

การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งในเห็ดหิมะ [*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst.]



นายปริญญา รัตนะนิมาน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

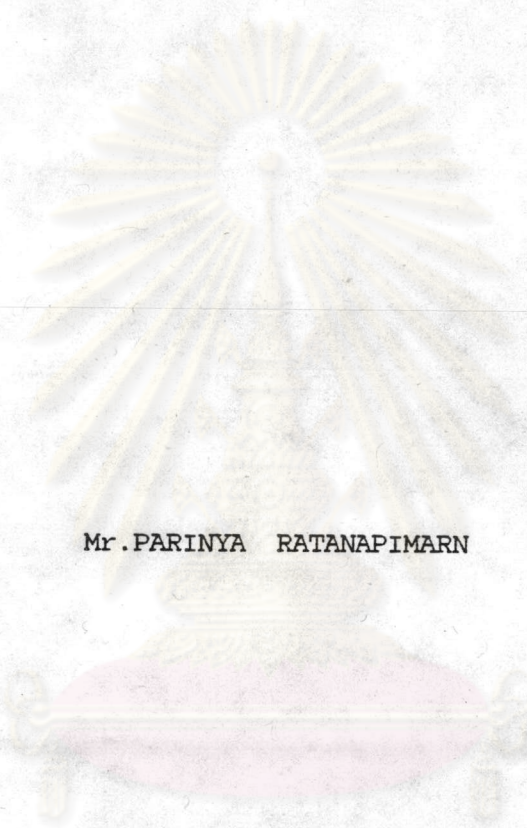
2535

ISBN 974-581-697-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018750 117898605

PRODUCTION OF ANTITUMOR COMPOUNDS IN GANODERMA LUCIDUM (FR.) KARST.



Mr. PARINYA RATANAPIMARN

ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณาจารย์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Raquirements

for the Degree of Master of Science

Programme Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1992

ISBN 974-581-697-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งในเห็ดหมื่นปี

[*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst.]

โดย นายปริญญา รัตนหิมาณ

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สันต์ ผนังชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ สุทอพรรณ ตริรัตน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ھرรษา ปุณณพย์คย์



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรรณมหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย ฌบนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ภาาร วัชรนัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งนิพนธ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สันต์ ผนังชัยกุล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุทอพรรณ ตริรัตน์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ھرรษา ปุณณพย์คย์)

..... กรรมการ

(นายมติ เھرียุทธิการ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ปริญญา รัตนะพิมาน : การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งในเห็ดหมื่นปี [Ganoderma lucidum (Fr.) Karst.] (PRODUCTION OF ANTITUMOR COMPOUNDS IN GANODERMA LUCIDUM (FR.) KARST.) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สัมพันธ์ พมิขยกุล, รศ.สุทธพรณ ตรีรัตน์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.हरรรษา ปุณณะพยัคฆ์, 109 หน้า. ISBN 974-581-697-3

การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปีในอาหารเหลว พบว่าเส้นใยเจริญเติบโตในอาหารสูตร PD ได้สูงกว่าอาหารสูตรสังเคราะห์ แต่จะใกล้เคียงกับอาหารสูตร YME และ ทำการเพาะดอกเห็ดในถุงวัสดุเพาะเชื้อเลี้ยงไมยารพาสกับรำข้าว 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบในเส้นใยเห็ดที่เลี้ยงในอาหารเหลวอายุ 30 วัน โดยสกัดแยกด้วยน้ำร้อน พบว่ามีสารโพลีแซคคาไรด์ประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนประมาณ 6.6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในดอกเห็ดมีสารโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนประมาณ 66.7 และ 18.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำสารที่สกัดแยกด้วยน้ำร้อนได้จากทั้งเส้นใยและดอกเห็ด มาทำให้บริสุทธิ์สูงขึ้นโดยตกตะกอนด้วยเอธานอล แล้วนำไปผ่านคอลัมน์ ดีอีเออี เซลลูโลส และ เซฟาเดกซ์ จี 75 ตามลำดับ ได้สารโพลีแซคคาไรด์ออกมา 2 กลุ่ม ทั้งในสารสกัดที่ได้จากเส้นใยและดอกเห็ดที่มีรูปแบบโครมาโทกราฟีคล้ายกัน เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งของปากมดลูกคนที่เจริญในหนูไร้ขนของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์และที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นในกลุ่มต่างๆ โดยการฉีดเข้าที่บริเวณช่องท้องของหนู ในช่วงระยะเวลาติดตามผลตลอด 90 วันตั้งแต่เริ่มปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งให้แก่หนู ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากสารสกัดหยาบทั้งจากเส้นใยและดอกเห็ดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในหนูสูงมากในอัตราที่ใกล้เคียงกันทั้ง 2 กลุ่ม และเมื่อทดสอบความเป็นพิษของสารที่สกัดแยกได้จากเห็ดหมื่นปี โดยการฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดให้แก่หนู พบว่ามีค่าแอลดี 50 สูงถึง 6,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง (90 วัน) ยังพบว่าน้ำหนักตัวของหนูไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในทุกกลุ่มทดลอง ผลการทดลองนี้สนับสนุนผลของการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งของสารโพลีแซคคาไรด์ อาจเกิดเนื่องจากไปช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในตัวหนูให้ดีขึ้น



