

246748

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



246748

MRG5180175 ดร.เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : การพัฒนาสาร Neuroprotective ชนิดใหม่
กลุ่ม coumarins จากเปลือกกรากต้นสองฟ้า

โดย : นางสาวเพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง

เดือน ปี ที่เสร็จโครงการ : 29 มกราคม 2554



สัญญาเลขที่ MRG518017

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : การพัฒนาสาร Neuroprotective ชนิดใหม่ กลุ่ม
coumarins จากเปลือกกรากต้นส่องฟ้า
(Development of a New Neuroprotective Agent of
Coumarins from the Root Bark of *Clausena*
harmandiana (Pierre) ex.)

นางสาวเพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้เกิดขึ้นและสำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ด้วยทุนวิจัยอาจารย์รุ่นใหม่ประจำปี 2551 ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย อีกทั้งการสนับสนุนเงินทุนวิจัยบางส่วนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น และ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้อำนวยความสะดวกและสถานที่ในการทำงานวิจัย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช ที่ให้คำปรึกษาและกำลังใจในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณ อ.ดร. คณิต สุวรรณบริรักษ์ ที่ให้คำแนะนำและสารเคมีบางส่วน รศ.ดร. จวี เย็นใจ และ รศ.ดร. จินดา หวังบุญสกุล ที่ให้คำแนะนำและแนวทางในการทำวิจัยชิ้นนี้ และขอขอบพระคุณ Prof. Naoki Saito ที่ให้การสนับสนุนสารเคมีและคำแนะนำที่มีประโยชน์ต่องานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยกราบขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่และคุณยายที่ให้กำลังใจและสอนเรื่องภูมิปัญญาในการช่วยหาแหล่งเก็บตัวอย่างต้นสอ่งฟ้าให้แก่ข้าพเจ้า

รหัสโครงการ : MRG518017
ชื่อโครงการ : การพัฒนาสาร Neuroprotective ชนิดใหม่กลุ่ม coumarins
จากเปลือกกรากต้นส่องฟ้า
ชื่อนักวิจัย : อ.ดร. เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
E-mail Address : pploenthip@kku.ac.th
ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี เริ่มตั้งแต่ 15 พฤษภาคม 2551 -14 พฤษภาคม 2553

Clausena harmandiana หรือที่เรียกอีกชื่อว่า ส่องฟ้า หรือส่องฟ้าแดง อยู่ในวงศ์ Rutaceae พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย อดีตมีการนำรากมาใช้เป็นยารักษาอาการปวดท้อง แก้ไข้ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาฤทธิ์ neuroprotective จากสารกลุ่มคูมารินที่แยกได้จากเปลือกกรากต้นส่องฟ้า จากการทดลองโดยอาศัยการแยกสารตามฤทธิ์พบว่าสามารถแยกได้สารกลุ่มคาร์ลาโซลที่เคยมีรายงานมาแล้วจำนวน 4 ตัวและสารกลุ่มคูมาริน 3 ตัว ได้แก่ heptaphylline, 7-methoxyheptaphylline, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole, mukonal, xanthoxyletin, dentatin และ nordentatin ตามลำดับ จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ TBAR พบ สาร heptaphylline, 7-methoxyheptaphylline และ nordentatin มีฤทธิ์ดีที่สุดในกลุ่มนี้ ดังนั้นจึงได้นำสาร nordentatin มาดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีโดยเตรียมให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของเอสเทอร์ ซึ่งสามารถเตรียมได้ทั้งสิ้น 16 อนุพันธ์ และสามารถเตรียมได้ในปริมาณสูง (90-100 % yield) เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการต้านฤทธิ์ไลปิดเปอร์ออกซิเดชัน พบว่าสารต้นแบบคือ nordentatin มีฤทธิ์สูงสุด รองลงมาคือ อนุพันธ์ ที่ 1, 4, 11, 12, 14 และ 16 ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า nordentatin และอนุพันธ์ มีศักยภาพสูงที่จะนำมาทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงพัฒนาต่อไป

คำหลัก : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คูมาริน นอร์เดนทาทีน สารนิวโรโพรเทกทีฟ

Project Code : MRG518017
Project Title : Development of a New Neuroprotective Agent of Coumarins from the Root Bark of *Clausena harmandiana* (Pierre) ex.
Investigator : Dr. Ploenthip Puthongking, Faculty of Pharmaceutical sciences, Khon Kaen University
E-mail Address : pploenthip@kku.ac.th
Project Period : 2 years, 15 May 2008 -14 May 2010

Clausena harmandiana (Rutaceae) is distributed mainly in the northeast of Thailand, whose roots and root bark are reputedly used in folk medicine for stomach ache, and fever, revealed the presence of coumarins and carbazole alkaloids. Therefore, this present investigation aimed to develop a new class of neuroprotective agents from the coumarins isolated from the root bark of *Clausena harmandiana*. Bioassay-guided investigation of the root bark of *Clausena harmandiana* has led to the isolation of 4 known carbazole alkaloids and 3 coumarins as heptaphylline, 7-methoxyheptaphylline, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxy-carbazole, mukonal, xanthoxyletin, dentatin and nordentatin, respectively. The known compounds were identified structure by comparison of their spectroscopic and physical data with those reported in the literature. Recently, we found that the neuroprotective components were heptaphylline, 7-methoxyheptaphylline and nordentatin which displayed potent in the primary screening with DPPH and TBAR assays, and in addition, nordentatin was the most potent antilipid peroxidation in both assays. The most interesting result attempts our group decided to synthesize additional analogues of the isolated nordentatin to determine structure-activity relationship (SAR) and possibly develop more potent neuroprotective agents. Therefore, the starting nordentatin was prepared to 16 ester-analogues under the condition of acid chlorides in pyridine to give the yield of products in the rang of 90-100 %. All preparation compounds were evaluated activity in TBAR assay and the data revealed that nordentatin shown the highest activity. And the ester derivatives as cpds. 1, 4, 11, 12, 14 and 16 also shown promising activity similar to nordentatin. Therefore, nordentatin and its ester derivatives are consequently might be useful for the next develops to the new candidate neuroprotective agents.

Keywords : Antioxidant activity, coumarin, nordentatin and neuroprotective agent

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	4
การทดสอบฤทธิ์ต้านไลโปดด้วยวิธี TBAR	4
บทที่ 3 วิธีการ และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาวิจัย	6
การเก็บตัวอย่างต้นสอ่งฟ้าแดง	6
การแยกสกัดสาร coumarin จากต้นสอ่งฟ้าแดง	6
การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้าง	6
การเตรียมสารอนุพันธ์ nordentatin	6
การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	7
การทดสอบฤทธิ์ต้านไลโปดด้วยวิธี TBAR	7
บทที่ 4 ผลการวิจัย	10
บทที่ 5 บทสรุป	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก 1	
สรุปการเงิน	19
ภาคผนวก 2	
แสดงกราฟการหาค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี TBAR	21
ภาคผนวก 3	
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.	26