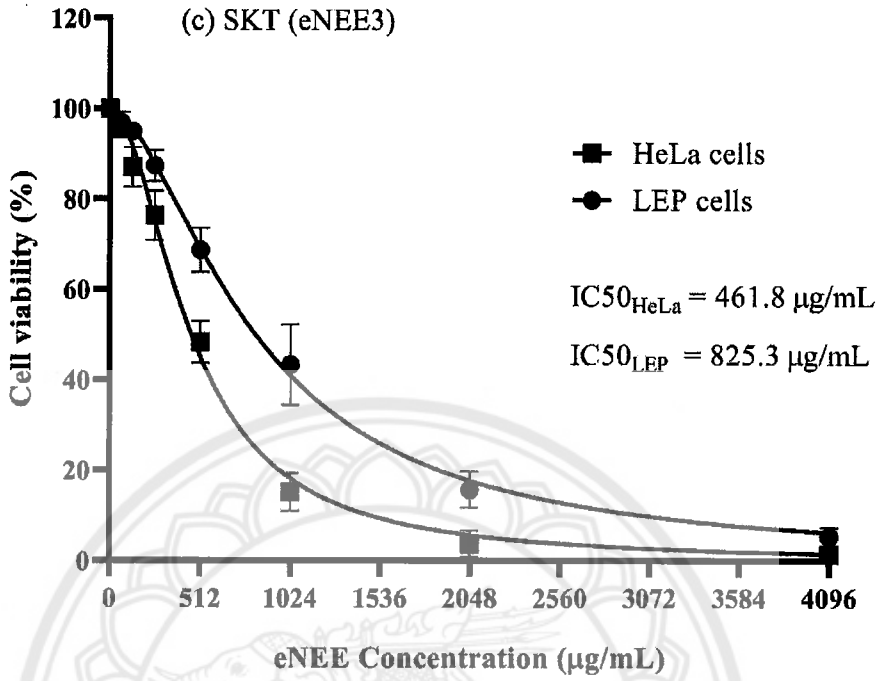
สารสกัด	จังหวัด	LD50 (µg/mL)	
		เซลล์ HeLa	เซลล์ LEP
eNEE1	พิษณุโลก (PLK)	525.4	851.2
eNEE2	เพชรบูรณ์ (PCB)	516.2	798.7
eNEE3	สุโขทัย (SKT)	461.8	825.3
eNEE4	กำแพงเพชร (KPP)	477.4	917.5



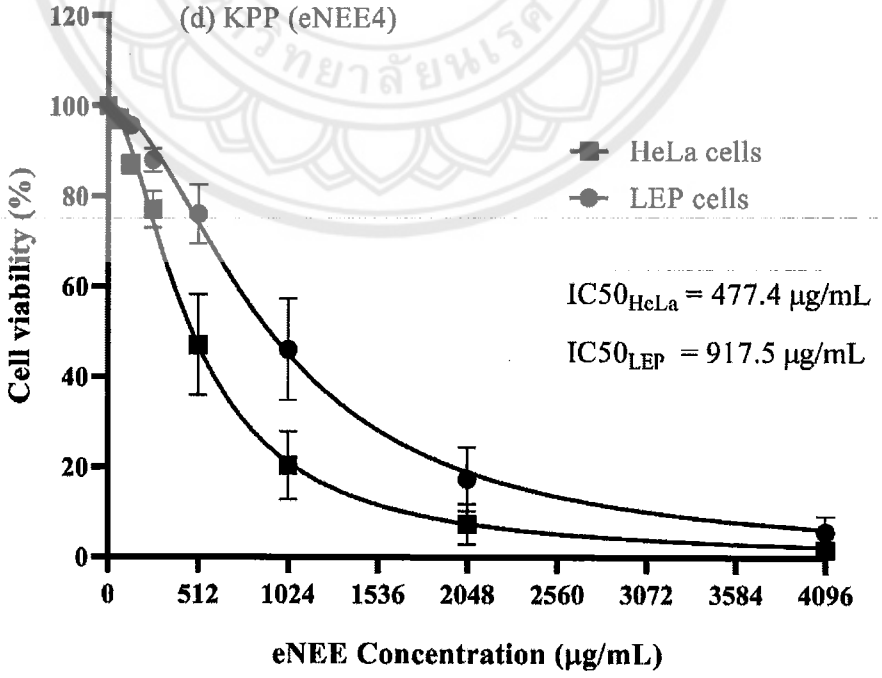
ภาพ 1a ผลการมีชีวิตรอดของเซลล์ HeLa และ LEP ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสภาวะที่มีสารและไม่มีสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากจังหวัดพิษณุโลก ที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพ 1b ผลการมีชีวิตรอดของเซลล์ HeLa และ LEP ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสภาวะที่มีสารและไม่มีสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ



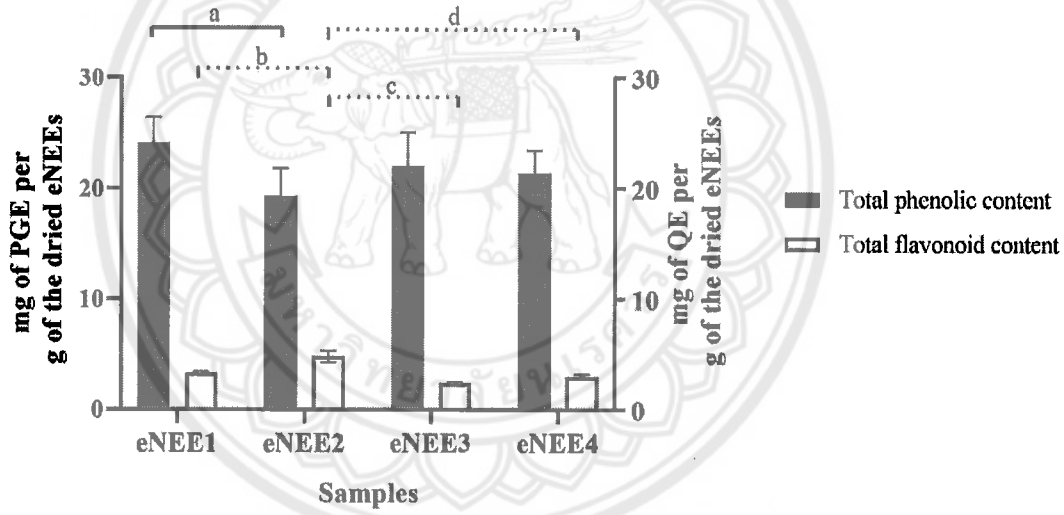
ภาพ 1c ผลการมีชีวิตรอดของเซลล์ HeLa และ LEP ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสภาวะที่มีสารและไม่มีสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากจังหวัดสุโขทัย ที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพ 1d ผลการมีชีวิตรอดของเซลล์ HeLa และ LEP ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสภาวะที่มีสารและไม่มีสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากจังหวัดกำแพงเพชร ที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.2 ผลการทดสอบการปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการตรวจหาสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic contents) และสารประกอบฟลาโวนอยด์ (total phenolic cntents) ในตัวอย่างปากทางเข้ารังชันโรง โดยใช้สาร pyrogallol และสาร quercitin เป็นสารมาตรฐาน ตามลำดับ พบว่า ในสารสกัด eNEEs มีสารประกอบฟีนอลิกระหว่าง 19.3 ถึง 24.1 mg pyrogallol equivalent (PGE) ต่อ 1 กรัมของสารสกัดแห้ง และมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ระหว่าง 2.4 ถึง 4.8 quercetin equivalent (QE) ต่อ 1 กรัมของสารสกัดแห้ง เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าความเข้มข้นของทั้งสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์มีความแตกต่างกันบ้าง ในบางจังหวัด ดังแสดงในภาพ 2



ภาพ 2 แสดงความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัด eNEE ของแต่ละจังหวัด โดยพบความแตกต่างของความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกของสองจังหวัด แสดงเป็น “เส้นทับ” (a คือ มีความแตกต่างระหว่างจังหวัดพิษณุโลกกับเพชรบูรณ์) และพบความแตกต่างของความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสองจังหวัด แสดงเป็น “เส้นประ” (b คือ มีความแตกต่างระหว่างจังหวัดพิษณุโลกกับเพชรบูรณ์, c คือ มีความแตกต่างระหว่างจังหวัดเพชรบูรณ์กับสุโขทัย และ d คือ มีความแตกต่างระหว่างจังหวัดเพชรบูรณ์กับกำแพงเพชร) ทั้งนี้เป็นการทดสอบโดยใช้สถิติ one-way ANOVA และ Post Hoc test (p values < 0.05)

