

การเตรียมสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง  
*Caenorhabditis elegans* เพื่อใช้เป็นโมเดล  
ในการทดสอบความเป็นพิษของสารจากธรรมชาติ

นางสาวกัญชลิกา มุลกัน  
นางสาวกิงกาญจน์ แร่ทอง

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2560

OPTIMIZING CULTURE CONDITIONS OF  
*Caenorhabditis elegans* AS MODEL  
IN TOXICITY TESTING OF NATURAL SUBSTANCE

MISS KANCHALIKA MOOLKAN  
MISS KINGKAN RAETHONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY

2017

โครงการพิเศษ

เรื่อง การเตรียมสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Caenorhabditis elegans* เพื่อใช้  
เป็นโมเดลในการทดสอบความเป็นพิษของสารจากธรรมชาติ

.....  
(นางสาวกัญชลิกา มุลกัน)

.....  
(นางสาวกิงกาญจน์ แร่ทอง)

.....  
(ผศ.ดร. จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล)  
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....  
(ผศ.ดร. วรวรรณ กิจผาติ)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....  
(ผศ.ดร. วิณา นุกุลการ)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....  
(อ.ดร. สุเมธ จงจุโรจน์)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....  
(นางโสภภาพรรณ รัตนประพันธ์พร)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

# การเตรียมสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Caenorhabditis elegans* เพื่อใช้เป็นโมเดลในการทดสอบความเป็นพิษของสารจากธรรมชาติ

กัญชลิลา มุลกัน, กิ่งกาญจน์ แร่ทอง

อาจารย์ที่ปรึกษา : จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล\*, วรวรรณ กิจผาติ\*\*, วิณา นุกูลการ\*\*\*, สุเมธ จรุงจิโรจน์\*, ไสภาพรรณ รัตนประพันธ์พร\*\*\*\*

\*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*\*ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*\*\*ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

คำสำคัญ : *Caenorhabditis elegans*, สารสกัด, ตัวยาอายุวัฒนะ, ความเป็นพิษเฉียบพลัน, LD<sub>50</sub>

*Caenorhabditis elegans* จัดอยู่ในอาณาจักร Animalia ไฟลัม Nematoda ซึ่งจัดเป็นหนอนพยาธิตัวกลมที่มีการนำมาใช้เป็นโมเดลในการทดสอบความเป็นพิษ เนื่องจากยีนของ *C. elegans* มีความคล้ายคลึงกับยีนของมนุษย์จึงได้จัดทำโครงการพิเศษนี้เพื่อศึกษาและเตรียมสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *C. elegans* ในการใช้เป็นโมเดลสำหรับทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดด้วยน้ำของยาอายุวัฒนะ ผลพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง *C. elegans* คือ ที่อุณหภูมิประมาณ 22 องศาเซลเซียส อาหารที่ใช้เลี้ยงคือแบคทีเรีย *Escherichia coli* ที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NGM การพัฒนาเป็นระยะต่างๆของ *C. elegans* โดยจะเริ่มจากระยะที่เป็นไข่ จากนั้นจะพัฒนาต่อไปเป็น L1, L2, L3, L4 และ adult ตามลำดับ ในโครงการพิเศษนี้ นำ *C. elegans* ระยะ adult มาใช้เป็นแบบจำลองสำหรับการทดสอบความพิษเฉียบพลันของสารสกัดน้ำของตัวยาอายุวัฒนะ ซึ่งมีส่วนประกอบวัตถุพิษสมุนไพรในตำรับ ได้แก่ เนื้อในกระเทียม 45 กรัม ตีป्ली 15 กรัม พริกไทย 15 กรัม ลูกยอผลแก่ใกล้สุก 195 กรัม บอระเพ็ด 90 กรัม หัวแห้วหมู 15 กรัม และหัวขิงแก่ 15 กรัม จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันใน *C. elegans* โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ พบว่า ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดด้วยน้ำของตัวยาอายุวัฒนะ ต่อ *C. elegans* ระยะ adult มีค่าเฉลี่ย LD<sub>50</sub> เท่ากับ 176.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาเบื้องต้นนี้แสดงให้เห็นว่า *C. elegans* อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับโมเดลการทดสอบในสิ่งมีชีวิต เพื่อใช้ในการทดสอบพิษเบื้องต้นเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และต้นทุนไม่สูง

## Abstract

### Optimizing culture conditions of *Caenorhabditis elegans* as model in toxicity testing of natural substance

Kanchalika Moolkan, Kingkan Raethong

Project advisor : Jaturong Pratuangdejkul\*, Worawan Kitphati\*\*, Veena Nukoolkarn\*\*\*, Sumet Chongruchiroj\*, Sopapan Rattanaprapanporn\*\*\*\*

\*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

\*\*Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

\*\*\*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

\*\*\*\*Biotechnology Lab, Chulabhorn Research Institute

**Keyword** : *Caenorhabditis elegans*, Ayuwatana recipe, extract, acute toxicity, LD<sub>50</sub>

*Caenorhabditis elegans* is a member of the Kingdom Animalia, the phylum Nematoda, classified as the round worm. Animals are used as models to test toxicity because several genes of *C. elegans* are similar to those of humans. The objectives of this special project is to study and optimize culture conditions of *C. elegans* to be used as a model in toxicity testing for water extract of Ayuwatana recipe. The result showed that optimal conditions for *C. elegans* culture was about 22°C and normally grew on NGM agar plates containing a lawn of the bacterium *Escherichia coli*. The development of *C. elegans* progressed from eggs and then further developed as L1, L2, L3, L4 and adult, respectively. In this study, adult *C. elegans* was used as a model in acute toxicity testing for water extract of Ayuwatana recipe. Ayuwatana recipe comprised of various herbal materials including Garlic 15 g, Long pepper 15 g, Pepper 15 g, Noni 195 g, Heart-leaved moonseed 90 g, Nut grass 15 g and Ginger 15 g. Three studies of acute toxicity of water extract Ayuwatana recipe in adult *C. elegans* was represented as the average LD<sub>50</sub> values of 176.99 mg/mL. This study presented that *C. elegans* may be alternative model for *in vivo* toxicity testing because it is easy, rapid and inexpensive.