การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์

Screening of anti-diabetic activity 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

สุรัตนา อำนวยผล
Surattana Amnuoypol

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากสถานการณ์โลกปัจจุบันพบว่ามีประชากรที่ป่วยด้วยโรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เพิ่มขึ้นและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก จากรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขเมื่อปี พ.ศ.2547 พบว่ามีประชากรไทยป่วยด้วยโรคเบาหวานถึง 1,500,000 คน หรือประมาณร้อยละ 6 ของประชากร สาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากการที่ประชาชนในประเทศ มีการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่มีเนื้อสัตว์และไขมันสูง อาหารแป้งและน้ำตาลสูง รสหวานจัด ทำให้เกิดโรคอ้วนและเป็นผลให้เกิดโรคเบาหวานได้

เบาหวานเป็นกลุ่มอาการที่ผู้ป่วยมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง สืบเนื่องมาจากการที่ผู้ป่วยมีระดับฮอร์โมนอินซูลินในเลือดต่ำ หรือเนื้อเยื่อต่างๆมีการตอบสนองต่ออินซูลินน้อยลง (Diatewa , 2004) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการใช้คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษา หรือได้รับการรักษาแต่ไม่สามารถควบคุมน้ำตาลในเลือดให้ปกติโดยสม่ำเสมอได้ อาจก่อให้เกิดความผิดปกติของหลอดเลือดเล็กๆ ที่ไปเลี้ยงยังอวัยวะต่างๆ เช่นไต ตา ปลายมือ ปลายเท้า ทำให้มีอาการแทรกซ้อนของระบบหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง หลอดเลือดหัวใจตีบตัน ตามัวถึงตาบอด หลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงตามปลายมือปลายเท้าอุดตัน ทำให้เกิดแผลเน่า ไตเสื่อมสภาพจนเกิดไตวาย และยังมีผลลดสมรรถภาพทางเพศในผู้ชายอีกด้วย (Hardman, 2002 และ Huang, 2005)

ดังนั้นการคัดกรองหาพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ จึงเป็นเรื่องที่น่าศึกษาวิจัยเพื่อเก็บเป็นข้อมูล เนื่องจากมีศักยภาพในการศึกษาและเพื่อนำไปพัฒนาใช้เป็นยาต้านเบาหวานต่อไปได้ นอกจากนี้ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯนั้นมีความหลากหลายของพันธุ์พืชสมุนไพรมาก จึงมีโอกาสสูงในการได้พืชใหม่ๆที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะฤทธิ์ป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่จัดว่าเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของโลก รวมทั้งประเทศไทย ในปัจจุบันโรคเบาหวานมีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จากข้อมูลรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization) พบว่า ในปี พ.ศ. 2549 มีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกสูงถึง 171 ล้านคน และคาดว่าในปี พ.ศ.

2573 จะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า นอกจากนี้ พบว่ามีผู้เสียชีวิตจากภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวานประมาณ 3.2 ล้านคนต่อปี หรือมีผู้เสียชีวิต 6 คนต่อนาที[4]

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เกิดจากร่างกายขาดฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin) หรือมีระดับอินซูลินในเลือดต่ำ ซึ่งอินซูลินเป็นฮอร์โมนที่ผลิตโดยตับอ่อน ทำหน้าที่ควบคุมให้เซลล์ต่างๆในร่างกายใช้น้ำตาลในกระแสเลือดเป็นพลังงาน[5] เมื่อร่างกายขาดฮอร์โมนอินซูลินจะส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ในผู้ป่วยที่มีภาวะน้ำตาลสูงนานๆ ทำให้อวัยวะต่างๆเกิดการเปลี่ยนแปลงผิดปกติ และนำมาซึ่งโรคแทรกซ้อนมากมายได้ โรคเบาหวานสามารถแบ่งได้ 2 ประเภทหลักๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type I Diabetes Mellitus : Insulin-Dependent Diabetes Mellitus, IDDM) เกิดจากตับอ่อนผลิตอินซูลินไม่ได้เลย หรือผลิตได้น้อยมาก โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type II Diabetes Mellitus: Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM) เกิดจากตับอ่อนสามารถผลิตอินซูลินได้ แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย หรือผลิตได้พอ แต่เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน[6]

ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงนั้นมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวาน โดยทำให้เกิดปฏิกิริยาการเติมน้ำตาลให้กับโมเลกุลของโปรตีน (Protein Glycation Reaction) เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากปฏิกิริยาไกลเคชัน (Advanced Glycation End Products : AGEs) ที่เพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกาย สาร AGEs ที่เกิดขึ้นนี้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลกับโปรตีนที่มีโครงสร้างซับซ้อน นอกจากนี้ อนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นในร่างกายก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาไกลเคชันและทำให้เกิดสาร AGEs มากขึ้น ซึ่งล้วนแล้วแต่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย จากการศึกษาวิจัยพบว่า มีตัวรับของ AGEs (receptor of AGEs : RAGE) ในเซลล์ร่างกายหลายชนิด โดยเฉพาะเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวาน เมื่อ AGEs เกิดปฏิกิริยากับ RAGE แล้วจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการสื่อสารภายในเซลล์ การแสดงออกของยีน (gene expression) การหลั่งของสาร proinflammatory และอนุมูลอิสระ นำไปสู่พยาธิสภาพของภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวในที่สุด[7]

จากความสำคัญของการเกิด AGEs ในผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้สนใจค้นหาแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดสาร AGEs ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในการป้องกันภาวะแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากความเป็นพิษของน้ำตาล ในปัจจุบัน นอกจากมีรายงานถึงพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการต้านเบาหวานและลดระดับน้ำตาลในเลือดแล้ว ยังพบว่ามีพืชสมุนไพรที่มีกลไกยับยั้งการสร้างสาร AGEs ตัวอย่างเช่น พืชสกุลเบญจมาศ (*Chrysanthemum sp.*)[8], บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)[9], หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*), โป๊ยกั๊กญี่ปุ่น (*Illicium religiosum*), Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*), ออรีกาโน (*Origanum officinalis*), Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), สาลี่ (*Pyrus pyrifolia*), โสมไซบีเรีย (*Acanthopanax senticosus*), กานพลู (*Eugenia caryophllata*), Daisy (*Erigeron annuus*)[10]