1052812

สำนักหอสมุด 14 ม.ค. 2565

3.3 ผลการตรวจสอบชนิดของสารเคมีที่พบในสารสกัดปากทางเข้ารังขันโรง

จากการตรวจสอบชนิดของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ใน eNEE ที่ได้จากตัวอย่างของแต่ละจังหวัด พบสารชนิดต่างๆ ดังนี้ catechin, eriodictyol, gallic acid, hydroquinin, isoquercetin, quercetin, rutin และ tannic acid โดยไม่พบ apigenin และ kaempferol ในการศึกษานี้ ดังแสดงในตาราง 3 ทั้งนี้พบว่าสาร quercetin และ hydroquinin มีปริมาณสูงเป็นลำดับต้นๆ ในสารสกัด eNEEs คือมีความเข้มข้น 215.2-304.4 mg/kg และ 209.6-377.4 mg/kg ตามลำดับ

ตาราง 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดที่พบในสารสกัด eNEEs ในแต่ละพื้นที่

สารเคมี	ปริมาณ (mg/kg of dried eNEEs)			
	eNEE1	eNEE2	eNEE3	eNEE4
apigenin	ND	ND	ND	ND
catechin	63.8	47.0	26.4	54.2
eriodictyol	29.4	15.2	23.4	36.4
gallic acid	38.2	45.0	68.2	25.4
hydroquinin	377.4	318.6	209.6	269.0
isoquercetin	19.6	39.2	33.0	27.6
kaempferol	ND	ND	ND	ND
quercetin	263.8	252.8	215.2	304.4
rutin	27.2	70.4	56.6	39.0
tannic acid	96.2	122.6	86.4	143.6

ND, not detected

บทที่ 4
สรุป และวิจารณ์

ในการสกัดตัวอย่างยางไม้จากโพรพอลิสในงานวิจัยก่อนหน้า พบว่าตัวทำละลายที่นิยมใช้ คือ น้ำ และเอธานอล (ethanol) (36) ที่มีคุณสมบัติของการมีขั้วหรือไม่มีขั้วที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติของปากทางเข้ารังซึ่งมียางไม้เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นตัวอย่างปากทางเข้ารังน่าจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว คณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามงานวิจัยก่อนหน้าที่เกี่ยวกับการสกัดสารจากพืชใช้ความเข้มข้นของ ethanol ที่แตกต่างกันไป โดยความเข้มข้นที่ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ 70% ทั้งนี้การศึกษานี้เป็นการทดสอบขั้นต้น (preliminary experiment) อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยควรทำการสกัดสารด้วยความเข้มข้นของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน รวมถึงควรสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ดีที่สุดที่สามารถสกัดตัวอย่างปากทางเข้ารังของชันโรงได้ดี และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์สูงที่สุด

หลังจากเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงแต่ละชนิด (eNEE1, eNEE2, eNEE3 และ eNEE4) พบว่าเซลล์มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีลักษณะกลมขึ้น มีการลอยตัวบนอาหารเลี้ยงเซลล์ เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้เลี้ยงร่วมกับสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรง แสดงถึงการการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์เมื่อสัมผัสกับสารสกัด จากผลค่า LD50 ของเซลล์ HeLa และ LEP ของสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงที่ได้จากจังหวัดต่างๆ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งสองชนิดแบบ dose-dependent โดยผลจากผลของค่า LD50 ในการศึกษานี้ พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (461.8-525.4 µg/mL) มากกว่าเซลล์เลนส์ตาของมนุษย์ (798.7-917.5 µg/mL) ซึ่งค่า LD50 ดังกล่าวถือว่าสูงมาก (มากกว่า 450 µg/mL) เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ซึ่งมักรายงาน LD50 ของสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่ำกว่า 50-100 µg/mL หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า สารสกัด eNEEs ของการศึกษานี้ มีความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งสูงกว่าการศึกษาอื่นๆ ถึงประมาณ 4-10 เท่า (36-38) นอกจากนี้ ข้อกำหนดของ American National Cancers of Institute (NCI) ระบุว่า ค่า IC50 (LD50) ของสารสกัดควรมีค่าต่ำกว่า 30 µg/mL จึงอยู่ในช่วงระดับความเป็นพิษระดับเซลล์ที่สามารถยอมรับได้ จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า สารสกัด

eNEEs ยังไม่เหมาะสมที่จะเป็นสารจากธรรมชาติในการศึกษาการยับยั้งเซลล์มะเร็ง จึงเป็นเห็นผลที่ทำให้ผู้วัจัยตัดสินใจไม่เลือกสารสกัดเหล่านี้ไปศึกษาถึงกลไลต่างๆ ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง ได้แก่ ประเด็นการบาดเจ็บของเซลล์มะเร็ง การเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง การแบ่งตัวของเซลล์ และการตายของเซลล์แบบ apoptosis แต่ปรับเปลี่ยนเป็นการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และศึกษาชนิดของสารประกอบเหล่านี้ที่พบในสารสกัด eNEEs แทน

การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัด eNEEs ที่ได้ในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันไป ทั้งนี้เป็นผลมาจากหลายปัจจัย เช่น ความแตกต่างทางภูมิศาสตร์ แหล่งและฤดูของยางไม้ที่ชันโรงเก็บเพื่อนำยางมาสร้างปากทางเข้ารัง เป็นต้น (40, 41) ส่งผลให้มีองค์ประกอบของปากทางเข้ารังชันโรงของแต่ละพื้นที่แตกต่างกันไป การศึกษานี้ยังพบอีกว่าในสารสกัด eNEEs มีสารประกอบหลากหลายชนิด เช่น catechin, eriodictyol, gallic acid, hydroquinin, isoquercetin, quercetin, rutin และ tannic acid จากผลการศึกษานี้ มีความเป็นไปได้ว่าสารที่พบอาจจะมีฤทธิ์ในยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้ ควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคตเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนมากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น quercetin, hydroquinin เป็นต้น เนื่องจากเป็นสารที่พบในปริมาณสูงจากสารสกัด eNEEs สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า ที่รายงานว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์น่าจะฤทธิ์ในการเป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์ (36, 42) เช่น การศึกษาสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในโพรพอลิสและน้ำผึ้ง (43-45) สามารถส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด เช่น เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งในช่องปาก มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น (36, 42, 46, 47)

โดยสรุป สารสกัด eNEEs อาจจะยังไม่เหมาะสมที่จะเป็นสารจากธรรมชาติในการศึกษาการยับยั้งเซลล์มะเร็ง แต่สาร quercetin และ hydroquinin ซึ่งเป็นสารที่พบในสารสกัดปากทางเข้ารังชันโรงมีความเป็นไปได้ว่าจะมีฤทธิ์ในยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้ ทั้งนี้ควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

บรรณานุกรม

1. Ma J, Dong C, Ji C. MicroRNA and drug resistance. Cancer Gene Ther. 2010;17(8):523-31.
2. Umthong S, Phuwapraisirisan P, Puthong S, Chanchao C. In vitro antiproliferative activity of partially purified Trigona laeviceps propolis from Thailand on human cancer cell lines. BMC Complem Altern M. 2011;11:37.
3. Gomez-Escobar E, Liedo P, Montoya P, Vandame R, Sanchez D. Behavioral response of two species of stingless bees and the honey bee (Hymenoptera: Apidae) to GF-120. Journal of economic entomology. 2014;107(4):1447-9.
4. Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, Tezuka Y, Awale S, Midorikawa K, et al. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. J Ethnopharmacol. 2002;80(1):67-73.
5. Catchpole O, Mitchell K, Bloor S, Davis P, Suddes A. Antiproliferative activity of New Zealand propolis and phenolic compounds vs human colorectal adenocarcinoma cells. Fitoterapia. 2015;106:167-74.
6. Choudhari MK, Haghniaz R, Rajwade JM, Paknikar KM. Anticancer Activity of Indian Stingless Bee Propolis: An In Vitro Study. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013:1-10.
7. da Cunha M, Franchin M, Galvão L, de Ruiz A, de Carvalho J, Ikegaki M, et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee Melipona scutellaris geopropolis. BMC Complem Altern M. 2013;13(1):1-9.
8. Eom HS, Lee EJ, Yoon BS, Yoo BS. Propolis inhibits the proliferation of human leukaemia HL-60 cells by inducing apoptosis through the mitochondrial pathway. Nat Prod Res. 2010;24(4):375-86.
9. Kustiawan PM, Puthong S, Arung ET, Chanchao C. In vitro cytotoxicity of Indonesian stingless bee products against human cancer cell lines. Asian Pac J Trop Biomed. 2014;4(7):549-56.