ภาควิชา..... เทคโนโลยีชีวภาพ
สาขาวิชา..... เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา..... 2534

ลายมือชื่อนิติ.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

C126068 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : GANODERMA LUCIDUM/POLYSACCHARIDE/ANTITUMOR

PARINYA RATANAPIMARN : PRODUCTION OF ANTITUMOR COMPOUNDS IN GANODERMA LUCIDUM (FR.) KARST.. THESIS ADVISORS : ASSO. PROF. SANHA PANICHAJAKUL, Ph.D., ASSO. PROF. SUTHAPHUN TRIRATANA, AND ASST. PROF. HUNSA PUNNAPAYAK Ph.D., 109 pp. ISBN 974-581-697-3

Ganoderma lucidum (Fr.) Karst. was cultivated by using the liquid mycelial culture and the sawdust-plastic bag cultivations. The mycelial liquid culture grew favorably in the Potato Dextrose (PD) followed by the Yeast Malt Extract (YME) and a synthetic medium. The sawdust-plastic bag cultivation required the addition of rice bran (5% w./w.) to the para-rubber sawdust. The 30 days old liquid culture mycelia from PD and the fruiting body (sporophores) of the mushroom from the plastic bag cultivation were extracted with the mycelia contained 78% polysaccharides and 6.6% proteins while the sporophores contained 66.7% and 18.4%, respectively. The extracts from both sources were partially purified by using ethanol precipitation and passing through the DEAE cellulose followed by Sephadex G-75. Two groups of polysaccharide were detected from both partial purified extracts of the sporophores and the mycelia, as determined from the chromatographic patterns. The inhibitory effects against human cervical carcinoma of the extracts were determined in nude mice for 90 days after intraperitoneally injected with the carcinoma cells. The data suggested that the two groups of polysaccharide, extracted from either mycelia or sporophores, both inhibited the carcinoma cells. Injection of the crude extract from sporophores to nude mice indicated the LD₅₀ of 6,000 mg./kg. body weight. There was no significant change in body weight during the 90 days period. Thus, suggesting the low toxicity of the mushroom. The inhibitory effect of the polysaccharides is likely to be from the immuno-modulation in those nude mice.



ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2534

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สันต์ พณิชกุล และรองศาสตราจารย์
สุทธพรรณ ตริรัตน์ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษาให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ
ในการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งนิพัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร. ھرรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่ได้กรุณาตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอขอบคุณ คุณพรทิพา พินา คุณเมติ เจริญกิจการ และสัตวแพทย์หญิง
เพียงใจ คู่ประดิดินห์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษาในการทำวิจัยที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ขอบพระคุณท่านคณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีวเคมี ที่กรุณา
ถ่ายทอดความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาชีวเคมี ภาควิชาพฤกษศาสตร์ และสถาบันมะเร็งแห่งชาติ
สถาบันราชประชาสมาสัย ที่ให้ความสนับสนุนทางด้านสารเคมี อุปกรณ์ ตลอดจนสถานที่ทำ
งานวิจัย

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ



	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	ณ

บทที่

1 บทนำ	1
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	13
2.1 วัสดุและเคมีภัณฑ์	13
2.2 อุปกรณ์และครุภัณฑ์	16
2.3 วิธีการทดลอง	18
2.3.1 การผลิตเส้นใยและดอกเห็ดหมึ้นปี	18
2.3.1.1 การเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารเหลว	18
2.3.1.1.1 เตรียมเชื้อเห็ด (inoculum)	18
2.3.1.1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และคัดเลือกอาหารเหลวที่ เหมาะสมแก่การเลี้ยงเส้นใย	18

	หน้า
2.3.1.2 การเพาะดอกเห็ดในถุงขี้เลื่อย	19
2.3.2.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเห็ด (grain spawn)	19
2.3.2.2.2 วิธีการเพาะและการบรรจุถุง	19
2.3.2 การแยกสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>)	20
2.3.2.1 การสกัดสารออกฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งจาก เส้นใยและดอกเห็ด	20
3.3.2.2 การแยกสารประกอบโพลีแซ็กคาไรด์จากสาร สกัดเห็ด	20
2.3.2.2.1 การเตรียมคอลัมน์ ดีอีเออี-เซลลูโลส	20
2.3.2.2.2 การเตรียมคอลัมน์ เซฟาเดกซ์ จี-75	21
2.3.2.2.3 การหาปริมาณสารโพลีแซ็กคาไรด์ ด้วยวิธี Anthrone test	22
2.3.2.2.4 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry's method	22
2.3.3 วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในการ ต่อต้านมะเร็งทางชีวภาพ	22
2.3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง	22
2.3.3.2 การเตรียม donor ของเซลล์มะเร็ง	23
2.3.3.3 การปลูกถ่ายมะเร็งจาก donor ไปยังกลุ่มหนูทดลอง	23