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดกรองพืชสมุนไพรในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. มีความรู้ความเข้าใจในวิธีการนำสารสำคัญจากพืชสมุนไพร ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioassay) โดยเฉพาะการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์
2. นำผลที่ได้จากการทดลองไปต่อยอดองค์ความรู้ เกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์

3. แยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรเพื่อหาแนวทางในการพัฒนาเป็นยาสำหรับโรคเบาหวาน
4. ตระหนักในความสำคัญของการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสมุนไพรไทย และมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานในกลไกด้านอื่นๆเพิ่มเติม เพื่อการค้นพบยาใหม่จากทรัพยากรในประเทศ

วิธีดำเนินการศึกษา

1. เลือกเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ และตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์
2. เตรียมสารสกัดจากสมุนไพรที่เก็บได้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

   นำตัวอย่างพืชที่เก็บได้มาชั่งน้ำหนักพืชสด บดหรือหั่นหยาบ นำมาแช่หมักในตัวทำละลาย ethanol เขย่าเป็นระยะ แช่หมักนาน 5-7 วัน กรอง นำสารสกัด ethanol มาระเหยแห้ง ภายใต้ความดันต่ำ ทำให้แห้งด้วยเครื่อง vacuum desicator ชั่งน้ำหนักสารสกัดแห้ง (รายละเอียดน้ำหนักพืชสดและสารสกัดแห้ง แสดงไว้ในตาราง)
3. ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์

   3.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEs ของพืชตัวอย่าง

นำพืชสมุนไพร 55 ตัวอย่างมาหาค่า % inhibition โดยผสมสารละลายพืชตัวอย่างความเข้มข้น 200 μg/ml (ความเข้มข้นสุดท้ายที่ปริมาตร 800 mcl) ใน DMSO 50% ปริมาตร 40 μl เข้ากับสารละลาย AGEs ซึ่งประกอบด้วยสารละลายน้ำตาล Glucose 0.2 M, Fructose 0.2 M, Sodium Azide 0.02% w/v และสารละลายโปรตีน Bovine Serum Albumin (BSA) 10 mg/ml ใน Sodium Phosphate Buffer pH 7.4 ปริมาตร 760 μl ลงใน Eppendorf

ห่อ Eppendorf ด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง แล้วนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำมาวัดค่า Fluorescence Density (FD) ด้วยเครื่อง Microplate Reader ที่ความยาวคลื่น Excitation 355 nm และ Emission 450 nm นำมาคำนวณค่า % inhibition ดังสูตรต่อไปนี้

$$\frac{[\text{ค่า FD ของ Control} - (\text{ค่า FD ของ Sample} - \text{ค่า FD ของ Blank})]}{\text{ค่า FD ของ Control}} \times 100$$

Control หมายถึงสารละลาย AGEs โดยไม่มีสารละลายพืชตัวอย่าง
Sample หมายถึงสารละลาย AGEs ผสมกับสารละลายพืชตัวอย่าง
Blank หมายถึงสารละลายน้ำตาลผสมกับสารละลายพืชตัวอย่าง

3.2 การทดสอบสารแทนนิน (Tannin) ในพืชตัวอย่าง

นำพืชตัวอย่างที่มีค่า % inhibition มากกว่า 85% ที่ความเข้มข้น 200 μg/ml มาทดสอบสารแทนนินโดยทำละลายใน 95% Ethanol แล้วนำมาทดสอบกับสารละลาย Bromine Water และ Gelatin Solution ถ้าเกิดการตกตะกอนขึ้นกับสารละลายทั้งสองชนิดถือว่าให้ผลบวกในการทดสอบแทนนิน ให้ยืนยันผลการทดสอบโดยนำมาทดสอบกับ Ferric Chloride ($FeCl_3$) 2.5% ต่อ ถ้าได้สารละลายสีเขียวหรือน้ำเงินจะเป็นการยืนยันผลบวกในการทดสอบแทนนิน

3.3 การคัดเลือกพืชก่อนทำ Serial Dilution

นำพืชตัวอย่างที่มีค่า % inhibition มากกว่า 85% ที่ความเข้มข้น 200 μg/ml และทดสอบไม่พบสารแทนนินมาหาค่า % inhibition โดยผสมสารละลายพืชตัวอย่างความเข้มข้น 50 μg/ml (ความเข้มข้นสุดท้ายที่ปริมาตร 800 mcl) ใน DMSO 50% ปริมาตร 40 μl เข้ากับสารละลาย AGEs ปริมาตร 760 μl ลงใน Eppendorf

ห่อ Eppendorf ด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง แล้วนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำมาวัดค่า Fluorescence Density (FD) ด้วยเครื่อง Microplate Reader ที่ความยาวคลื่น Excitation 355 nm และ Emission 450 nm นำมาคำนวณค่า % inhibition ดังสูตรข้างต้นในหัวข้อ

3.4 การหาค่า IC_{50}

3.4.1 พืชสมุนไพรตัวอย่าง

นำพืชตัวอย่างที่มีค่า % inhibition มากที่สุด 5 ตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการคัดเลือกพืชก่อนทำ Serial Dilution มาหาค่า IC_{50} โดยทำ Serial Dilution ของพืชตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้ 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 μg/ml (ความเข้มข้นสุดท้ายที่ปริมาตร 800 μl) แล้วนำมาหาค่า % inhibition โดยผสมสารละลายพืชตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ ใน DMSO 50% ปริมาตร 40 μl เข้ากับสารละลาย AGEs ปริมาตร 760 μl ลงใน Eppendorf

ห่อ Eppendorf ด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง แล้วนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำมาวัดค่า Fluorescence Density (FD) ด้วยเครื่อง Microplate Reader ที่ความยาวคลื่น Excitation 355 nm และ Emission 450 nm นำมาคำนวณค่า % inhibition ดังสูตรข้างต้นในหัวข้อ 5.1