10. Motomura M, Kwon KM, Suh SJ, Lee YC, Kim YK, Lee IS, et al. Propolis induces cell cycle arrest and apoptosis in human leukemic U937 cells through Bcl-2/Bax regulation. Environ Toxicol Pharmacol. 2008;26(1):61-7.
11. Seda Vatansever H, Sorkun K, Ismet Deliloglu Gurhan S, Ozdal-Kurt F, Turkoz E, Gencay O, et al. Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell lines. Acta histochemica. 2010;112(6):546-56.
12. Szliszka E, Sokol-Letowska A, Kucharska AZ, Jaworska D, Czuba ZP, Krol W. Ethanolic Extract of Polish Propolis: Chemical Composition and TRAIL-R2 Death Receptor Targeting Apoptotic Activity against Prostate Cancer Cells. Evid Based Complementary Altern Med : eCAM. 2013;2013:757628.
13. Bankova VS, de-Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie. 2000;31(1):3-15.
14. Farnesi AP, Aquino-Ferreira R, De Jong D, Bastos JK, Soares AE. Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. Genet Mol Res. 2009;8(2):635-40.
15. Kubiliene L, Laugaliene V, Pavilonis A, Maruska A, Majiene D, Barcauskaite K, et al. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. BMC Complem Altern M. 2015;15:156.
16. Marcucci M, C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie. 1995;26(2):83-99.
17. Sawaya AC, Barbosa da Silva Cunha I, Marcucci MC. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. Chem Cent J. 2011;5(27):1-10.
18. Watanabe MA, Amarante MK, Conti BJ, Sforcin JM. Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: a review. J Pharm Pharmacol. 2011;63(11):1378-86.
19. Umthong S, Puthong S, Chanchao C. *Trigona laeviceps* propolis from Thailand: antimicrobial, antiproliferative and cytotoxic activities. Am J Chin Med. 2009;37(5):855-65.

20. Sawaya AC, Calado JCP, Santos LCd, Marcucci MC, Akatsu IP, Soares AEE, et al. Composition and antioxidant activity of propolis from three species of *Scaptotrigona* stingless bees. JAAS. 2009;1(2):37-42.

21. Majiene D, Macioniene I, Kursvietiene L, Bernatoniene J, Davalgiene J, Lazauskas R, et al. The effect of propolis on microbial vitality and oxygen consumption. J Med Plants Res. 2010;4(10):953-8.

22. Sawaya AC, Palma AM, Caetano FM, Marcucci MC, da Silva Cunha IB, Araujo CE, et al. Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. Lett Appl Microbiol. 2002;35(3):203-7.

23. Kubina R, Kabala-Dzik A, Dziedzic A, Bielec B, Wojtyczka RD, Buldak RJ, et al. The ethanol extract of Polish propolis exhibits anti-proliferative and/or pro-apoptotic effect on HCT 116 colon cancer and Me45 malignant melanoma cells *in vitro* conditions. Adv Clin Exp Med. 2015;24(2):203-12.

24. Borges KS, Brassesco MS, Scrideli CA, Soares AE, Tone LG. Antiproliferative effects of Tubi-bee propolis in glioblastoma cell lines. Genet Mol Biol. 2011;34(2):310-4.

25. Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, Midorikawa K, Matsushige K, Message D, et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. J Ethnopharmacol. 2000;72(1-2):239-46.

26. Teerasripreecha D, Phuwapraisirisan P, Puthong S, Kimura K, Okuyama M, Mori H, et al. In vitro antiproliferative/cytotoxic activity on cancer cell lines of a cardanol and a cardol enriched from Thai *Apis mellifera* propolis. BMC complementary and alternative medicine. 2012;12:1-27.

27. Alday-Provencio S, Diaz G, Rascon L, Quintero J, Alday E, Robles-Zepeda R, et al. Sonoran propolis and some of its chemical constituents inhibit *in vitro* growth of *Giardia lamblia* trophozoites. Planta Med. 2015;81(9):742-7.

28. Ayres DC, Marcucci MC, Giorgio S. Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(2):215-20.

29. Otoguro K, Iwatsuki M, Ishiyama A, Namatame M, Nishihara-Tsukashima A, Kiyohara H, et al. In vitro antitrypanosomal activity of some phenolic compounds from propolis and lactones from Fijian Kawa (Piper methysticum). J Nat Med. 2012;66(3):558-61.

30. Simone-Finstrom M, Spivak M. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. Apidologie. 2010;41(3):295-311.

31. Rasmussen C, Cameron SA. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. Biol J Linnean Soc. 2010;99(1):206-32.

