รายงานการวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืชในการพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพร

Exploiting Plant Genetic for Authentication of herbs

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ร.ต.อ.หญิง เภสัชกรหญิง ดร.สุชาดา สุขหร่อง

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2561

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี รวมทั้งหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ และศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ ตลอดจนหน่วยปฏิบัติการวิจัยดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพร ศูนย์นวัตกรรมทางยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

สมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ เป็นสมุนไพรที่มีความสับสนในการระบุชนิด นิยมเรียกสมุนไพรทั้งสองว่า “ข้าวเย็นทั้งสอง” ข้าวเย็นเหนือเป็นเหง้าของพืชในสกุล *Smilax* วงศ์ Smilacaceae ส่วนข้าวเย็นใต้เป็นเหง้าของพืชในสกุล *Premna* วงศ์ Lamiaceae นอกจากนี้พืชในสกุล *Dioscorea* บางชนิด ในวงศ์ Dioscoreaceae ก็ยังเรียกว่าข้าวเย็นอีกด้วย ดังนั้นจึงใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืชในการพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ โดยการศึกษาแถบรหัสดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) บริเวณ *rbc*La ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ในระดับสกุล (genus) โดยสามารถระบุได้ว่าเป็นพืชในสกุลใด ระหว่าง *Smilax, Premna* หรือ *Dioscorea* นับเป็นการศึกษาเพื่อแยกสกุลของเครื่องยาที่เรียก “ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้” เป็นครั้งแรก เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ *rbc*La ของสมุนไพร 3 สกุล คือ *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* พบตำแหน่งความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถจำแนกสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* ออกจากกันได้ โดยพบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*La ที่ตำแหน่ง 165, 456 และ 564 ทั้งนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นบริเวณเป้าหมายสำหรับใช้จำแนกความแตกต่างของสมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ ทั้ง 3 สกุล

คำสำคัญ: ข้าวเย็นเหนือ, ข้าวเย็นใต้, *Smilax, Premna*, *Dioscorea*, แถบรหัสดีเอ็นเอ

Abstract

Herbs namely “Khao-Yen Nuer and Khao-Yen Tai” are confused in the identification. They are often called “the two Khao-Yen”. Khao-Yen Nuer and Khao-Yen Tai are rhizomes of plants in the genus *Smilax* (Smilacaceae) and *Premna* (Lamiaceae), respectively. Besides, plants in the Dioscorea (Dioscoreaceae) is called Khao-Yen. Plant genetic was exploit for authentication of “Khao-Yen Nuer and Khao-Yen Tai” herbs. DNA barcode of *rbc*La DNA region in chloroplast was studied for the differentiation among *Smilax, Premna* and *Dioscorea* in the genus level. This is the first time to differentiate crude drugs “Khao-Yen Nuer and Khao-Yen Tai”. Nucleotide polymorphism of the *rbc*La regions of the three genus, *Smilax, Premna* and *Dioscorea*, were found. Nucleotide position 165*th*, 456th and 564th of *rbc*La region can be applied as nucleotide targets for genus’s identification of the sources of the crude drugs “Khao-Yen Nuer and Khao-Yen Tai”.

Keywords: Khao-Yen Nuer, Khao-Yen Tai, *Smilax, Premna*, *Dioscorea*, DNA barcode

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วัตถุประสงค์	1
ขอบเขตการวิจัย	2
วิธีดำเนินการวิจัย	2
ผลการวิจัยและการอภิปราย	3
สรุปการวิจัย	10
ข้อเสนอแนะ	10
เอกสารอ้างอิง	10
ภาคผนวก	12
ประวัติผู้วิจัย	16

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงข้อมูลของตัวอย่างสมุนไพรเก็บจากสถานที่ต่าง ๆ	3
ตารางที่ 2	แสดงข้อมูลของตัวอย่างเครื่องยาเก็บจากสถานที่ต่าง ๆ.....	4
ตารางที่ 3	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ *rbc*La.....	4
ตารางที่ 4	ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA polymorphism) ระหว่างพืชสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna*. และ *Dioscorea* โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณ *rbc*La โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*L ของ *S. china* (accession no. HM536959.1) เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง กล่องสีต่าง ๆ แสดงเบสแต่ละชนิด โดยกล่องสีแดงคือตำแหน่งที่แสดงความแตกต่างของทั้งสามสกุล.....	7

สารบัญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ *rbc*La ของตัวอย่างสมุนไพรทั้ง 3 สกุล, อะกาโรส 2%, 100 โวลต์ 35 นาที.....	5
รูปที่ 2	แสดงการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*La ซึ่งเป็นบริเวณส่วนต้นของยีน *rbc*L ของพืชสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Smilax china* เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง (accession number HM536959) ตำแหน่งที่ 1 คือ ตำแหน่ง 5′ ของยีน *rbc*L.....	6
รูปที่ 3	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*La ของพืชสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* จากงานวิจัยและจาก GenBanK โดยพบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 165, 456 และ 564 เช่นเดียวกัน.....	9

