ชื่อวิทยานิพนธ์ การสร้างสารแอนทราควิโนนในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงชุมเห็ดเทศ

ผู้เขียน นางสาวนิดา ฉัตรศิริเวช

สาขาวิชา เภสัชศาสตร์

ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

รากเพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศซึ่งสามารถสร้างอิโมดินและคริโสฟานอล ได้จากการนำราก ของต้นอ่อนชุมเห็ดเทศมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร B5 เสริมด้วยฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ลิตร และ kinetin 1.0 มก./ลิตร สามารถสร้างระบบของ HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแอนทราควิโนน (อะโล-อิโมดิน, ริอิน, อิโมดิน และ คริโสฟานอล) ที่สร้างขึ้นในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ราก และใบของ ต้นชุมเห็ดเทศ รากเพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศที่ได้จากต้นชุมเห็ดเทศที่สร้างสารแอนทราควิโนนได้ สูงสามารถสร้างอิโมดินและคริโสฟานอลได้สูงกว่ารากเพาะเลี้ยงที่สร้างมาจากต้นชุมเห็ดเทศที่ สร้างสารได้ต่ำถึง 16 และ 26 เท่า ตามลำดับ รากเพาะเลี้ยงชุมเห็ดเทศที่ได้ ยังสะสมอิโมดิน (0.27 %w/w) และคริโสฟานอล (0.68 %w/w) ในปริมาณที่มากกว่าใบ (ไม่สามารถตรวจวัดได้) และราก (0.01 และ 0.02 %w/w ตามลำดับ) ของต้นชุมเห็ดเทศที่ปลูกตามธรรมชาติ หลังจากที่ ทำการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่หลายๆ ครั้ง รากเพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศจะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ เพาะเลี้ยงพร้อมๆ กับความสามารถในการสร้างแอนทราควิโนนลดลง โดยหลังจากการถ่าย เนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ครั้งที่ 7 รากเพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศจะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงที่มี ลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เล็กๆ และการสร้างอิโมดินและคริโสฟานอลลดลงลงเป็น 0.02 และ 0.03 %w/w ตามลำดับ การปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มการสร้างแอนทราควิโนนในเซลล์ เพาะเลี้ยงพบว่าอาหารสูตร B5 เสริมด้วยฮอร์โมน kinetin 0.5 มก./ลิตร เหมาะสมสำหรับการ สร้างอิโมดินและคริโสฟานอล และการเพาะเลี้ยงเซลล์ แต่ก็ยังพบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงมีการสร้าง อิโมดินและคริโสฟานอลลดลงหลังจากที่ทำการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ไปเรื่อยๆ การศึกษาวิถี เวลาของการเจริญเติบโตและการสร้างอิโมดินและคริโสฟานอลในเซลล์เพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศ ได้แสดงให้เห็นว่าลักษณะการเจริญเติบโตของเซลล์เป็นรูปตัว S ตามปกติ โดยมีช่วง lag phase ที่ ยาว ลักษณะการสร้างอิโมดินจะค่อยๆ ลดลงทีละน้อยตามการเจริญเติบโต ในขณะที่การสร้าง คริโสฟานอลจะเริ่มขึ้นในช่วงปลายของ lag phase และเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วงปลายของ

exponential phase ของรอบการเจริญเติบโต การวิเคราะห์ปริมาณแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ในเซลล์เพาะเลี้ยงของชุมเห็ดเทศพบว่ามีปริมาณ total hydroxyanthracene derivative เท่ากับ 0.5 %w/w ซึ่งน้อยกว่าค่ามาตรฐาน 1.0 % ตามข้อกำหนดมาตรฐานของใบชุมเห็ดเทศ

Thesis Title	Anthraquinone Production in Tissue Cultures of *Senna alata* (L.) Roxb.
Author	Miss Nida Chatsiriwej
Major program	Pharmaceutical Sciences
Academic Year	2003

Abstract

Root cultures of *Senna alata* capable of producing emodin and chrysophanol were established using the roots of plantlets initiated in liquid B5 medium, supplemented with 0.5 mg/l NAA and 1 mg/l kinetin. A high performance liquid chromatography (HPLC) system was established for the simultaneous quantitative determination of the anthraquinones (aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol) produced in *S. alata* tissue cultures, roots and leaves of the intact plants. The root cultures of *S. alata* were established from the high anthraquinone-yielding plants. They produced emodin and chrysophanol that were sixteen and twenty-six times, respectively higher than that obtained from the low-yielding plants. The obtained root cultures also accumulated higher amount of emodin (0.27 %w/w) and chrysophanol (0.68 %w/w) than that in the leaves (under detection limit) and root (0.01 and 0.02 %w/w, respectively) of the intact plants. After seventh subcultures, the root culture have dedifferentiated with marked change in appearance (small aggregation of cells). The production of emodin and chrysophanol in these cultures were reduced to 0.02 and 0.03 % w/w, respectively. Improvement of the medium for an increase of anthraquinone production in the cell cultures exhibited that B5 supplemented with 0.5 mg/l kinetin was suitable for emodin and chrysophanol production and maintenance of the cell culture. In addition, a declination of emodin and chrysophanol production in the cell cultures was again observed in succeeding subculture. Time courses of growth and emodin and chrysophanol production in *S. alata* cell cultures showed that the growth pattern of the cells was a normal sigmoid with a long period of lag phase.

The productivity of emodin was gradually declined along with the growth cycle, while the productivity of chrysophanol started in the late of lag phase and reached the peak in the late exponential phase of the growth cycle. Determination of the anthraquinone glycoside content in the cell culture of *S. alata* revealed that the total hydroxyanthracene derivative content was 0.5 %w/w, which was less than the standard value of 1.0 %w/w as indicated in the monograph of *S. alata* leaf.