3.4.2 Aminoguanidine

นำ Aminoguanidine มาหาค่า IC_{50} โดยทำ Serial Dilution ของ Aminoguanidine ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้ 408, 204, 102, 51, 25.5 μg/ml (ความเข้มข้นสุดท้ายที่ปริมาตร 800 μl) แล้วนำมาหาค่า % inhibition โดยผสมสารละลาย Aminoguanidine ความเข้มข้นต่างๆ ใน DMSO 20% ปริมาตร 40 μl เข้ากับสารละลาย AGEs ปริมาตร 760 μl ลงใน Eppendorf

ห่อ Eppendorf ด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง แล้วนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำมาวัดค่า Fluorescence Density (FD) ด้วยเครื่อง Microplate Reader ที่ความยาวคลื่น Excitation 355 nm และ Emission 450 nm นำมาคำนวณค่า % inhibition ดังสูตรต่อไปนี้

$$\frac{[\text{ค่า FD ของ Control} - \text{ค่า FD ของ Aminoguanidine}] \times 100}{\text{ค่า FD ของ Control}}$$

Control หมายถึงสารละลาย AGEs โดยไม่มีสารละลาย Aminoguanidine

Aminoguanidine หมายถึงสารละลาย AGEs ผสมกับสารละลาย Aminoguanidine

3.4.3 การคำนวณค่า IC_{50} (50% Inhibitory Concentration)

นำค่า % inhibition ของพืชตัวอย่างและ Aminoguanidine มาพล็อตกราฟที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาค่า IC_{50} โดยเลือกค่าความเข้มข้นที่มีค่า % inhibition ในช่วง 20-80 % มาพล็อตกราฟเพื่อหาเส้นแนวโน้มที่มีค่า R^2 เหมาะสม แล้วนำมาคำนวณค่า IC_{50} ตามสมการของเส้นแนวโน้ม

3.5 วิเคราะห์ผลการทดสอบที่ได้

ผลการศึกษา

1) เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี และที่เขาวังเขมร จังหวัดกาญจนบุรี เก็บตัวอย่างพืชได้ **55 ตัวอย่าง จากพืช 42 ต้น**
2) นำพืชมาหั่นหยาบ และสกัดด้วย ethanol โดยการแช่หมักเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมากรอง และระเหยให้แห้งภายใต้ความดันต่ำ
3) นำสารสกัดที่ได้ มาทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ตามวิธีการข้างต้น พร้อมทั้งคำนวณ % inhibition
4) ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ของพืชที่เก็บจากโครงการพระราชดำริฯ จากการตรวจสอบพืช จำนวน 42 ต้น 55 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดชั้น ethanol ของพืช จำนวน **24 ต้น 33 ตัวอย่าง** มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์
5) พืชที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ โดยมี % inhibition มากกว่า 85 มี13 ต้น ดังนี้

1. ก้างปลา สามพันตา (กิ่ง) 2. ช้างน้าว (ใบ) 3. ลำป้าง (เปลือก) 4. หนามเกี่ยวไก่ (ใบ)
5. พลองใบใหญ่ (ใบ) 6. พลองใบรี (ใบ) 7. พลองเหมือด 8. เกด (ใบ)
9. มะลิไส้ไก่ (กิ่ง) 10. โพทะเล (ผล) 11. กระพี้จั่น (กิ่ง) 12. กาสามปีก (ใบ)
13.ขันทองพยาบาท (ใบ)

เมื่อนำมาทดสอบสารแทนนิน (Tannin) ในสารสกัดพืชสมุนไพรที่มี % inhibition มากกว่า 85% พบว่า พลองเหมือด เกด และ ขันทองพยาบาท มีสารแทนนิน ซึ่งเป็นสารที่อาจทำให้ผลการทดสอบเป็นผลบวกลวง จึงนำเฉพาะสารสกัดพืชสมุนไพรที่เหลือ ที่มี % inhibition สูง 5 ตัวอย่างมาทดสอบหา IC 50

สรุปผลการทดลอง

พืชสมุนไพรตัวอย่างในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.) บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี และเขาวังเขมร จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 42 ต้น 55 ตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิด AGEs แบ่งตาม % inhibition ได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

% inhibition น้อยกว่า 60 % มี 24 ตัวอย่าง
% inhibition ระหว่าง 60-85 % มี 18 ตัวอย่าง
% inhibition มากกว่า 85 % มี 13 ตัวอย่าง และทดสอบไม่พบสารแทนนินมี 10 ตัวอย่าง

โดยพืชสมุนไพรตัวอย่างในกลุ่มที่มี % inhibition สูงสุดมีค่า IC_{50} น้อยกว่า Aminoguanidine ซึ่งเป็น Positive Control แสดงให้เห็นว่าพืชเหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEs ที่ดีกว่า Aminoguanidine

สรุปและวิจารณ์ผล

พืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEs จะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา Protein Glycation ระหว่างน้ำตาลและโปรตีน ไม่ให้เกิดเป็น AGEs ซึ่ง AGEs บางชนิดสามารถเรืองแสง Fluorescence ได้ ค่า FD จึงเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณของ AGEs ในสารละลายนั้นๆ ค่า % inhibition คำนวณได้จากค่า FD ที่ลดลงของสารละลาย AGEs ที่มีพืชตัวอย่างเทียบกับสารละลาย AGEs (Control) พืชตัวอย่างที่วัดค่า FD ได้น้อยจะมีค่า % inhibition ที่สูง แสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEs ที่ดี อย่างไรก็ตาม พืชบางชนิดอาจมีสารที่สามารถเรืองแสง Fluorescence ได้เช่นเดียวกับ AGEs ทำให้เกิดผลลบลวง (False Negative) ขึ้นได้ จึงมีการทำชุดการทดลองเปรียบเทียบโดยไม่ใส่ BSA ที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยา (Blank Test) เพื่อวัดค่า FD ของสารต่างๆ ในพืชตัวอย่าง แล้วนำไปหักลบออกจากค่า FD ของพืชตัวอย่างนั้นๆ นอกจากนี้ หากพิจารณาถึงความเข้มข้นที่นำมาใช้ในการทดสอบด้วยระบบการทดสอบนี้ กลุ่มผู้วิจัยเลือกใช้เพียง 1 ความเข้มข้นคือ 200 μg/ml ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการหาค่า IC_{50} ของพืชตัวอย่างจากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ (Jung *et al*., 2008) และเนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่สามารถละลายสารสกัดได้ด้วย 5 % DMSO จนหมด (ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ DMSO ที่ไม่มีผลกระทบต่อปฏิกิริยา) การใช้ความเข้มข้นที่มากนี้ เพื่อไม่ให้สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEได้น้อย ถูกตัดออกจากการคัดกรอง หากใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงกว่านี้จะไม่สามารถละลายสารสกัดได้หมด

