บทคัดย่อ

โครงการวิจัยปีนี้เลือกทำวิจัยสมุนไพรสังหยู เพราะว่าสังหยูเป็นสมุนไพรเดี่ยว การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบและการจัดทำมาตรฐานสารสกัดสามารถทำได้รวดเร็ว นอกจากนี้จากการที่คณะผู้วิจัยลงพื้นที่สอบถามหมอพื้นบ้าน พบว่าสังหยูสามารถรับประทานเพื่อต้านพิษจากยาฆ่าแมลงได้ทั้งปี จากการประเมินความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์ พบว่าสมุนไพรขับสารพิษสังหยู และตำรับยาขับสารพิษ มีโอกาสทางการค้ามากกว่าสมุนไพรกลุ่มบำรุงกำลัง เนื่องจากสามารถใช้ได้ทั่วไป และมีประโยชน์กับประชาชนมากกว่า ดังนั้นโครงการวิจัยปีนี้มุ่งเน้นศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนต่างๆ ของสังหยู เพื่อหาสารออกฤทธิ์จากส่วนสกัด (fraction) เพื่อใช้ประโยชน์ในการจดสิทธิบัตร ควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ การขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ และหาส่วนของพืช (ใบ รากปม รากใหญ่ กิ่งใหญ่ กิ่งเล็กเปลือก แก่นหรือเนื้อไม้) เพื่อใช้ทดแทนราก ซึ่งจะทำให้สังหยูสามารถเข้าสู่กระบวนการเชิงพาณิชย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต ส่วนสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของสังหยูนำมาศึกษาฤทธิ์ต่อการเกิดออกซิเดชันและฤทธิ์ต่อเซลล์ตับเพาะเลี้ยง (in vitro) รวมทั้งศึกษาความเป็นพิษระยะยาว (180 วัน) ในสัตว์ทดลอง ซึ่งการวิจัยดังกล่าวเป็นไปตามวิธีการและข้อกำหนดในการเตรียมผลิตภัณฑ์ขึ้นทะเบียนในอนาคต

ตัวอย่างสังหยูทั้งสองชนิดในส่วนต่าง ๆ (สังหยูใบเขียวและสังหยูใบแดง) ได้แก่ ราก ใบ ลำต้นหรือกิ่งขนาดใหญ่ นำมาลดขนาด อบให้แห้ง บดเป็นผง จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ (เฮกเซน เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ และน้ำ) ด้วยวิธีการสกัดต่อเนื่องหรือวิธีการต้ม จากนั้นทำให้แห้ง สารสกัดที่ได้มี 15 ตัวอย่าง นำไปทดสอบการทดสอบฤทธิ์ สารสกัดหยาบและสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของสังหยูรวม 15 ตัวอย่าง นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เพื่อคัดกรองเอาสารสกัดที่มีฤทธิ์ดีมาทำการทดลองต่อใน cell proliferation assay และ apoptosis assay ใน LX-2 cell line ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหมายเลข 9 สังหยูใบเขียว (เปลือก) และสารสกัดหมายเลข 15 สังหยูใบแดง (เปลือก) ให้ผลการเกิดทั้ง early apoptosis และ late apoptosis ใน LX-2 cells ดังนั้นในการศึกษาต่อไป สารสกัดหมายเลข 9 และ 15 จะนำมาแยกด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีและนำส่วนสกัดแยก (fraction) ที่ได้ไปศึกษาต่อเพื่อหา fraction ที่มีฤทธิ์ apoptosis สูงที่สุดสำหรับการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไป นอกจากนั้น fraction ที่น่าสนใจที่จะนำไปศึกษาต่อได้แก่ สารสกัดส่วน 11.3 สังหยูเขียว (ใบ) water fraction เนื่องจากมีการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิด early apoptosis และ late apoptosis แต่มีส่วน early apoptosis โดดเด่นและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นที่ดี

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปีที่ 1 ส่วนรากปมและใบของสังหยูใบเขียว ขณะนี้ยังไม่ทราบชนิดสาร เป็นเพียงการจัดทำ TLC chromatogram และศึกษารูปแบบขององค์ประกอบทางเคมีด้วย IR เพื่อเป็นข้อมูลในด้านเอกลักษณ์ทางเคมี ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของรูปแบบองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกันของแต่ละส่วนสกัด และส่วนเปลือกของสังหยูใบเขียว จะได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งยังอยู่ระหว่างการดำเนินการต่อเนื่องจากการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น

ในการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง ทำการป้อนสารสกัดรากใหญ่สังหยูใบเขียวทางปากขนาดต่างๆ 3 แบบคือ แบบที่ 1 ขนาด 150 และ 50 mg/kg แบบที่ 2 ขนาด 750 และ 250 mg/kg แบบที่ 3 ขนาด 3750 และ 1250 mg/kg เป็นเวลา 180 วัน ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษระยะยาว

Abstract

In this present year, the phytochemical study followed bioassay-guided isolation was proceeded. The information of phytochemicals, pharmacological activities and also toxicity are needed for product license application or patent application. Moreover, a substituted organ of Sang-Yu was also important because the roots of plants were quite difficult to produce in large volume for an industry in the future. The fractionations of Sang-Yu extract was evaluated their antioxidant activities and cell proliferation assay, and apoptosis assay. Chronic toxicity was also studied in this present year. The methodology of all studies was followed FDA guideline for product license application in the future.

Each sample of Sang-Yu was dried, reduces their size, pulverized and then extracted with continuous extraction by Soxhlet's apparatus using *n*-hexane, ethyl acetate, and 95 % ethanol as solvents or reflux with water. The extract was concentrated by a rotary evaporator or spray dryer. Fifteen samples of the crude extract from the different parts of the plant were obtained and test for their activities. Fifteen samples of the crude extract from the different parts of the plant were screened with oxidation assays and samples with good activities were used then tested with cell proliferation assay and apoptosis assay in LX-2 cell line. Finally, we found that the extracts No. 9 green Sang-Yu (bark) and No. 15 red Sang-Yu (bark) increased early and late apoptosis in LX-2 cells. Therefore, the extracts No. 9 and No. 15 will be isolated by chromatographic techniques. The extracts No. 9 and No. 15 will be tested for choosing the fraction with the highest apoptotic activity, which will be used in animal study. In addition, the interesting fraction of Sang-Yu to be further studied is the extract 11.3 Sang-Yu Green (leaf) water fraction due to the induction of early apoptosis and late apoptosis, especialy the early apoptosis and effective anti-oxidation effect.

From the previous study, the bark of green Sang-Yu found the potent activity. The isolation is continuing study with bioassay-guided isolation. The extract of its roots and leaves was determined IR spectrum and TLC chromatograms to used as one of a tool for chemical stability study. As results, the chromatograms and spectral data showed that each part of both Sang-Yu revealed different chemical profiles with the quantity of the chemical compositions.

The chronic toxicity was also evaluated. The oral administration of three series dose of *Pseuduvaria rugosa* (Blume) Merr (150 mg/kg and 50 mg/kg; 750 mg/kg and 250 mg/kg; and 3750 mg/kg and 1250 mg/kg) for 180 days had no toxicity in the long-term.