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพรนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตรวจสอบลักษณะทางมหทรรศน์ การตรวจสอบลักษณะทางจุลทรรศน์ การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร และการตรวจเอกลักษณ์โดยใช้ดีเอ็นเอ ซึ่งการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยวิธีทางมหทรรศน์และจุลทรรศน์นั้นไม่สามารถแยกวัตถุดิบสมุนไพรบางชนิดออกจากกันได้ เนื่องจากวัตถุดิบสมุนไพรมีความเหมือนหรือคล้ายคลึงกันมากเมื่อถูกลดขนาด วิธีการตรวจองค์ประกอบทางเคมีนั้นมีความไม่แน่นอนเนื่องจากสภาพแวดล้อมในการปลูกพืชสมุนไพรมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและสารสำคัญของสมุนไพร ข้อมูลทางพันธุกรรมได้แก่ดีเอ็นเอจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพิสูจน์เอกลักษณ์ที่แตกต่างกันในพืชแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจะไม่ผันแปรตามสภาพแวดล้อม เพื่อที่จะยืนยันว่าวัตถุดิบสมุนไพรเหล่านั้นเป็นวัตถุดิบสมุนไพรที่ถูกต้องหรือไม่ หรือว่าเป็นสมุนไพรชนิดอื่นที่มีการใช้สับสน อย่างไรก็ตามการตรวจโดยวิธีดั้งเดิมนั้นต้องมีการใช้เครื่องมือโดยผู้เชี่ยวชาญและมักต้องทำในห้องปฏิบัติการ ถ้ามีวิธีใดที่จะตรวจพิสูจน์สมุนไพรทั้งในแง่คุณภาพว่าถูกชนิดสมุนไพรหรือไม่ หรือตรวจในแง่ของปริมาณสารสำคัญ อย่างรวดเร็ว สะดวก และถูกต้องแม่นยำ น่าจะเป็นประโยชน์ต่อวงการสมุนไพร ทั้งนี้เพื่อส่งเสริมการใช้สมุนไพรที่มีคุณภาพสูง ทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสามารถแข่งขันได้ในระดับสากล

สมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ เป็นสมุนไพรที่มีความสับสนในการระบุชนิด นิยมเรียกสมุนไพรทั้งสองว่า “ข้าวเย็นทั้งสอง” ข้าวเย็นใต้เป็นเหง้าของพืชที่มีชื่อว่า *Premna herbacea* Roxb. วงศ์ Lamiaceae ตำราสรรพคุณยาไทยว่าเหง้าข้าวเย็นใต้ ต้มน้ำดื่ม แก้ไข้ หรือเข้ายาแก้อัมพฤกษ์อัมพาต ส่วนข้าวเย็นเหนือเป็นเหง้าของพืชที่มีชื่อว่า *Smilax corbularia* Kunth วงศ์ Smilacaceae เป็นยาสุขุม ออกฤทธิ์ต่อตับ กระเพาะ ใช้เป็นยาขับพิษร้อน ถอนพิษไข้ นอกจากนี้พืชในสกุล *Dioscorea* บางชนิด ในวงศ์ Dioscoreaceae ก็ยังเรียกว่าหัวยาข้าวเย็นอีกด้วย

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสนใจที่จะใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืชในการพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ โดยศึกษาการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ในระดับสกุล (genus)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.) ในเรื่องการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช
2. ใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืชในการพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพรข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ ในระดับสกุล (genus)

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้จะศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสมุนไพรที่เรียกข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ในระดับสกุล ที่มีความสับสนในการใช้และที่พบในประเทศไทยเท่านั้น โดยเก็บตัวอย่างพืชจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ประกอบกับที่เก็บจากแหล่งอื่น แล้ววิเคราะห์ข้อมูล

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างพืชและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์
2. เตรียมตัวอย่างพรรณไม้แห้ง (herbarium specimen) เก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์สมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. สกัดดีเอ็นเอจากพืช โดยนำตัวอย่างใบพืชสดหรือส่วนเนื้อเยื่อเจริญของเครื่องยาหัวยาข้าวเย็นปริมาณไม่เกิน 100 มิลลิกรัม มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง TissueLyser LT (QIAGEN, Germany) จากนั้น ทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany) และทำจีโนมิกดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วยชุดน้ำยา GENECLEAN®II Kit (MP Biomedicals, USA)
4. สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อดีเอ็นเอที่บริเวณ *rbc*L ซึ่งเป็นดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์
5. เตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 1X พีซีอาร์บัฟเฟอร์, 1.5 มิลลิโมลาร์ แมกนีเซียมคลอไรด์, 2 มิลลิโมลาร์ dNTPs, 2.5 มิลลิโมลาร์ ดีเอ็นเอไพรเมอร์, 0.5 U platinum *Taq* DNA polymerase (Invitrogen, USA) และจีโนมิกดีเอ็นเอ 50-100 นาโนกรัม
6. ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์บนเครื่องพีซีอาร์ Bio-Rad T1000 (Bio-Rad, USA) โดยบ่มที่ 94 องศาเซลเซียส 4 นาที จากนั้นทำซ้ำเป็นจำนวน 30 รอบ ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 57 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 72 องศาเซลเซียส 1 นาที และบ่ม 72 องศาเซลเซียส 10 นาที เก็บผลผลิตพีซีอาร์ที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในขั้นตอนต่อไป
7. ตรวจสอบขนาดของผลผลิตพีซีอาร์โดยการแยกขนาดด้วยกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที บน 1-2% อะกาโรสเจล ในสารละลาย 0.5 X TBE บัฟเฟอร์ ย้อมสีเอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบการแยกด้วยเครื่อง Gel Doc XR (Bio-Rad, USA)
8. ส่งผลผลิตพีซีอาร์ไปอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์
9. วิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม BioEdit และเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลนานาชาติ (National Center for Biotechnology Information, NCBI) ด้วยโปรแกรม Blast ในฐานข้อมูล NCBI และทำการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Multalign interface page
10. วิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อจำแนกความแตกต่างของสมุนไพรแต่ละสกุล

ผลการวิจัยและการอภิปราย

1. การเก็บตัวอย่างสมุนไพรและตัวอย่างเครื่องยาสมุนไพร

พบว่าตัวอย่างสมุนไพรที่เก็บได้ประกอบด้วยพืช *Smilax* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง พืช *Premna* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง และพืช *Dioscorea* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง ดังแสดงใน **ตารางที่ 1** และเครื่องยาสมุนไพรที่เรียกหัวยาข้าวเย็นใต้ จำนวน 2 ตัวอย่าง และสมุนไพรที่เรียกหัวยาข้าวเย็นเหนือจำนวน 1 ตัวอย่าง ดังแสดงใน **ตารางที่ 2**

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลของตัวอย่างสมุนไพรเก็บจากสถานที่ต่าง ๆ

รหัสตัวอย่าง	ชื่อที่เรียก	ชื่อสมุนไพร	ชนิดของตัวอย่าง	สถานที่เก็บ	รูปตัวอย่าง
SM-01	ข้าวเย็นเหนือ	*Smilax* sp.	ใบ	นนทบุรี	
SM-02	ข้าวเย็นเหนือ	*Smilax* sp.	ใบ	เลย	
PN-01	ข้าวเย็นใต้	*Premna* sp.	ใบ	นนทบุรี	
PN-02	ข้าวเย็นใต้	*Premna* sp.	ใบ	นนทบุรี	
DR-01	ข้าวเย็นใต้	*Dioscorea* sp.	ใบ	กรุงเทพมหานคร	
DR-02	ข้าวเย็นเหนือ	*Dioscorea* sp.	ใบ	กรุงเทพมหานคร	

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลของตัวอย่างเครื่องยาเก็บจากสถานที่ต่าง ๆ

ชื่อที่เรียก	ชนิดของตัวอย่าง	สี	สถานที่เก็บ	รูปตัวอย่าง
หัวยาข้าวเย็นใต้	เหง้าแห้ง	เนื้อสีขาว	นนทบุรี (งานมหกรรมสมุนไพร)	
หัวยา ข้าวเย็นเหนือ	เหง้าแห้ง	เนื้อสีน้ำตาลแดง	นนทบุรี (งานมหกรรมสมุนไพร)	
หัวยาข้าวเย็นใต้	เหง้าแห้ง	เนื้อสีขาว	กรุงเทพมหานคร	

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างสดและเครื่องยาสมุนไพร

เมื่อตรวจสอบจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนอะกาโรสเจล 0.8 % และย้อมสีด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดจากใบของสมุนไพรสดมีคุณภาพดี แต่จีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเครื่องยาสมุนไพรมีความเข้มข้นน้อยมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ บางตัวอย่างไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ น่าจะเพราะเกิดการเสื่อมสลายของดีเอ็นเอ

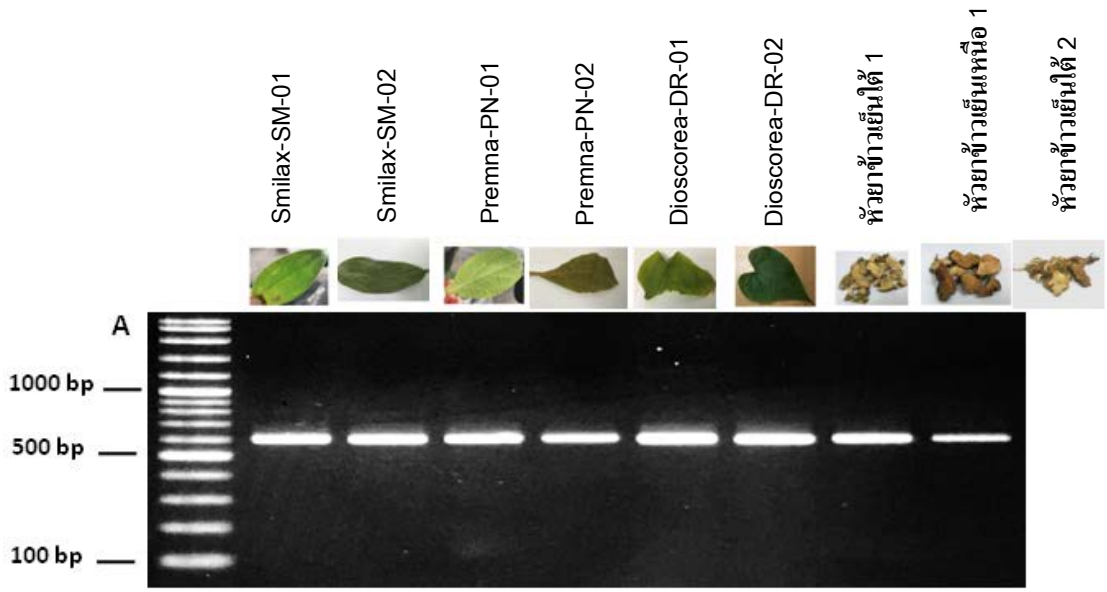
3. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ *rbc*La ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณ *rbc*La จากตัวอย่างพืชสมุนไพรทั้ง 3 สกุล อันได้แก่ สกุล *Smilax* สกุล *Premna* และสกุล *Dioscorea* ด้วยไพรเมอร์ที่แสดงใน**ตารางที่ 3**

ตารางที่ 3 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ *rbc*La

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'-3'	ขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของพืชสกุลต่าง ๆ			แหล่งอ้างอิง
		Smilax	*Premna*	*Dioscorea*	
rbcLa-F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	600	600	600	Levin et al. 2003
rbcLa-R	GTAAAATCAAGTCCACCRCG				Kress & Erickson. 2009

ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณ *rbc*La จากตัวอย่างพืชสมุนไพรทั้ง 3 สกุล อันได้แก่ สกุล *Smilax* สกุล *Premna* และสกุล *Dioscorea* ด้วยไพรเมอร์ที่แสดงใน**ตารางที่ 3** สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ *rbc*La ของยีน *rbc*L ได้จากใบของสมุนไพรทั้ง 3 สกุล และสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณนี้ได้ในตัวอย่างที่เป็นเครื่องยาหัวข้าวเย็นใต้ และหัวข้าวเย็นเหนือ ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มีขนาดประมาณ 600 คู่เบส ดัง**รูปที่ 1** ซึ่งตรงกับขนาดของผลิตพีซีอาร์ที่คาดการณ์ไว้

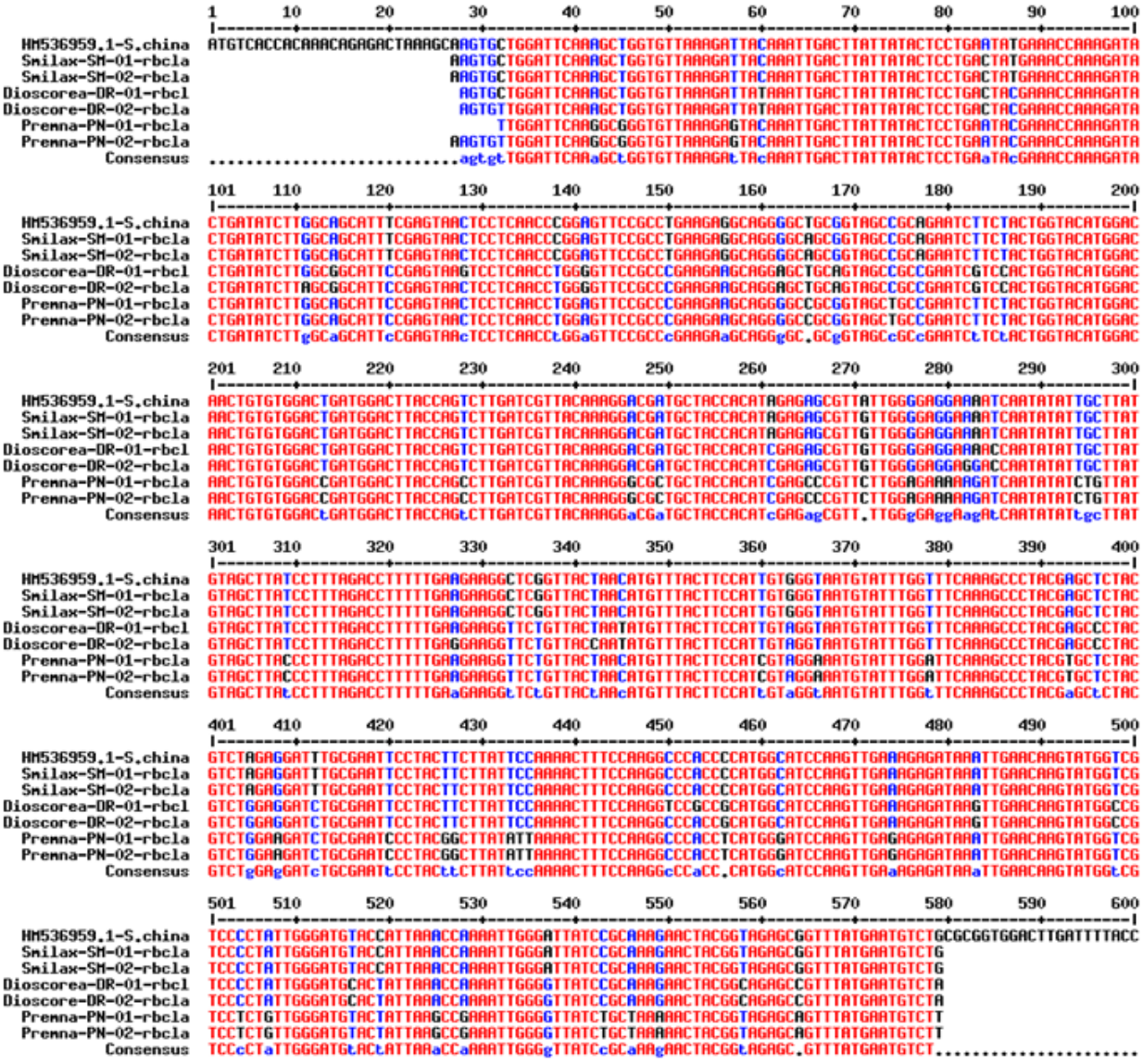


รูปที่ 1 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ *rbc*La ของตัวอย่างสมุนไพรทั้ง 3 สกุล, อะกาโรส 2%, 100 โวลต์ 35 นาที

4. ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ *rbc*La ของสมุนไพร 3 สกุล คือ *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* sp. กับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ *rbc*La ของสมุนไพร *S. china* พบลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมุนไพรมีความคล้ายคลึงกัน ดัง**รูปที่ 2** เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณนี้เป็นบริเวณอนุรักษ์ ทำให้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณนี้มีความแตกต่างกันน้อยระหว่างสมุนไพรแต่ละสกุล

ถึงแม้ว่าบริเวณ *rbc*L จะเป็นบริเวณที่อนุรักษ์ แต่ก็พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถจำแนกสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* ออกจากกันได้ โดยพบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ระหว่างสมุนไพรทั้ง 3 สกุลที่ตำแหน่ง 165, 456 และ 564 **(ตารางที่ 4)** ทั้งนี้พบว่า ตำแหน่ง 165 เป็นบริเวณที่น่าสนใจนำมาประยุกต์ใช้เป็นบริเวณเป้าหมายสำหรับใช้จำแนกความแตกต่างของสมุนไพรทั้ง 3 สกุล



รูปที่ 2. แสดงการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*La ซึ่งเป็นบริเวณส่วนต้นของยีน *rbc*L ของพืชสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Smilax china* เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง (accession number HM536959) ตำแหน่งที่ 1 คือ ตำแหน่ง 5′ ของยีน *rbc*L

ตารางที่ 4 ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA polymorphism) ระหว่างพืชสมุนไพรสกุล *Smilax*, *Premna*. และ *Dioscorea* โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณ *rbc*La โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*L ของ *S. china* (accession no. HM536959.1) เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง กล่องสีต่าง ๆ แสดงเบสแต่ละชนิด โดยกล่องสีแดงคือตำแหน่งที่แสดงความแตกต่างของทั้งสามสกุล

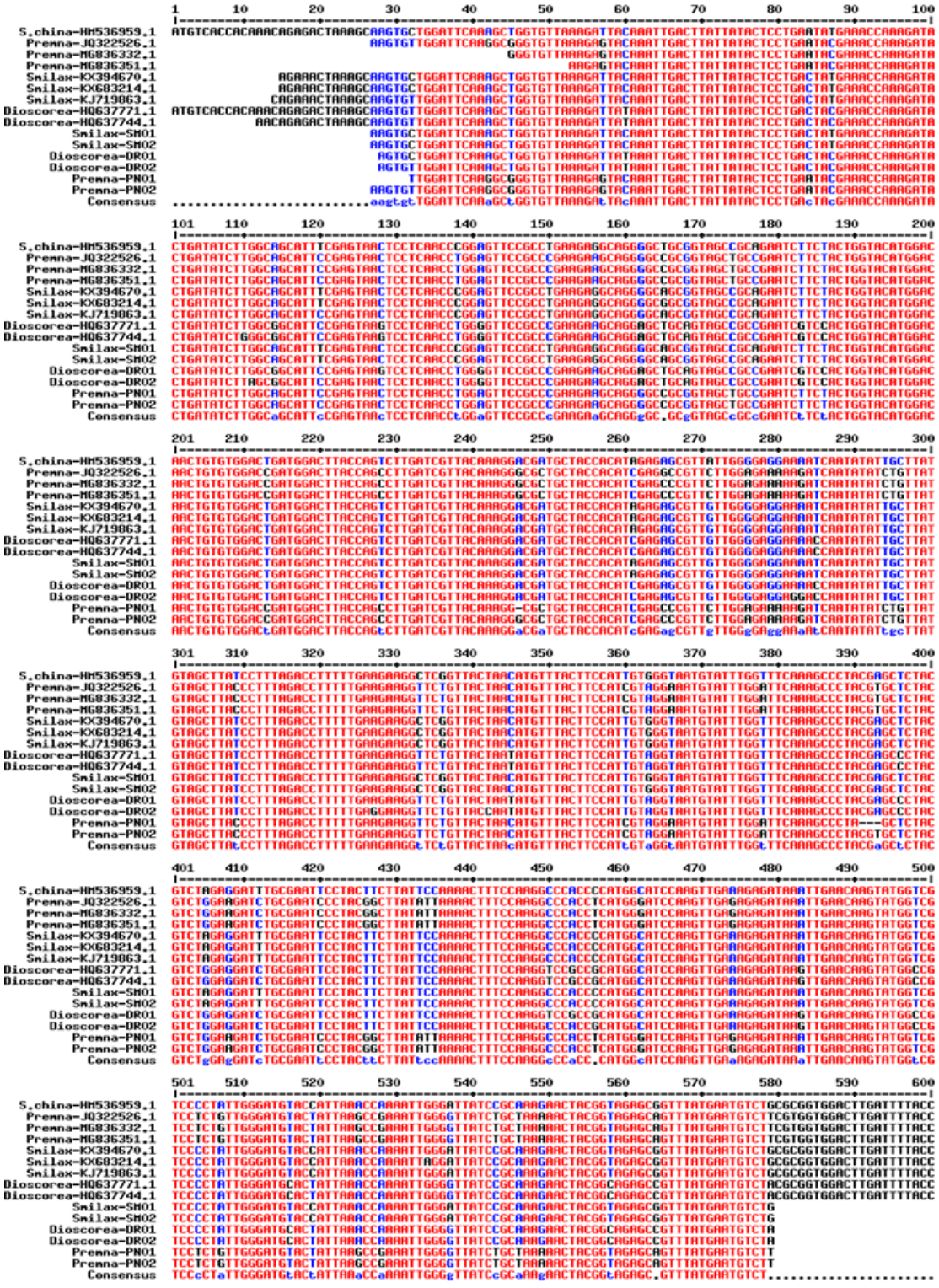
	ลำดับนิวคลีโอไทด์																
	32	42	45	57	60	84	87	111	114	120	128	138	141	150	156	162	165
S. china HM536959.1	C	A	T	T	C	A	T	G	A	T	C	C	A	T	G	G	T
SM-01: *Smilax* sp.	C	A	T	T	C	C	T	G	A	T	C	C	A	T	G	G	A
SM-02: *Smilax* sp.	C	A	T	T	C	C	T	G	A	T	C	C	A	T	G	G	A
PN-01: *Premna* sp.	T	G	G	G	C	A	C	G	A	C	C	T	A	C	A	G	C
PN-02: *Premna* sp.	T	G	G	G	C	A	C	G	A	C	C	T	A	C	A	G	C
DR-01: *Dioscorea* sp.	C	A	T	T	T	C	C	G	G	C	G	T	G	C	A	A	T
DR-02: *Dioscorea* sp.	T	A	T	T	T	C	C	A	G	C	C	T	G	C	A	A	T

	ลำดับนิวคลีโอไทด์																
	168	174	177	183	213	228	246	249	261	265	266	271	276	279	280	282	283
S. china HM536959.1	G	C	A	T	T	T	A	A	A	A	G	A	G	G	G	A	A
SM-01: *Smilax* sp.	G	C	A	T	T	T	A	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A
SM-02: *Smilax* sp.	G	C	A	T	T	T	A	A	A	A	G	G	G	G	G	A	A
PN-01: *Premna* sp.	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C	C	C	A	A	A	A	G
PN-02: *Premna* sp.	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C	C	C	A	A	A	A	G
DR-01: *Dioscorea* sp.	A	C	C	G	T	T	A	A	C	A	G	G	G	G	G	A	A
DR-02: *Dioscorea* sp.	A	C	C	G	T	T	A	A	C	A	G	G	G	G	G	G	G

	ลำดับนิวคลีโอไทด์																
	285	294	295	296	309	327	333	336	342	345	360	363	366	378	393	396	405
S. china HM536959.1	T	T	G	C	T	A	C	G	T	C	T	G	T	T	A	T	A
SM-01: *Smilax* sp.	T	T	G	C	T	A	C	G	T	C	T	G	T	T	A	T	A
SM-02: *Smilax* sp.	T	T	G	C	T	A	C	G	T	C	T	G	T	T	A	T	A
PN-01: *Premna* sp.	T	C	T	G	C	A	T	T	T	C	C	A	A	A	T	T	G
PN-02: *Premna* sp.	T	C	T	G	C	A	T	T	T	C	C	A	A	A	T	T	G
DR-01: *Dioscorea* sp.	C	T	G	C	T	A	T	T	T	T	T	A	T	T	A	C	G
DR-02: *Dioscorea* sp.	C	T	G	C	T	G	T	T	C	T	T	A	T	T	A	C	G

	ลำดับนิวคลีโอไทด์																
	408	412	420	426	427	433	434	435	450	453	456	462	474	483	498	504	507
S. china HM536959.1	G	T	T	T	T	T	C	C	C	A	C	C	A	A	T	C	A
SM-01: *Smilax* sp.	G	T	T	T	T	T	C	C	C	A	C	C	A	A	T	C	A
SM-02: *Smilax* sp.	G	T	T	T	T	T	C	C	C	A	C	C	A	A	T	C	A
PN-01: *Premna* sp.	A	C	C	G	G	A	T	T	C	A	T	G	G	A	T	T	G
PN-02: *Premna* sp.	A	C	C	G	G	A	T	T	C	A	T	G	G	A	T	T	G
DR-01: *Dioscorea* sp.	G	C	T	T	T	T	C	C	T	G	G	C	A	G	C	C	A
DR-02: *Dioscorea* sp.	G	C	T	T	T	T	C	C	C	A	G	C	A	G	C	C	A

	ลำดับนิวคลีโอไทด์										
	516	519	525	528	537	543	546	549	558	564	579
S. china HM536959.1	T	C	A	A	A	C	A	G	T	G	A
SM-01: *Smilax* sp.	T	C	A	A	A	C	A	G	T	G	A
SM-02: *Smilax* sp.	T	C	A	A	A	C	A	G	T	G	A
PN-01: *Premna* sp.	T	T	G	G	G	T	T	A	T	A	T
PN-02: *Premna* sp.	T	T	G	G	G	T	T	A	T	A	T
DR-01: *Dioscorea* sp.	C	T	A	A	G	C	A	G	C	C	A
DR-02: *Dioscorea* sp.	C	T	A	A	G	C	A	G	C	C	A



รูปที่ 3. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbc*La ของพืชสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* จากงานวิจัยและจาก GenBanK โดยพบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 165, 456 และ 564 เช่นเดียวกัน

สรุปผลการวิจัย

สามารถใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืชในการพิสูจน์ความแท้ของสมุนไพรในกลุ่มข้าวเย็นเหนือและข้าวเย็นใต้ได้ อย่างน้อยสามารถระบุได้ว่าเป็นพืชในสกุลใด ระหว่าง *Smilax, Premna* หรือ *Dioscorea* โดยการศึกษาแถบรหัสดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) บริเวณ *rbc*L ซึ่งเป็นการศึกษาเพื่อแยกสกุลของเครื่องยาที่เรียก “ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้” เป็นครั้งแรก

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยในขั้นต่อไปคือการขยายผลศึกษาดีเอ็นเอในบริเวณที่กว้างขึ้น และศึกษาตัวอย่างในจำนวนที่มากขึ้น อีกทั้งหาวิธีสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเครื่องยาที่คาดว่าดีเอ็นเออาจเสื่อมสภาพเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจระบุชนิดของสมุนไพรที่เก็บจากตลาดเครื่องยาสมุนไพร เพื่อประสิทธิผลของสมุนไพรและความปลอดภัยของผู้บริโภค และอาจมีการพัฒนาเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตรวจได้ง่ายขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน จำกัด. 2544.
2. The Plant List, A working list of all plant species Version 1.1. 2013. Published on the Internet. aviable from http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-164968 (accessed 28 May,2018)
3. Leeratiwong C. Systematics and conservation of the genera *Premna* L. and *Callicarpa* L. (Lamiaceae) in Thailand and Indo-China. Thesis for Doctor of Philosophy in Biology, Graduate School, Khon Kaen Univercity. 2008. p. 90-3.
4. Chen SL, Gilbert MG. Verbenaceae. In: ZY Wu, PH Raven, editors. Flora of China. Vol. 17. Beijing: Science Press.1994. p. 16, 27.
5. Sandhya G, Rajagopalan K, Chandrakumar N. Structure of sirutekkone, a diterpenoid from *Premna herbacea*. Phytochemistry 1988;27:2249-50.
6. Murthy MM, Subramanyam M, Giridhar KV, Jetty A. Antimicrobial activities of bharangin from *Premna herbaceae* Roxb. and bharangin monoacetate. J Ethnopharmacol 2006;104:290–2.
7. Verma VK, Siddiqui NU, Aslam M. Isolation of scutellarein from *Pygmaeopremna herbacea* Roxb. J Appl Pharm Sci. 2012;2:241–2.

8. Thirumalai D, Paridhavi M, Gowtham M. Evaluation of physiochemical, pharmacognostical and phytochemical parameters of *Premna herbacea*. Asian J Pharm Clin Res 2013;6:173-81.
9. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี [cited 2018 July 23] Available from: www.phargarden.com
10. Dhamija I, Kumar N, Manjula SN, Parihar V, Setty MM and Pai KS. Preliminary evaluation of in vitro cytotoxicity and in vivo antitumor activity of *Premna herbacea* Roxb. in Ehrlich ascites carcinoma model and Dalton's lymphoma ascites model. Exp Toxicol Pathol 2013;65:235-42.
11. Narayanan N, Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Kannappa Reddy M, Vijayasekaran V, Sukumar E. Antipyretic, antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Premna herbaceae* roots. Fitoterapia 2000;71:147–53.