อย่างไรก็ตาม พืชบางชนิดอาจมีสารแทนนินที่สามารถตกตะกอนโปรตีนอย่าง BSA ได้ ทำให้ BSA ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลได้ ส่งผลให้เกิดผลลบลวง (False Negative) ขึ้น จึงทำการทดสอบหาสารแทนนินในพืชตัวอย่าง โดยสารแทนนินจะสามารถตกตะกอนกับสารละลายเจลาติน (Gelatin Solution) ซึ่งเป็นโปรตีนได้ Catechol Tannin จะตกตะกอนกับสารละลายน้ำโบรมีน (Bromine Water) ได้ และเมื่อทดสอบกับเฟอริคคลอไรด์ (Ferric Chloride) จะให้สารสีเขียวเข้มหรือน้ำเงินเข้ม เป็นการยืนยันว่ามีสารประกอบประเภทฟีนอลิก (Phenolic Compound)

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิด AGEs ของพืชตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50 μg/ml พบว่ามีพืชหลายตัวอย่างที่มีค่า % inhibition ต่ำมาก จึงได้คัดเลือกพืชที่มีค่า % inhibition สูงสุดจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบก้างปลา (สามพันตา), ใบช้างน้าว, เปลือกลำป้าง, กิ่งกระพี้จั่น และ ผลโพทะเล มาทำ Serial Dilution แบบเจือจางลงทีละ 2 เท่าเพื่อหาค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับ Aminoguanidine ซึ่งใช้เป็น Positive Control เนื่องจาก Aminoguanidine เป็น Nucleophilic Hydrazine Compound ที่ได้รับความสนใจในการเป็นยาต้านปฏิกิริยา Glycation (Anti-glycation Drug) Aminoguanidine สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลของ Reducing Sugar ได้ และมีผลการวิจัยใน Phase 3 ว่าสามารถบรรเทาอาการของภาวะ แทรกซ้อนในโรคเบาหวานได้ แต่ทำให้เกิดพิษที่ความเข้มข้นสูง (Ahmed, 2005)

จากการหาค่า IC_{50} พบว่า พืชทั้ง 5 ตัวอย่างมีฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งการเกิด AGEs มีค่า IC_{50} ใกล้เคียงกันและน้อยกว่าค่า IC_{50} ของ Aminoguanidine ซึ่งน่าสนใจในการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธีระ ฤทธิรอด, จินตวี ไชยชุน, สุภาพร น้อยเมล์, ญาณิน ขมะณะรงค์. Sitagliptin ทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2. [Homepage on the internet]. กรุงเทพ: คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; [updates 2008 Aug; cited 2008 Aug 1] Available from: http://www.doctor.or.th/node/7131

วันดี กฤษณพันธุ์, พีรนุช มั่งมีศรี. สมุนไพรลดน้ำตาลในเลือด. วารสารเภสัชกรรมชุมชน 2552, 16–24.

สุรเกียรติ อาชานุภาพ. ตำราการตรวจรักษาโรคทั่วไป 2. กรุงเทพฯ: บริษัทโฮลิสติกพับลิชชิ่ง จำกัด, พิมพ์ครั้งที่ 4; 2551: 777-791.

Ahmed N. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2005; 67: 3-21.

Ashoor SH, Zent JB. Maillard browning in common amino acids and sugars. *J Food Sci*. 1984; 49 (5): 1206-1207.

Burton HS, McWeeny DJ, Biltcliffe DO. Nonenzymic browning. Development of chromophores in the glucose-glycine and sucrose-glycine systems. *Journal of Food Science*. 1963; 28: 631-639.

Chongsawadvorakul A, Mosuwan L. Evidence-based Maillard reaction: focusing on parenteral nutrition. *Thai J Parenteral Enteral Nutr*. 2002; 13: 3-11.

Eichner K, Karel M. The influence of water content and water activity on the sugarÐanimo browning reaction in model systems under various conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1972; 20: 218-223.

Jing H, Kitts DD. Chemical and biochemical properties of casein–sugar Maillard reaction products. *Food and Chemical Toxicology*. 2002; 40: 1007–1015.

Jung HA, Jung YJ, Yoon NY, Jeong DM, Bae HJ, Kim DW, et al. Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* leaves on rat lens aldose reductase, advanced glycation end products formation, and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46: 3818-3826.

Kim HY, Kim K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. *J. Agric. Food Chem*. 2003; 51(6): 1586–1591.

Loncin M, Bimbenet JJ, Lenges J. Influence of the activity of water on the spoilage of food stuffs. *Journal of Food Technology*. 1968; 3: 131-142.

Morales1 FJ, Boekel V. A Study on Advanced Maillard Reaction in Heated Casein/Sugar Solutions: Fluorescence Accumulation. *Int. Dairy Journal*. 1997; 7: 675-683.

Namiki M. Chemistry of Maillard reactions: recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens. *Advances in Food Research*. 1988; 32: 115-184.

Reddy VP, Beyaz A. Inhibitors of the Maillard reaction and AGE breakers as therapeutics for multiple diseases. *Drug Discovery Today*. 2006; 11: 645-654.

Tessier FJ**.** The Maillard reaction in the human body. The main discoveries and factors that affect glycation. *Pathologie Biologie*. 2010; 58 (3): 214-219.

Tsuji-Naito K, Saeki H, Hamano M. Inhibitory effects of Chrysanthemum species extracts on formation of advanced glycation end products. *Food Chemistry*. 2009; 116: 854–859.