	หน้า
2.3.3.4 การเตรียมสารออกฤทธิ์สำหรับฉีดให้หนูทดลอง ..	26
2.3.3.5 การให้สารออกฤทธิ์แก่หนูทดลอง	26
2.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเห็ดหิมันนี	30
2.5 การตรวจสอบทาง histopathology	30
3 ผลการทดลอง	31
3.1 การเจริญและผลผลิตของเส้นใยและดอกเห็ดหิมันนี	31
3.1.1 การศึกษาเปรียบเทียบชนิดของอาหารเหลือที่เหมาะสม ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยและผลผลิตเส้นใยเห็ดหิมันนี	32
3.1.2 การเพาะเส้นใยเห็ดหิมันนีเพื่อผลิตดอกเห็ดในถุงซีลื้อย ...	38
3.2 การศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะของสารต่อต้านมะเร็ง รังสีที่สกัดได้ จากเห็ดหิมันนี	40
3.2.1 การสกัดแยกสารต่อต้านมะเร็ง รังสีด้วยน้ำร้อนและ ตกตะกอนด้วยเอทานอล	40
3.2.2 การทำให้สารต่อต้านมะเร็ง รังสีบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ ดีอีเออี-เซลลูโลส	42
3.2.3 การทำให้สารต่อต้านมะเร็ง รังสีบริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ เซฟาเดกซ์ จี-75	45
3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารต่อต้านการเจริญเติบโตของมะเร็ง ..	51
3.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวของหนูทดลองในขณะ ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็ง	77
3.5 ผลของการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากเห็ดหิมันนี	81
3.6 ผลการตรวจสอบเนื้อเยื่อทาง histopathology	84

	หน้า
4 วิจัยรณัผลการทดลอง	87
5 สรุปลผลการทดลองและข้อเสนอนเะ	94
บรรณานุกรม	96
ภาคผนวก	104
ประวัติผู้เขียน	109



ศูนย์วิทยพัทยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง



ตารางที่		หน้า
1	จำนวนการตายของประชากรไทยด้วยสาเหตุที่ห้าคัมภ์ และอัตรา (ต่อประชากรแสนคน) พ.ศ. 2530	8
2	Common sites of cancer in 1981-1982	9
3	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) ที่เลี้ยงบนอาหาร เหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C)	33
4	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสของอาหารเหลวชนิดต่างๆที่ใช้ เลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C)	36
5	เปรียบเทียบผลผลิตของสารสกัดจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) สายพันธุ์ MU 220 โดยยใช้สารตั้งต้น 100 กรัม	41
6	เปรียบเทียบผลผลิตของสารโพลีแซ็กคาไรด์จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) สายพันธุ์ MU 220 ที่ได้จากคอลัมน์ ดีอีเออี-เซลลูโลส แล้วนำไปผ่านคอลัมน์ เซฟาเดกซ์ จี-75 โดยยใช้สารตั้งต้น 100 กรัม	50
7	เปรียบเทียบการเจริญของก๊อเมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุม ที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบ จากดอกเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) ปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/นน. น้ำหนักตัว	53
8	เปรียบเทียบการเจริญของก๊อเมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุม ที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบ จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) ปริมาณ 2.0 กรัม/นน. น้ำหนักตัว	57

- 9 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุม
 ที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยก
 ได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) และนำไปทำให้
 บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ
 Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว 62
- 10 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
 ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว
 และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดขยายจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ปริมาณ
 0.5 และ 2.0 กรัม/นน. น้ำหนักตัว 68
- 11 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
 ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว
 และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดขยายจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)
 ปริมาณ 2.0 กรัม/นน. น้ำหนักตัว 71
- 12 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
 ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว
 และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี
 (*G. lucidum*) และนำไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์
 DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก.
 น้ำหนักตัว 74
- 13 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูไร้ขนที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์
 มะเร็งปากมดลูกในกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม
 น้ำหนักตัวและกลุ่มทดลองที่ฉีดสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)..... 78
- 14 ความเป็นพิษของสารสกัดขยายจากเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) 82