****

ภาคผนวก

ตารางที่ 1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชสกุล *Smilax*, *Premna* และ *Dioscorea* ที่บริเวณดีเอ็นเอบาร์โค้ดหลัก *rbc*La

	Nucleotide Sequence (5′ - 3′)
1. *Smilax* sp.	
1.1 SM-01	>Smilax-SM-01-rbcla AAGTGCTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACT CCTGACTATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTTCGAGTAACTC CTCAACCCGGAGTTCCGCCTGAAGAGGCAGGGGCAGCGGTAGCCGCAGAAT CTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGA TCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATAGAGAGCGTTGTTGGGGAGGAAAA TCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGCTCG GTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCC TACGAGCTCTACGTCTAGAGGATTTGCGAATTCCTACTTCTTATTCCAAAAC TTTCCAAGGCCCACCCCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAG TATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACCATTAAACCAAAATTGGGATTATCCG CAAAGAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTG
1.2 SM-02	>Smilax-SM-02-rbcla AAGTGCTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACT CCTGACTATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTTCGAGTAACTC CTCAACCCGGAGTTCCGCCTGAAGAGGCAGGGGCAGCGGTAGCCGCAGAAT CTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGA TCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATAGAGAGCGTTGTTGGGGAGGAAAA TCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGCTCG GTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCC TACGAGCTCTACGTCTAGAGGATTTGCGAATTCCTACTTCTTATTCCAAAAC TTTCCAAGGCCCACCCCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAG TATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACCATTAAACCAAAATTGGGATTATCCG CAAAGAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTG

2. *Premna* sp.	Nucleotide Sequence (5′ - 3′)
2.1 PN-01	>Premna-PN-01-rbcla TTGGATTCAAGGCGGGTGTTAAAGAGTACAAATTGACTTATTATACTCCTGA ATACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAA CCTGGAGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCT ACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGATCGTT ACAAAGGCGCTGCTACCACATCGAGCCCGTTCTTGGAGAAAAAGATCAATA TATCTGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACT AACATGTTTACTTCCATCGTAGGAAATGTATTTGGATTCAAAGCCCTAGCTC TACGTCTGGAAGATCTGCGAATCCCTACGGCTTATATTAAAACTTTCCAAGG CCCACCTCATGGGATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCG TCCTCTGTTGGGATGTACTATTAAGCCGAAATTGGGGTTATCTGCTAAAAAC TACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTT
2.2 PN-02	>Premna-PN-02-rbcla AAGTGTTGGATTCAAGGCGGGTGTTAAAGAGTACAAATTGACTTATTATACT CCTGAATACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTC CTCAACCTGGAGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAAT CTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGA TCGTTACAAAGGGCGCTGCTACCACATCGAGCCCGTTCTTGGAGAAAAAGA TCAATATATCTGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCT GTTACTAACATGTTTACTTCCATCGTAGGAAATGTATTTGGATTCAAAGCCC TACGTGCTCTACGTCTGGAAGATCTGCGAATCCCTACGGCTTATATTAAAAC TTTCCAAGGCCCACCTCATGGGATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAACAA GTATGGTCGTCCTCTGTTGGGATGTACTATTAAGCCGAAATTGGGGTTATCT GCTAAAAACTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTT

3. *Dioscorea* sp.	Nucleotide Sequence (5′ - 3′)
3.1 DR-01	>Dioscorea-DR-01-rbcla AGTGCTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTC CTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCGGCATTCCGAGTAAGTCC TCAACCTGGGGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGAGCTGCAGTAGCCGCCGAATC GTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGAT CGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGAGCGTTGTTGGGGAGGAAAAC CAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTG TTACTAATATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCT ACGAGCCCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATTCCTACTTCTTATTCCAAAACT TTCCAAGGTCCGCCGCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAGTTGAACAAG TATGGCCGTCCCCTATTGGGATGCACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCG CAAAGAACTACGGCAGAGCCGTTTATGAATGTCTA
3.2 DR-02	>Dioscorea-DR-02-rbcla AGTGTTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTC CTGACTACGAAACCAAAGATACTGATATCTTAGCGGCATTCCGAGTAACTCC TCAACCTGGGGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGAGCTGCAGTAGCCGCCGAATC GTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGAT CGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGAGCGTTGTTGGGGAGGAGGAC CAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAGGAAGGTTCTG TTACCAATATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCCT ACGAGCCCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATTCCTACTTCTTATTCCAAAACT TTCCAAGGCCCACCGCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAGTTGAACAAG TATGGCCGTCCCCTATTGGGATGCACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCG CAAAGAACTACGGCAGAGCCGTTTATGAATGTCTA

ประวัติผู้วิจัย

ร.ต.อ.หญิง สุชาดา สุขหร่อง

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ร.ต.อ.หญิง สุชาดา สุขหร่อง
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Police Captain Suchada Sukrong
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1206 00099 48 6
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ e-mail
   หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท เขตปทุมวัน กทม. 10330
   โทรศัพท์ : 02-218-8364 081-8196742, โทรสาร : 02-218-8357
   Email : suchada.su@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
ภ.บ.	เภสัชศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2533
ภ.ม.	เภสัชเวท	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2537
Ph.D.	PlantPhysiology/ Biochemistry/ Molecular Biology	University of Kentucky, U.S.A.	2547

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   Bioactivity of natural products, Plant tissue culture

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ *(โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย)*
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย -
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย
      1. ศักยภาพการใช้สารสกัดจากเซลล์ต้นกำเนิดในการใช้ประโยชน์ทางยา, มหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ, สกอ, ปี 2554-2556
      2. การศึกษาพืชสมุนไพรไทยที่สร้างอัลคาลอยด์ต้านมะเร็ง: แคมโททีซิน, ทุนวิจัยทุนวิจัยเซเรบอส Cerebos Award (Thailand) 2008, ปี 2551

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : *(ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุนย้อนหลังไม่เกิน 5 ปี)*

1. Chaemsawang W, Prasongchea W, Papadopoulos K, **Sukrong S**, Kao WJ, Wattanaarsakit P. **2018.** Emulsion crosslinking technique for human fibroblast encapsulation. J of Biomaterials. (in press)
2. Nuntawong P, Kongkatitham V, Likhitwitayawuid K, Mekboonsonglarp W, **Sukrong S**, Tanasupawat S, Sritularak B. **2018**. New 2-arylbenzofurans from the root bark of *Artocarpus gomezianus* and their **α**-glucosidase inhibitory activity. Nat Prod Res. (in press)
3. Khanthapok P, Sang-Awut N, Chakhonkaen S, Pitngam K, Osadcenco A, **Sukrong S**, Muangprom A. **2018**. Identification of ethanol-inducible genes and isolation of the Myb-related protein-like promoter in *Oryza sativa* L.. J Plant Growth Regulation. (in press)
4. Jaipaew J, Padungchareon T, **Sukrong S. 2018**. PCR-reverse dot blot of the nucleotide signature sequences of matK for the identification of Mitragyna speciosa, a narcotic species. Plant Gene, 14, pp. 46-54.
5. Aung, HM, Huangteerakul C, Panvongsa W, Jensen AN, Chairoungdua A, **Sukrong S,** Jensen LT**. 2018**. Interrogation of ethnomedicinal plants for synthetic lethality effects in combination with deficiency in the DNA repair endonuclease RAD1 using a yeast cell-based assay. J Ethnopharmacology, 223, pp. 10-21.
6. Suktap C, Lee HY, Amnuayp S, Suttisri R, **Sukrong S. 2018**. Wound healing effect of flavonoid glycosides from *Afgekia mahidolae* leaves. Rec Nat Prod. 12(4), pp. 391-396.
7. Rattanapisit K, Srijangwad A, Chuanasa T, **Sukrong S**, Tantituvanont A, Mason, HS, Nilubol D, Phoolcharoen W. **2017**. Rapid transient production of a monoclonal antibody neutralizing the Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in *Nicotiana benthamiana* and *Lactuca sativa*. Planta Medica. 83(18):1412-1419.
8. Jabsuwan A, **Sukrong S**, Swasdison S, Towiwat P. **2017.** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the ethanolic extract of *Curcuma* aff. *amada*. Chiang Mai J Sci. 44(3):912-928.

9. Lertnitikul N, Jittham P, Khankhampoch L, Pattamadilok C, **Sukrong S**, Suttisri R. **2016.** Cytotoxic stilbene from the roots of *Paphiopedilum godefroyae*. J Asian Nat Prod Res. 18(12):1143-1150.
10. Cheun-Arom T, Temeeyasen G, Tripipat T, Kaewprommal P, Piriyapongsa J, **Sukrong S**, Chongcharoen W, Tantituvanont A, Nilubol D. **2016.** Full-length genome analysis of two genetically distinct variants of porcine epidemic diarrhea virus in Thailand. Infect Genet Evol. 44(1): 114-121.
11. Aman Tedasen, **Sukrong S**, Boonchoo Sritularak, Theera Srisawat, Potchanapond Graidist. **2016.** The natural flavonoid 5,7,4′-trihydroxy-6,8-diprenylisoflavone and lupalbigenin-induced cell death on breast cancer cell lines. Biomed & Pharmacother. 81:235–241.
12. Sangmalee S, Laorpaksa A, Sritularak B, **Sukrong S**. **2016.** Bioassay-guided isolation of two flavonoids from *Derris scandens* with topoisomerase II poison activity. Biol Pharm Bull. 39(4):631-635.
13. Petpiroon N, Suktap C, Pongsamarta S, Chanvorachote P, **Sukrong S. 2015.** Kaempferol-3-*O*-rutinoside from *Afgekia mahidoliae* promotes keratinocyte migration through FAK and Rac1 activation. J Nat Med. 69(3):340–348.
14. Ausawasamrit A, Itthiwarapornkul N, Chaotham C, **Sukrong S**, Chanvorachote P. **2015.** Lupalbigenin from *Derris scandens* sensitizes detachment-induced cell death in human lung cancer cells. Anticancer Res. 35(5):2827-34.
15. Khanthapok P, Muangprom A, **Sukrong S**. **2015.** Antioxidant activity and DNA protective properties of rice grass juices. ScienceAsia. 41(2):119–129.
16. Ketmongkhonsit P, Chaichantipyuth C, Palanuvej C, Thitikornpong W, and **Sukrong S. 2015.** A validated TLC-image analysis method for detecting and quantifying bioactive phyllanthin in *Phyllanthus amarus* and commercial herbal drugs. Songklanakarin J Sci Technol. 37(3):319-326.
17. Pornprasertpol A, Sereemaspun A, Sooklert K, Satirapipatkul C, **Sukrong S. 2015**. Anticancer activity of selected *Colocasia gigantia* fractions. J Med Assoc Thai. Suppl 1:S98-106.

18. Boonyarikpunchai W, **Sukrong S**, Towiwat P. **2014**. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of roamarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 124:67-73.
19. Wiriyakaruna S, Zhu S, Komatsu K, **Sukrong S**. **2014.** The use of cycleave PCR for the differentiation of the rejuvenating herb species *Pueraria candollei* (White Kwao Khruea), *Butea superba* (Red Kwao Khruea), and *Mucuna macrocarpa* (Black Kwao Khruea), and the simultaneous detection of multiple DNA targets in a DNA admixture. Nat Prod Commun. 9(1):111-117.
20. Vimolmangkang S, Somkhanngoen C, **Sukrong S. 2014.** Potential pharmaceutical uses of silkworm excreta. Chiang Mai J Sci. 41(1): 97-104.
21. Suwanchaikasem P, Chaichantipyuth C, **Sukrong S. 2014.** Antioxidant-guided isolation of rosmarinic acid, a major constituent from *Thunbergia laurifolia*, and its use as a bioactive marker for standardization. Chiang Mai J Sci. 41(1): 117-127.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ: ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่า ได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

โครงการวิจัยเรื่อง ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพรในตำราอ้างอิงยาสมุนไพรไทย แหล่งทุน: กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก สถานภาพ : หัวหน้าโครงการ ปีที่เริ่มต้น : 2560 ปีที่สิ้นสุด : 2562 งานวิจัยลุล่วงไปร้อยละ 60

****