Vinson JA, Howard TB. Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *J.Nutritional Biochemistry*. 1996; 7: 659-663.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ของสารสกัดพืชที่เก็บจาก โครงการอพ.สธ. เกาะแสมสาร จ.ชลบุรี และเขาวังเขมร จ.กาญจนบุรี (ความเข้มข้น 200μg/ml)

ต้นที่	ตัวอย่างที่	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	น.น.พืชสด (ก.)	น.น.สารสกัดแห้ง(ก.)	% inhibition	มีฤทธิ์/ไม่มีฤทธิ์
1	1	หมัน	ใบ	*Cordia cochinchinensis* Pierre	Boraginaceae	28.7	2.5		**ไม่มีฤทธิ์**
2	2	ก้างปลา สามพันตา	กิ่ง	*Cleistanthus gracilis* Hook.f.	Euphorbiaceae	26.56	0.57	95.91	**มีฤทธิ์**
	3	ก้างปลา	ใบ	*Cleistanthus gracilis* Hook.f.	Euphorbiaceae	15.60	1.92	72.33	**มีฤทธิ์**
3	4	ประยงค์ป่า	ใบ	*Aglaia odoratissima* Blume	Meliaceae	48.17	3.46		**ไม่มีฤทธิ์**
4	5	ยอป่า	ใบ	*Morinda coreia* Ham.	Rubiaceae	28.14	4.08	64.54	**มีฤทธิ์**
5	6	ตะขบป่า	ใบ	*Flacourtia indica* (Burm.f.)Merr.	Flacourtiaceae	4.7	0.81	76.14	**มีฤทธิ์**
6	7	ช้างน้าว	ใบ	*Ochna integerrima* Merr.	Ochnaceae	31.73	5.64	87.85	**มีฤทธิ์**
	8	ช้างน้าว	กิ่ง	*Ochna integerrima* Merr.	Ochnaceae	35.73	1.28	81.93	**มีฤทธิ์**
7	9	ลำป้าง	เปลือก	*Pterospermum littorale* Craib	Sterculiaceae			92.34	**มีฤทธิ์**
	10	ลำป้าง	ใบ	*Pterospermum littorale* Craib	Sterculiaceae	89.56	3.26	74.62	**มีฤทธิ์**
8	11	กระเจียน	ใบ	*Polyalthia cerasoides* (Roxb.) Benth.	Annonaceae	96.59	20.52	84.18	**มีฤทธิ์**
	12	กระเจียน	เปลือก	*Polyalthia cerasoides* (Roxb.) Benth.	Annonaceae	120.53	8.3	84.79	**มีฤทธิ์**
9	13	หนามเกี่ยวไก่	ใบ	*Capparis diffusus* Ridl.	Capparidaceae	23.03	1.48	88.85	**มีฤทธิ์**

ต้นที่	ตัวอย่างที่	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	น.น.พืชสด (ก.)	น.น.สารสกัดแห้ง(ก.)	% inhibition	มีฤทธิ์/ไม่มีฤทธิ์
10	14	เขลง หยี	ใบ	*Dialium cochinchinense* Pierre	Fabaceae	17.25	3.13		**ไม่มีฤทธิ์**
	15	เขลง	เปลือก	*Dialium cochinchinense* Pierre	Fabaceae	45.38	1.47		**ไม่มีฤทธิ์**
11	16	พลองใบใหญ่	ใบ	*Memecylon ovatum* J.E.Smith	Melastomataceae	28.52	3.01	85.69	**มีฤทธิ์**
12	17	พลองใบรี	ใบ	*Mamecylon plebejum* Kurz. var. *ellipsoideum* Craib.	Melastomataceae	16.9	1.55	85.08	**มีฤทธิ์**
13	18	ผักเบี้ยทะเล	ใบ	*Sesuvium portulacastrum* L.	Aizoaceae	120.01	3.56	76.22	**ไม่มีฤทธิ์**
14	19	สำเภา	เปลือก	*Chaetocarpus castanocarpus* (Roxb.)Thwaites	Euphorbiaceae	36.35	1.51	83.79	**มีฤทธิ์**
	20	สำเภา	ใบ	*Chaetocarpus castanocarpus* (Roxb.)Thwaites	Euphorbiaceae	13.15	1.4		**ไม่มีฤทธิ์**
15	21	อบเชยเถา	ใบ	*Atherolepis pierrei* Cost. var. *glaba* Kerr.	Asclepiadaceae	13.06	1.04	84.42	**มีฤทธิ์**
	22	อบเชยเถา	กิ่ง	*Atherolepis pierrei* Cost. var. *glaba* Kerr.	Asclepiadaceae	68.83	3.3		**ไม่มีฤทธิ์**
16	23	มะนาวผี	ใบ	*Atalantia monophylla* Corr.	Rutaceae	23.49	1.28		**ไม่มีฤทธิ์**
17	24	สวอง สวองตีนนก	ใบ	*Vitex pinnata* L.	Verbenaceae	10.96	1.5		**ไม่มีฤทธิ์**
18	25	ลำไยป่า	ใบ	*Dimocarpus longan* Lour. Var. *obtusus*	Sapindaceae	37.47	2.75		**ไม่มีฤทธิ์**