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะดอกเห็ดหมื่นปีในธรรมชาติ และลักษณะของสปอร์.....	3
2	วงชีพของเห็ดใน class Basidiomycetes	4
3	โครงสร้างสารประกอบ glucan ที่พบในเห็ดหมื่นปี	7
4	ห้องเลี้ยงหนูไร้ขน (Housing system) สถาบันพระเจี๊วงค์แห่งชาติ ..	14
5	ลักษณะพ่อพันธุ์ที่เป็นหนูไร้ขน (nu,nu) และแม่พันธุ์ที่เป็นหนูขาว (+,nu)(อายุ 30 วัน)	24
6	การทำเครื่องหมายประจำตัวหนูที่จะใช้ในการทดลอง.....	25
7	ขั้นตอนการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งจาก donor ไปยังหนูที่ใช้ทดลอง ..	28
8	การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดหมื่นปี(<i>G. lucidum</i>) บนอาหารเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง(28-32°ซ.)	34
9	ลักษณะของเส้นใยเห็ดหมื่นปี บนอาหารเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง(28-32°ซ.)อายุ 30 วัน	35
10	การเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-เบสของอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปี(<i>G. lucidum</i>) บนอาหารเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง(28-32°ซ.)	37
11	ลักษณะดอกเห็ดหมื่นปี (<i>G. lucidum</i>) เพาะในถุงวัสดุเพาะ 600 กรัม อายุ 30-45 วัน	39

- 12 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งออกจากเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose column ขนาด 3x20 ซม. โดยยใช้สารเริ่มต้น 0.2 กรัมช้ด้วยน้ำและ 0.1 M NaHCO₃ ด้วยอัตราการไหล 30 มล./ชม. เก็บแฟรกชันละ 5 มล..... 43
- 13 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งออกจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose column ขนาด 3x20 ซม. โดยยใช้สารเริ่มต้น 0.2 กรัมช้ด้วยน้ำและ 0.1 M NaHCO₃ ด้วยอัตราการไหล 30 มล./ชม. เก็บแฟรกชันละ 5 มล..... 44
- 14 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose column และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ 2 ไปผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 ช้ด้วยน้ำด้วยอัตราการไหล 15 มล./ชม. เก็บแฟรกชันละ 5 มล..... 46
- 15 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose column และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ 2 ไปผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 ช้ด้วยน้ำด้วยอัตราการไหล 15 มล./ชม. เก็บแฟรกชันละ 5 มล..... 47
- 16 การเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกที่เลี้ยงในหนูไร่ชน โดยมีขนาดเซลล์ เริ่มต้นประมาณ 5 ลบ.มม. เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 60 วัน..... 52

- 17 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีด
น้ำกลั่น ปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัด
หยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ปริมาณ 0.5 และ 0.2 กรัม/กก.
น้ำหนักตัว..... 55
- 18 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีด
น้ำกลั่น ปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัด
หยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ปริมาณ 0.2
กรัม/กก. น้ำหนักตัว..... 59
- 19 เปรียบเทียบขนาดก้อนมะเร็งที่เจริญในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5
มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใย
เห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอธานอล
หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์ได้ 45 วัน..... 60
- 20 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่
ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดแยกได้จาก
ดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) และนำไปทำให้บริสุทธิ์
เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75
ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว..... 64
- 21 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่
ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดแยกได้จาก
ดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) และนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์
DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์
ได้ 45 วัน..... 65

- 22 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่
ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดแยกได้
จากเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) และนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์
DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์
ได้ 45 วัน..... 66
- 23 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม
น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)
ปริมาณ 0.5 กรัม และ 2.0 กรัม/กก. น้ำหนักตัว 70
- 24 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม
น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี
(*G. lucidum*) ปริมาณ 2.0 กรัม/กก. น้ำหนักตัว 73
- 25 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็ง
ปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม
น้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี
(*G. lucidum*) แล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ DEAE-cellulose และ
Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว..... 76
- 26 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูไร้ขนที่ได้รับการปลูกถ่าย
เซลล์มะเร็งปากมดลูกในกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25
กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มทดลองที่ฉีดสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)... 79
- 27 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัด
ด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล เมื่อฉีดให้หนูในปริมาณต่างๆกัน 83

รูปที่

หน้า

- 28 ลักษณะเซลล์มะเร็งปากมดลูกแบบ Squamous cell carcinoma
ที่ได้จากหนูไร้ขน (กำลังขยาย 800 เท่า)..... 85
- 29 ลักษณะ เซลล์ของอวัยวะภายในของหนูไร้ขนที่ตรวจไม่พบการแพร่กระจายของ
เซลล์มะเร็งปากมดลูกหลังจากทำการปลูกถ่ายเป็นเวลา 3 เดือน(กำลังขยาย
800 เท่า) 86



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย