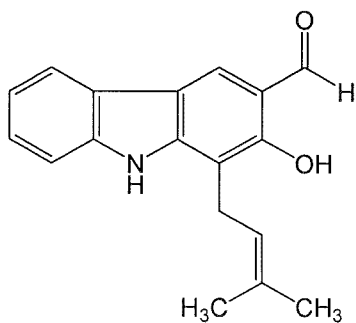


## บทนำ

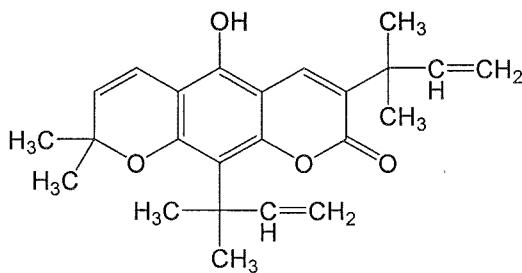
### ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ต้นสอ่งฟ้าแดง (*Clausena harmandiana* Pierre) เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ความสูง 20-50 ซม. อยู่ในวงศ์ Rutaceae พบเห็นได้ทั่วไปในภาคอีสาน เป็นยาพื้นบ้านใช้รากต้มน้ำดื่มบรรเทาอาการปวดกระเพาะและแก้ไอ<sup>1</sup> พบสารสกัดกลุ่ม coumarins (รูป 1) คือ clausarin, dentatin, xanthoxyletin, osthol และ nordentatin<sup>2</sup> และกลุ่ม carbazole alkaloids คือ heptaphylline, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole, 7-methoxyheptaphylline<sup>2-3</sup> รายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของต้นสอ่งฟ้าแดงมีน้อยมาก สารสกัดจากรากคือ heptaphylline, dentatin และ clausarin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*)<sup>4</sup> ทว่ามีการพบฤทธิ์ของสารกลุ่ม coumarins ชนิดเดียวกันซึ่งสกัดได้จากต้นไม้นิคมอื่น เช่น dentatin และ nordentatin (ต้น *Clausena excavate*) มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค clausarin และ xanthoxyletin (จาก *Citrus limoni*) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เกิดร่วมกับมดในกิ่งไม้<sup>6</sup> osthol เป็นสารอีกชนิดหนึ่งมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น มีคุณสมบัติช่วยในการจดจำ โดยมีผลไปเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ superoxide dismutase<sup>7</sup> แสดงคุณสมบัติการเป็นสารยับยั้งการขยายเซลล์หลอดเลือดของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>8</sup> osthol อาจป้องกันการเกิด atherosclerosis หยุดยั้งการสะสมไขมันในตับ<sup>9</sup> และอาจป้องกันการเกิด Fas-mediated hepatitis<sup>10</sup> osthol อาจมีฤทธิ์เทียบได้กับฮอร์โมน 17  $\beta$ -estradiol ในการยับยั้งการสูญเสียมวลกระดูกเนื่องจากการผ่าตัดรังไข่แต่มี pathway ที่แตกต่างกัน<sup>11</sup> นอกจากนี้ยังมีการโฆษณาสรรพคุณผลิตภัณฑ์สมุนไพรใน เว็บไซต์ต่างๆ ซึ่งมี osthol เป็นสารประกอบ และจากโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญจากต้นสอ่งฟ้าแดง ทำให้ผู้วิจัยคาดว่าสารเหล่านี้จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆอีก แต่ในเบื้องต้นฤทธิ์ด้านออกซิเดชันควรได้รับการศึกษาอย่างเป็นระบบ

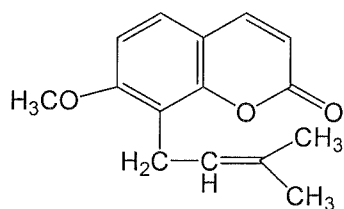
จากการศึกษาพบว่าปริมาณอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างออกมามากกว่าปกติในร่างกายมีผลเกี่ยวข้องกับในขบวนการเกิดพยาธิสภาพต่างๆในร่างกาย เช่น ภาวะสมองขาดเลือด (cerebral ischemia)<sup>12</sup> ภาวะเส้นเลือดในสมองตีบตันหรือแตก (stroke)<sup>13</sup> และการเกิดมะเร็ง<sup>14</sup> รวมทั้งโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer) และโรคพาร์กินสัน (Parkinson)<sup>15</sup> ซึ่งการกำจัดหรือการยับยั้งการสังเคราะห์อนุมูลอิสระน่าจะเป็นวิธีการหนึ่งที่สำคัญที่ช่วยลดการเกิดพยาธิสภาพเหล่านี้ลง ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงสนใจที่จะนำสารสกัดจากเปลือก ราก สอ่งฟ้าแดงมาศึกษาถึงฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและฤทธิ์ฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลอง ซึ่งสารที่สกัดได้และมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาต่อไปให้ได้ยาเพื่อใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติที่เกิดจากการทำลายเซลล์อันเนื่องมาจากมีอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเกินควร เช่น โรค Schizophrenia Alzheimer Parkinson เป็นต้น



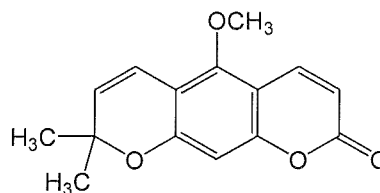
Heptaphilline



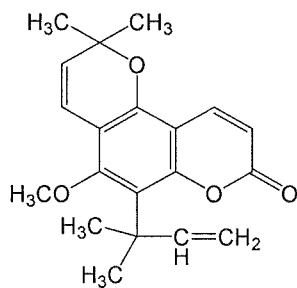
Clausarin



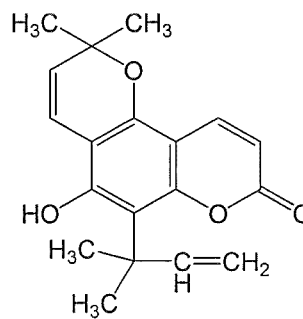
Osthol



Xanthoxyletin



Dentatin



Nordentatin

รูปที่ 1 สูตร โครงสร้างของสาร coumarins และ carbazole alkaloid ที่พบในรากต้นสองฟ้าแดง

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1 เพื่อสกัดสารสำคัญจากเปลือกกรากสองฟ้าแดง
- 2 เพื่อทดสอบความสามารถของสารสกัดจากเปลือกกรากสองฟ้าแดงในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay
- 3 เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกรากสองฟ้าแดงในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation โดยวิธี thiobarbituric acid
- 4 เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกรากสองฟ้าแดงต่อการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องอันเนื่องมาได้รับ scopolamine ในหนูทดลองโดยวิธี water maze
- 5 เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกรากสองฟ้าแดงต่อการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องอันเนื่องมาได้รับ scopolamine ในหนูทดลองโดยวิธี Y-maze

แผนงานที่ 2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นและฤทธิ์ฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลองของสารประกอบทางเคมีจากกรากสองฟ้าแดง

6 เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกรากส่่งฟ้าแดงต่อการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องอันเนื่องจากได้รับ beta-amyloid ในหนูทดลองโดยวิธี Y-maze

### ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้ มุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายของเซลล์ประสาทของสารสกัดบริสุทธิ์จากเปลือกรากส่่งฟ้าแดง โดยทำการศึกษาทั้งใน *In Vitro* และ *In Vivo* โดยจะแบ่งงานเป็น 3 ขั้นตอน คือ

- 1 คัดกรองสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากสารที่สกัดจากเปลือกรากส่่งฟ้าแดง ในหลอดทดลอง โดยวิธี DPPH assay และ โดยวิธี lipid peroxidation ( thiobarbituric acid)
- 2 ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกรากส่่งฟ้าแดงที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่อการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำโดย scopolamine โดยวิธี water maze และ Y-maze
- 3 ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกรากส่่งฟ้าแดงที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่อการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำโดย  $\beta$ -amyloid โดยวิธี Y-maze

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 งานวิจัยนี้เป็นการค้นหาสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายของเซลล์ประสาทจากพืชธรรมชาติ ซึ่งสารที่สกัดได้และมีฤทธิ์ดังกล่าว จะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาต่อไปเพื่อให้ได้ยาที่ใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติที่เกิดจากการทำลายเซลล์อันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเกินควรเช่น ภาวะสมองขาดเลือด ภาวะเส้นเลือดในสมองตีบตันหรือแตก และมะเร็ง รวมทั้งโรคอัลไซเมอร์ และ โรคพาร์กินสัน

1.6.2 สามารถเผยแพร่ผลงานสู่ระดับสากลในรูปแบบโปสเตอร์และ/หรือวารสาร

### ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน(antioxidant) มีความสำคัญในการยับยั้งการทำลายเซลล์ที่เกิดจากภาวะออกซิเดชัน(oxidation reaction) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเกิดพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ได้แก่ โรคสมองเสื่อม (Alzheimer), โรคหลอดเลือดแข็งตัว(atherosclerosis) และ โรคมะเร็ง(cancer) เป็นต้น จึงได้มีการสังเคราะห์สารต้านออกซิเดชันหรือสกัดเอาสารเหล่านี้จากพืชหลายชนิด เพื่อนำมาพัฒนาเป็นยาเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคเหล่านี้ ส่วนมากสารต้านออกซิเดชันซึ่งสกัดได้จากธรรมชาติ เป็นที่นิยมกว่าสารที่ได้จากการสังเคราะห์ เนื่องจากมีความเป็นพิษน้อยกว่า งานวิจัยนี้จึงสนใจในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบริสุทธิ์ซึ่งได้จากต้นส่่งฟ้าแดง สารสกัดที่ได้นำมาทดสอบฤทธิ์เป็นสารอัลคาลอยด์ ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม coumarins จากการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร แผนงานที่ 2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลองของสารประกอบทางเคมีจากรากส่่งฟ้าแดง

ที่สําคัญมีแนวโน้มในการให้อิเล็กตรอนแกสารอนุมูลอิสระ จึงได้ทำการทดลองเบื้องต้นโดยการ screen หาสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านด้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง สารที่มีฤทธิ์จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทโดยทดสอบฤทธิ์ในการฟื้นฟูประสิทธิภาพการเรียนรู้และความจำที่บกพร่องในสัตว์ทดลองในโมเดลต่างๆ ถ้าสารที่สกัดได้มีฤทธิ์ดังกล่าวจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาต่อไปเพื่อให้ได้ยาที่ใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติที่เกิดจากการทำลายเซลล์อันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเกินควรเช่น ภาวะสมองขาดเลือด ภาวะเส้นเลือดในสมองตีบตันหรือแตก และมะเร็ง รวมทั้งโรคอัลไซเมอร์ และ โรคพาร์กินสัน