ต้นที่	ตัวอย่างที่	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	น.น.พืชสด (ก.)	น.น.สารสกัดแห้ง(ก.)	% inhibition	มีฤทธิ์/ไม่มีฤทธิ์
19	26	ขี้หนอน	เปลือก	*Zollingeria dongnaiensis* Pierre	Sapindaceae	41.65	3.21		**ไม่มีฤทธิ์**
	27	ขี้หนอน	ใบ	*Zollingeria dongnaiensis* Pierre	Sapindaceae	17.67	2.21		**ไม่มีฤทธิ์**
20	28	เข็มขาว	ใบ	*Chassalia curviflora*	Rubiaceae	39.73	2.99	61.26	**มีฤทธิ์**
21	29	เปล้าใหญ่	ใบ	*Croton* cf.*kerrii*	Euphorbiaceae	42.58	5.24		**ไม่มีฤทธิ์**
22	30	ปอแดง	ใบ	*Sterculia hypochra* Pierre	Sterculiaceae	41.89	2.36		**ไม่มีฤทธิ์**
23	31	สังเครียด	ใบ	*Aglaia elaeagnoidea* (Juss.) Benth.	Meliaceae	3.88	0.6		**ไม่มีฤทธิ์**
24	32	เกด	ใบ	*Manilkara hexandra* (Roxb.) Dub.	Sapotaceae	12.07	1.29	88.59	**มีฤทธิ์**
25	33	กำแพงเจ็ดชั้น	ใบ	*Salacia chinensis* L.	Celastraceae หรือ Hippocrateaceae	10.73	0.88		**ไม่มีฤทธิ์**
26	34	ติ้วขน ติ้ว	กิ่ง	*Cratoxylum formosum* (Jack.)Dyer. Var. *formosum*	Clusiaceae	14.75	1.13	65.25	**มีฤทธิ์**
	35	ติ้วขน ติ้ว	ใบ	*Cratoxylum formosum* (Jack.)Dyer. Var. *formosum*	Clusiaceae	1.13	2.56	69.73	**มีฤทธิ์**
27	36	มะลิไส้ไก่	กิ่ง	*Jasminum funale* Decne	Oleaceae	8.58	0.48	87.87	**มีฤทธิ์**
	37	มะลิไส้ไก่	ใบ	*Jasminum funale* Decne	Oleaceae	17.92	2.25		**ไม่มีฤทธิ์**
28	38	แจง	ใบ	*Maerua siamensis*(Kurz.)Pax.	Capparidaceae	48.57	3.54		**ไม่มีฤทธิ์**

ต้นที่	ตัวอย่างที่	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	น.น.พืชสด (ก.)	น.น.สารสกัดแห้ง(ก.)	% inhibition	มีฤทธิ์/ไม่มีฤทธิ์
29	39	โพทะเล	ใบ	*Thespesia populnea* (L.)Soland.ex Corr.	Malvaceae	40.8	2.66	75.57	**มีฤทธิ์**
	40	โพทะเล	ผล	*Thespesia populnea* (L.)Soland.ex Corr.	Malvaceae	149.41	1.71	88.02	**มีฤทธิ์**
30	41	พลองเหมือด	กิ่ง	*Memecylon edule* Roxb.	Melastomataceae	37.54	0.86	93.03	**มีฤทธิ์**
31	42	บานไม่รู้โรยป่า	ใบ	*Gomphrena celosioides* Mart.	Amaranthaceae	97.71	2.57		**ไม่มีฤทธิ์**
32	43	เหมือดแอ	ใบ	*Memecylon pauciflorum* Blume	Melastomaceae	57.46	7.42	77.39	**มีฤทธิ์**
33	44	พลับดง	ใบ	*Diospyros bejaudii* Lecompte	Ebenaceae	14.83	1.4		**ไม่มีฤทธิ์**
34	45	ตีนตั่ง	ใบ	*Getonia floribunda* (Roxb.) Lam. *Calycopteris = Getonia*	Combretaceae	10.77	2.477		**ไม่มีฤทธิ์**
35	46	กระพี้จั่น	กิ่ง	*Millettia brandisiana Kurz.*	Leguminosae	62.96	13.94	85.02	**มีฤทธิ์**
	47	กระพี้จั่น	ใบ	*Millettia brandisiana Kurz.*	Leguminosae	27.12	6.995	79.67	**มีฤทธิ์**
36	48	มะลิป่า	ใบ	*Jasminum sp. Multiflorum* (Burm.f.) Andr.C.	Oleaceae	2.28	0.73		**ไม่มีฤทธิ์**
37	49	ก้างปลา	ใบ	*Bridelia affinis* Craib	Euphorbiaceae	12.58	6.852	77.93	**มีฤทธิ์**
38	50	กวาวแดง	ใบ	*Butea superba* Roxb.	Leguminosae	6.71	2.576		**ไม่มีฤทธิ์**

ต้นที่	ตัวอย่างที่	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	น.น.พืชสด (ก.)	น.น.สารสกัดแห้ง(ก.)	% inhibition	มีฤทธิ์/ไม่มีฤทธิ์
39	51	สาบเสือ	ราก	*Chromolaena odoratum* (L.) R.M. King& H.Rob .*Eupatorium = Chromolaena*	Asteraceae	24.45	5.446		**ไม่มีฤทธิ์**
40	52	กาสามปีก	ใบ	*Vitex peduncularis* Wall.ex Schauer	Labiatae	8.66	4.891	86.91	**มีฤทธิ์**
41	53	แกแลหนามเข	ใบ	*Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corner	Moraceae	4.05	1.769	68.82	**มีฤทธิ์**
42	54	ขันทองพยาบาท	ใบ	*Suregada multiflorum (A.Juss.) Baill.*	Euphorbiaceae	19.37	6.653	86.8	**มีฤทธิ์**
	55	ขันทองพยาบาท	กิ่ง	*Suregada multiflorum (A.Juss.) Baill.*	Euphorbiaceae	12.4	4.547	76.82	**มีฤทธิ์**

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบแทนนินในตัวอย่างพืชสมุนไพร

ลำดับ	ชื่อสามัญ	ผลการทดสอบ tannin			
		10% lead acetate	Gelatin solution	2.5% $FeCl_3$	หมายเหตุ
2	ก้างปลา สามพันตา	-	+		
6	ช้างน้าว (ใบ)	-	-		
8	ลำป้าง (เปลือก)	+	-		
12	หนามเกี่ยวไก่ (ใบ)				
14	พลองใบรี (ใบ)	-	-		
32	เกด	++	++	น้ำเงิน	**
38	พลองใบใหญ่	-	-		
40	มะลิไส้ไก่ (กิ่ง)	+	-		
44	พลองเหมือด	++	++	น้ำเงิน	**
52	โพทะเล (ผล)				
56-1	กระพี้จั่น (กิ่ง)	+	-		
62	กาสามปีก (ใบ)	-	-		
64-1	ขันทองพยาบาท (ใบ)	+	+	เขียวเข้ม	**

<u>หมายเหตุ</u> : + หมายถึง ให้ผลบวกในการทดสอบแทนนินด้วย 10% lead acetate และ Gelatin solution (เกิดตะกอน)

- หมายถึง ให้ผลลบในการทดสอบแทนนินด้วย 10% lead acetate และ Gelatin solution

** หมายถึง พืชที่มีแทนนิน

ตารางที่ 3 ค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ IC_{50} ของสารสกัดพืชสมุนไพร จำนวน 5 ตัวอย่าง

