

บทคัดย่อ

การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ได้การคัดเลือกพืชสมุนไพรท้องถิ่นบนพื้นที่สูงที่มีศักยภาพ จำนวน 10 ชนิดได้นำมาผลิตสารสกัดหยาบที่นำมาใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคระบาดในสุกร ได้แก่ 1) ส่อสะพายควาย 2) สี่พันคนทา 3) รวงจืดแดง 4) มะขามแป 5) สะแล 6) ฝาง 7) ละหุ่งแดง 8) สะแล 9) กำลั้งเสือโคร่ง พบว่า สารสกัดหยาบของมะขามแป มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง 956.2 TE $\mu\text{mol/g}$ รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากฝาง 645.5 TE $\mu\text{mol/g}$ ส่วนปริมาณสารฟีนอลโดยรวม สารสกัดจากละหุ่งแดงมีปริมาณสูงสุด 652.32 GAE mg/g รองลงมาได้แก่ สี่พันคนทาและฝาง จากนั้นนำสารสกัดหยาบของสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัส 3 ชนิด ได้แก่ 1) Classical swine fever virus (CSFV) โดยใช้เซลล์ PK13 และ PK15 ในการทดสอบ 2) เชื้อ Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) โดยใช้เซลล์ Monkey kidney cell (MARC-145) ในการทดสอบ 3) เชื้อ Swine influenza virus (SIV: H1N1) โดยใช้เซลล์ Mardin-Darby Bovine Kidney (MDBK) ในการทดสอบ

จากการทดสอบระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหยาบที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ทั้ง 4 ชนิด คือ 2 mg/ml ของสารสกัดหยาบเมทานอลจากส่อสะพายควาย สี่พันคนทา มะนิยงน้ำ รวงจืดแดง มะขามแป สะแล และกำลั้งเสือโคร่ง ส่วนสารสกัดหยาบเมทานอลจากฝาง และละหุ่งแดง ใช้ความเข้มข้นที่ 0.2 mg/ml และน้ำมันตะไคร้ต้นใช้ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ จะนำไปใช้ในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด จากนั้นได้ทำการแยกเชื้อไวรัสจากเนื้อเยื่อสุกรที่ติดเชื้อ นำมาเพิ่มปริมาณและใช้เซลล์ไลน์ PK13 และ PK15 ทดสอบกับ เชื้อไวรัส CSV, เซลล์ไลน์ MDBK ทดสอบกับเชื้อไวรัส Swine influenza virus (SIV: H1N1) และเชื้อไวรัส Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) ซึ่งใช้เซลล์ไลน์ MARC-145 นำมาทดสอบ มีแนวโน้มสารสกัดหยาบของสี่พันคน ฝาง ละหุ่งแดง ทำให้เซลล์รอดชีวิตจากเชื้อไวรัสแต่ละชนิดได้ดีแต่ยังต้องใช้ในการตรวจสอบด้วย วิธีการ Immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) แล้วพบว่า สารสกัดหยาบจากสี่พันคนทา และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้น สามารถยับยั้งการติดเชื้อไวรัสทั้งสามชนิดได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากพืชชนิดอื่นที่นำมาทดสอบพร้อมกัน

ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulating activity) พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 10 ชนิด ที่ปริมาณ 0.2 และ 2 mg/ml เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในการทดสอบฤทธิ์ กระตุ้นการสร้างปริมาณ IL-2 และ TNF- α พบว่าสารสกัดหยาบของสี่พันคนทาที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ กระตุ้นการสร้าง TNF- α ได้ 432.05 pg/ml และส่อสะพายควายรองลงมา เท่ากับ 341.50 pg/ml และพบว่าสารสกัดหยาบจากฝาง กระตุ้นการสร้าง IL-2 มีปริมาณเท่ากับ 200.8 pg/ml รองลงมาได้แก่ ละหุ่งแดงมีปริมาณ 140.2 pg/ml

ส่วนการจำแนกกลุ่มสารองค์ประกอบทางเคมี จากผลของสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่างในการยับยั้งเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคในสัตว์ทั้งสามชนิด พบว่ามีพืชที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ที่น่าสนใจในการศึกษา ได้แก่ สารสกัดหยาบจากสีฟันคนทา จึงได้นำมาตรวจสอบสารออกฤทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค Gas chromatograph Mass spectrometry (GC-MS) กลุ่มสารสำคัญในการออกฤทธิ์ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ สามารถวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS พบว่ามีสาร Ellagic acid และสาร Quercetin-3-galactoside (Hyperoside) ซึ่งพบว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง ส่วนน้ำมันตะไคร้ต้น นำมาวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าองค์ประกอบหลักสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากผลตะไคร้ต้น ได้แก่ E-citral และ Z-citral ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้นในปริมาณที่ความเข้มข้นน้อย มีความสามารถในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัสได้



Abstract

This research was focus to selected local herbs on the high potential of 10 species. The ten varieties of local plants on high land, which collected from several areas in the royal project is 1) *Berchemia floribunda* Wall. 2) *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. 3) *Archidendron clypearia* (Jack) I.C.Nielsen 4) *Aesculus assamica* Griff. 5) *Caesalpinia sappan* L. 6) *Ricinus communis* L. 7) *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. 8) *Broussonetia kurzii* 9) *Thunbergia laurifolia* Linn. 10) *Betula alnoides* Buch.-Ham ex G. Don. In leaves of *Ricinus communis* L. was high level of total phenol (652.32 GAE mg/g) and *Archidendron clypearia* (Jack) I.C.Nielsen was high efficiency of antioxidant (DPPH radical scavenging activity 956.2 TE μ mol/g. Then, the crude extracts of 10 species tested inhibited 3 viral infections etc. 1) Classical swine fever virus (CSFV) (PK13 and PK15) 2) Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (Monkey kidney cell (MARC-145)) 3) Swine influenza virus (SIV: H1N1) (Mardin-Darby Bovine Kidney (MDBK)). From testing concentration levels of the extracts were not toxic to the cell line. The optimal concentration of *Berchemia floribunda* Wall., *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., *Archidendron clypearia* (Jack) I.C.Nielsen, *Aesculus assamica* Griff. was 2 mg/ml. But *Ricinus communis* L. and *Caesalpinia sappan* L., The optimal contractions were 0.2 mg/ml. For *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. was 0.5 μ g/ml. After that, All the crude extract test for 3 viral inhibition. The results showed tends of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., *Caesalpinia sappan* L. and *Ricinus communis* L. high percentage of cells survival after viral infection. But also be used to determine how Immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) indicated that crude extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. and volatile oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. were inhibited tree virus strain.

Then, crude extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. and volatile oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. were selected to analyze chemical composition by GC-MS and LC-MS. The main flavonoids compound in crude extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. were Ellagic acid and Quercetin-3-galactoside (Hyperoside) that show the high activity of antioxidant potential. For volatile oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Pers., analyzed by GC-MS found E-citral and Z-citral that the major compounds were active with virus inhibition.