32. Jongjitvimol T, Petchsri S. Native bee pollinators and pollen sources of Apidae (Hymenoptera) in four forest types of lower Northern Thailand. Sains Malaysiana. 2015;44(4):529–36.

33. Jongjitvimol T, Poolprasert P. Pollen sources of stingless bees (Hymenoptera: Meliponinae) in Nam Nao national park. NU International Journal of Science. 2014;11(2):1-10.

34. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 1999;299:152-78.

35. Zongo C, Savadogo A, Ouattara L, Bassole I, Ouattara C, Ouattara A, Barro N, Koudou J, Traore A. Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of Ampelocissus grantii (Baker) Planch.(Vitaceae): A medicinal plant from Burkina Faso. Int J Pharmacol. 2010;6:880-7.

36. Khacha-Ananda S, Tragoolpua K, Chantawannakul P, Tragoolpua Y. Antioxidant and anti-cancer cell proliferation activity of propolis extracts from two extraction methods. Asian Pac J Cancer Prev. 2013; 14:6991-5.

37. Borawska MH, Naliwajko SK, Moskwa J, Markiewicz-Zukowska R, Puścion-Jakubik A, Soroczynska J. Anti-proliferative and anti-migration effects of Polish propolis combined with Hypericum perforatum L. on glioblastoma multiforme cell line U87MG. BMC Complement Altern Med. 2016; 16:367.

38. Aru B, Güzelmeric E, Akgül A, Demirel GY, Kırmızıbekmez H. Antiproliferative activity of chemically characterized propolis from Turkey and its mechanisms of action. Chem Biodivers. 2019; 16:e1900189.

39. Suffness M, Pezzuto JM. 1991. Assays related to cancer drug discovery in Hostettmann K, ed. Methods in plant biochemistry: Assays for bioactivity London: Academic Press 71-133.

40. Sforcin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? J Ethnopharmacol. 2011; 133:253-60.

41. Huang S, Zhang C-P, Wang K, Li G, Hu F-L. Recent advances in the chemical composition of propolis. Molecules, 2014; 19:19610-32.

42. Žižić JB, Vuković NL, Jadranin MB, Anđelković BD, Tešević VV, Kacaniova MM, Sukdolak SB, Marković SD. Chemical composition, cytotoxic and antioxidative activities of ethanolic extracts of propolis on HCT-116 cell line. J Sci Food Agric, 2013; 93:3001-9.

43. Cushnie TT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2005; 26:343-56.

44. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. Curr Opin Biotech. 2012; 23:174-81.

45. Spatafora C, Tringali C. Natural-derived polyphenols as potential anticancer agents. Anti-Cancer Agent Me. 2012; 12:902-18.

46. Barbarić M, Mišković K, Bojić M, Lončar MB, Smolčić-Bubalo A, Debeljak Ž, Medić-Šarić M. Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. J Ethnopharmacol. 2011; 135:772-8.

47. Kaewmuangmoon J, Nonthapa P, Rattanawannee A, Winayanuwattikun P, Chanchao C. Preliminary screening for various bioactivities in honey and propolis extracts from Thai bees. European J Med Plants. 2012; 2:74-92.

ภาคผนวก

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ที่กิจกรรมวางแผนไว้ และ กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์ที่กิจกรรมวางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการ	ผลที่ได้รับ
1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากปากทางเข้ารังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง	ได้ดำเนินการวิจัยสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการวิจัย	ได้ข้อมูลผลของการวิจัยเป็นตามที่ได้ตั้งสมมติฐาน แต่มีการปรับเปลี่ยนชนิดของเซลล์และวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ
2. ผลที่คาดว่าจะได้รับคือ ได้ทราบคุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของปากทางเข้าออกรังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย และทำให้มีข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการต่อยอดงานวิจัยในระยะยาวทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์	ได้ดำเนินการวิจัยสอดคล้องกับผลที่คาดว่าจะได้รับ	ได้ทราบคุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของปากทางเข้าออกรังของชันโรง *Tetrigona apicalis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย และทำให้มีข้อมูลเบื้องต้นเพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการต่อยอดงานวิจัยในระยะยาวทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์
3. ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ	ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่มีค่า Impact Factor	เป็นไปตาม KPI ของการได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัย แต่อยู่ระหว่างการประเมินจากผู้ทรงฯ ของวารสารวิชาการ ทั้งนี้หากถูกปฏิเสธจากวารสาร จะดำเนินการปรับลด KPI ต่อไป