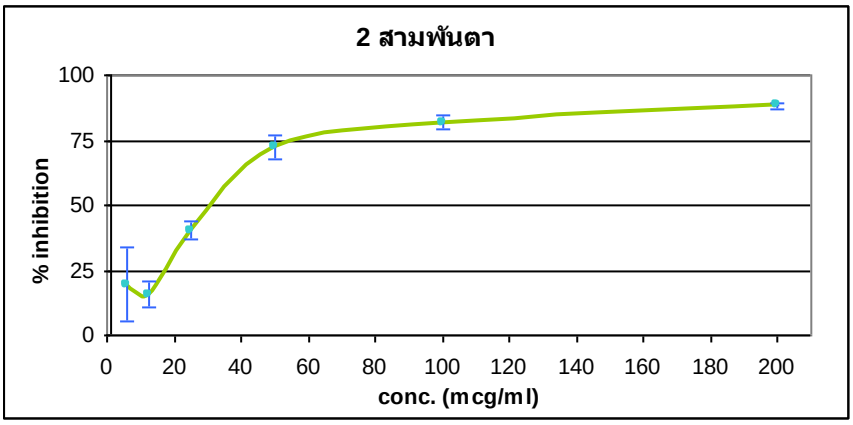
ลำดับ	ชื่อสามัญ	Conc. mcg/ml	% inhibition					
			1st	2nd	3rd	mean	SD	IC50(mg/ml)
2	ก้างปลา สามพันตา	200	87.33	87.62	89.56	88.17	1.21	28.95
		100	79.87	80.32	84.64	81.61	2.64	
		50	68.69	71.37	77.34	72.47	4.43	
		25	36.18	41.40	42.74	40.11	3.47	
		12.5	14.41	11.73	21.12	15.76	4.84	
		6.25	26.49	28.88	3.38	19.58	14.08	
6	ช้างน้าว	200	92.40	88.22	85.09	88.57	3.67	20.25
		100	86.43	82.70	87.62	85.59	2.57	
		50	83.30	71.82	76.29	77.14	5.79	
		25	48.71	45.43	46.17	46.77	1.72	
		12.5	26.79	24.55	38.72	30.02	7.62	
		6.25	37.23	40.06	27.24	34.84	6.74	
8	ลำป้าง	200	91.91	28.84	74.61	65.12	32.59	19.85
		100	91.46	88.46	83.23	87.72	4.16	
		50	88.46	82.02	74.61	81.70	6.93	
		25	86.82	73.78	81.32	80.64	6.54	
		12.5	-7.72	0.82	63.83	18.98	39.08	
		6.25	24.19	26.74	59.28	36.74	19.56	

ลำดับ	ชื่อสามัญ	Conc.	% inhibition					
			1st	2nd	3rd	mean	SD	IC50(mg/ml)
33	โพทะเล	200	86.73	83.90	87.18	85.93	1.78	16.75
		100	77.78	78.83	77.93	78.18	0.56	
		50	71.22	73.46	70.63	71.77	1.49	
		25	57.21	68.09	56.76	60.69	6.42	
		12.5	41.70	44.83	25.15	37.23	10.58	
		6.25	31.86	33.80	38.12	34.59	3.21	
37	กระพี้จั่น	200	89.56	86.28	88.22	88.02	1.65	19.75
		100	77.63	80.02	85.69	81.11	4.14	
		50	66.45	70.92	73.16	70.18	3.42	
		25	51.99	53.33	53.03	52.78	0.70	
		12.5	29.03	34.84	32.60	32.16	2.93	
		200	89.56	86.28	88.22	88.02	1.65	

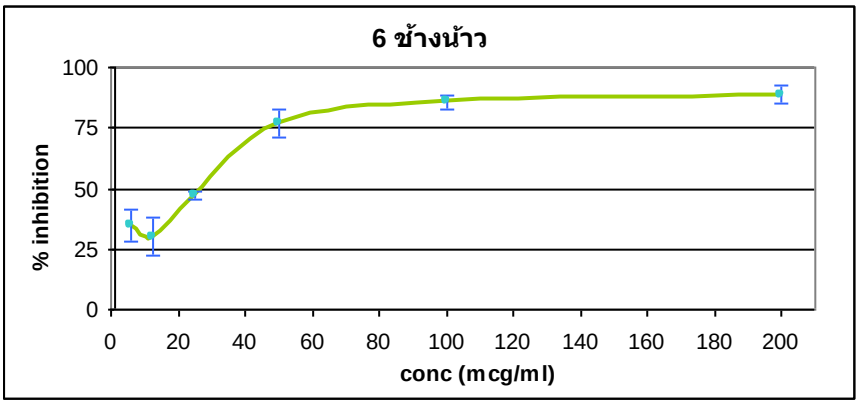
ตารางที่ 4 ค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่างๆและ IC_{50} ของaminoguanidine

สาร	Conc. (mcg/ml)	% inhibition					
		1st	2nd	3rd	เฉลี่ย	SD	IC50(mg/ml
Aminoguanidine (4x)	408.0	81.88	83.45	79.60	81.65	1.94	93.16
Aminoguanidine (2x)	204.0	64.62	63.05	62.20	63.29	1.23	
Aminoguanidine (Normal)	102.0	56.63	52.35	54.35	54.45	2.14	
Aminoguanidine (0.5x)	51.0	33.52	31.24	37.09	33.95	2.95	
Aminoguanidine (0.25x)	25.5	27.82	25.39	24.39	25.87	1.76	

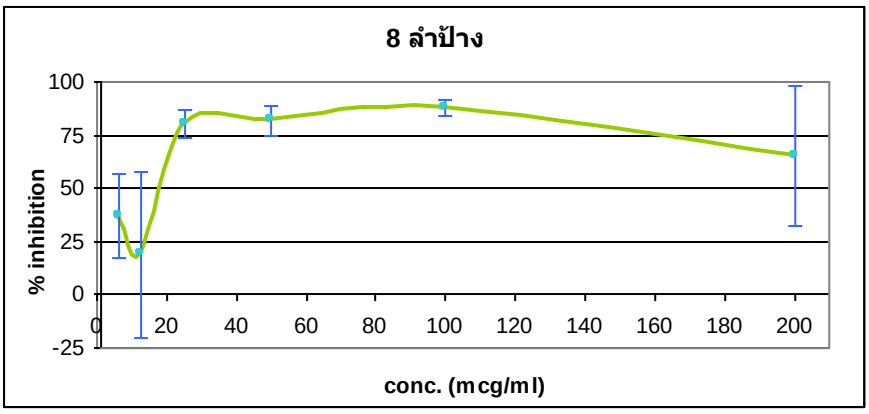
กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition



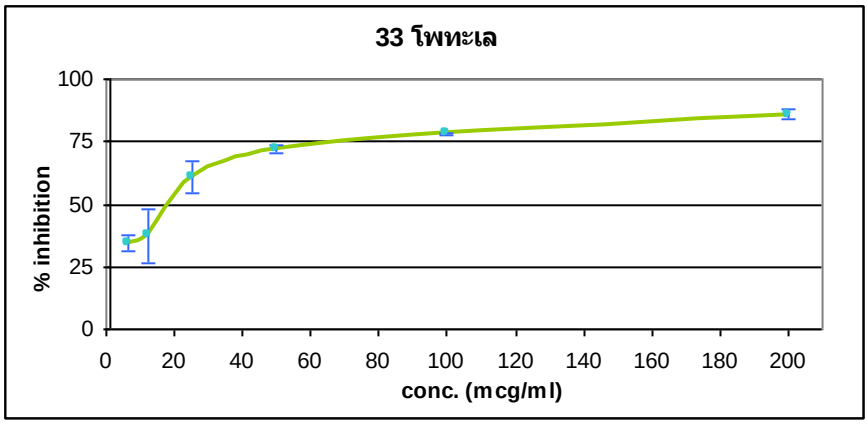
ภาพที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของใบก้างปลา หรือสามพันตา



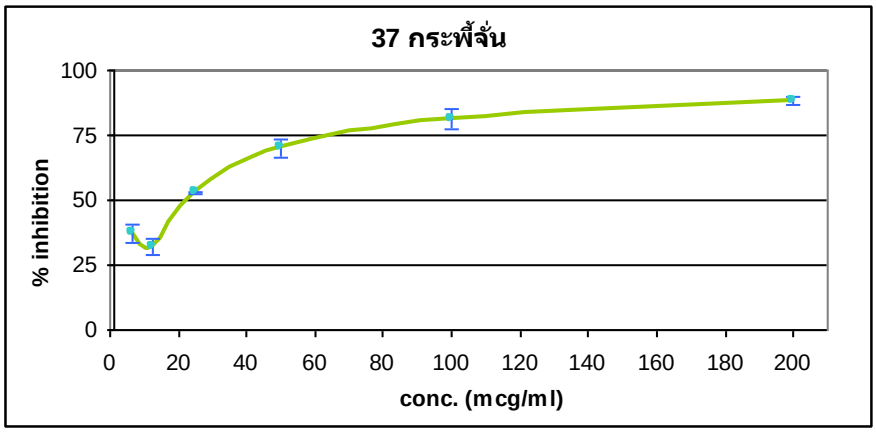
ภาพที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของใบช้างน้าว



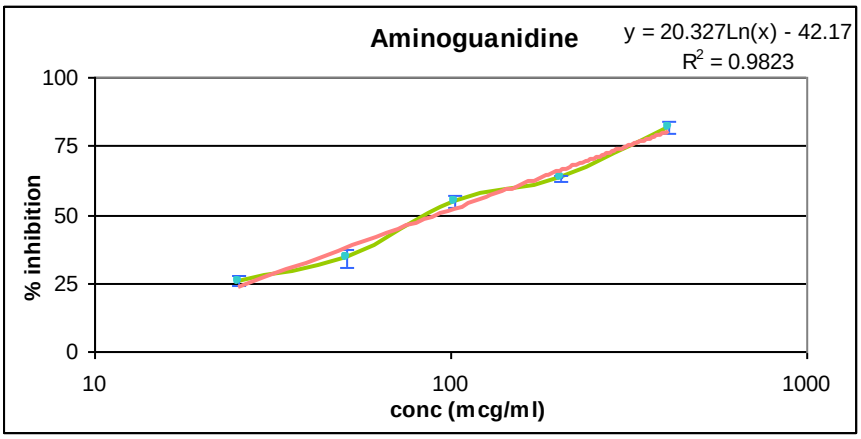
ภาพที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของเปลือกลำป้าง



ภาพที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของผลโพทะเล



ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของกิ่งกระพี้จั่น



ภาพที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า % inhibition ของ aminoguanidine

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาง สุรัตนา อำนวยผล
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Surattana Amnuoypol
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1006 00319 79 6
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   ภาควิชา เภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   โทรศัพท์ 02-2188358
   โทรสาร 02-2188357
   e-mail : asuratta@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภบ.	เภสัชศาสตร์	2521
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภม.	เภสัชเวท	2524
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.ด.	เคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	2547

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ พฤกษเคมี
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :

1. การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่อง จากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α – Glucosidase งบแผ่นดินปี 2553
2. การแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α – Glucosidase งบแผ่นดินปี 2554
3. การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นด์โปรดักส์ งบแผ่นดินปี 2555
4. โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คลัสเตอร์ สุขภาพ สับคลัสเตอร์ เรื่อง ฐานงานประเมินที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อมุ่งเป้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางยาจากพืชสมุนไพร งบแผ่นดินปี 2554 - 2555

   7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

การคัดกรองและการแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่อง จากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α – Glucosidase เผยแพร่ในการประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการอพ.สธ. ครั้งที่ 5 “ทรัพยากรไทย: ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ” 3 พย. พ.ศ. 2554 จ.นครราชสีมา ทุนโครงการ อพ.สธ.จฬ. ปี**2552-2554**

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

7.4.1 ฐานงานประเมินที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อมุ่งเป้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางยาจากพืชสมุนไพร ทุนโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2554 – 2556 ในปี 2555 ได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้ว 95 %

8. **ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่**

Publications:

1. Suwanchaikasem, P., Chaichantipyuth, C., **Amnuoypol, S**. and Sukrong, S. