

รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

(ภาษาไทย)...การแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่
ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การ
ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์

(ภาษาอังกฤษ)... Isolation of anti-diabetic substances of medicinal
plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The
Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri
Sirindhorn by measuring the inhibitory activity of advanced
glycation end product formation

ผู้ดำเนินงาน

รองศาสตราจารย์ ดร. สุรัตนา อำนวยผล

ชื่อหน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

จากการนำสารสกัดพืชสมุนไพรจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ที่มีฤทธิ์ดีในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีนได้คัดเลือกเปลือกต้นลำป้าง นำมาสกัดแยกสารด้วยวิธี Bioassay guided fractionation สามารถแยกสารได้ 1 สาร คือ สาร PD-1 จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารทั้งสอง พบว่า คือ (-)-epicatechin โดยเทียบกับข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ spectra ของสารที่ได้รายงานมาแล้ว จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีน พบว่า(-)-epicatechin มีร้อยละของการยับยั้งการสร้าง AGE เป็น 71.93 และมีค่า IC_{50} เป็น 34.6 $\mu\text{g/ml}$

คำสำคัญ การสกัดแยกสาร, ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีน, Bioassay guided fractionation, พื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

Abstract

Pterospermum littorale Craib was selected for extraction and isolation by using bioassay guided fractionation, PD-1, was isolated. Structure elucidation of these compounds (using ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectral data compare to the previous reports) show that PD-1 is (-)-epicatechin. The percent inhibition of advanced glycation end product formation of (-)-epicatechin is 71.93 and the IC_{50} value is 34.6 $\mu\text{g/ml}$.

Keyword: screening, extraction, isolation, advanced glycation end product formation, Bioassay guided fractionation, the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

สารบัญเรื่อง

ชื่อเรื่อง การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์
พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการสร้าง
แอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์

กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	iii
สารบัญเรื่อง.....	iv
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ และสารบัญแผนภาพ.....	vi
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	vii
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	1
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา.....	3
ผลการศึกษา	4
สรุปและวิจารณ์ผล.....	13
เอกสารอ้างอิง.....	18

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	การแยกสารสกัดหยาบ ethyl acetate จากเปลือกต้นลำป่าง โดยวิธี quick column chromatography	6
ตารางที่ 2	Fraction ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบ EtOAc ด้วย quick column chromatography	6
ตารางที่ 3	Fraction และ spot ในแต่ละ fraction พร้อมค่า Rf	8
ตารางที่ 4	การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จาก Fraction A2	8
ตารางที่ 5	การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จาก Fraction A3	9
ตารางที่ 6	Fraction ต่างๆ ที่แยกได้จาก fraction A4	10
ตารางที่ 7	Fraction ต่างๆ ที่แยกได้จาก fraction A4-3 และ% inhibitionการสร้างAGE	10
ตารางที่ 8	Fraction ต่างๆ ที่แยกได้จาก fraction A4-6 และ% inhibitionการสร้างAGE	10
ตารางที่ 9	ข้อมูล ¹ H-NMR spectra ของสารที่แยกได้ PD-1 เปรียบเทียบกับข้อมูล ¹ H -NMR spectra ของ (-)-epicatechin ใน literature ที่ได้รับการตีพิมพ์แล้ว	12
ตารางที่ 10	ข้อมูล ¹³ C-NMR spectra ของสารที่แยกได้ PD-1 เปรียบเทียบกับข้อมูล ¹³ C-NMR spectra ของ (-)-epicatechin ใน literature ที่ได้รับการตีพิมพ์แล้ว	13
ตารางที่ 11	ตารางสรุปชื่อพืช วงศ์ สารสำคัญ และค่า IC ₅₀ ของสารสกัดด้วย ethanol	15
ตารางที่ 12	ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ของสารที่แยกได้จากสารสกัดพืช	17

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1	TLC แสดงการแยกสารจาก สารสกัดหยาบ ethyl acetate จาก เปลือกต้นลำป้าง ด้วยวิธี quick column chromatography	7
ภาพที่ 2	สูตรโครงสร้างของ สาร (-)-epicatechin	12

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่ 1	แสดงการเตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นลำป้าง	5
แผนภาพที่ 2	การสกัดแยกสารบริสุทธิ์ PD-1 จาก fraction A4	11

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

^{13}C -NMR = carbon-13 nuclear magnetic resonance

DMSO = dimethylsulphoxide

EtOAc = ethyl acetate

EtOH = ethyl alcohol, ethanol

^1H -NMR = proton nuclear magnetic resonance

IC₅₀ = 50% inhibitory concentration

MeOH = methyl alcohol, methanol

$\mu\text{g/ml}$ = microgram per milliliter

mg/ml = milligram per milliliter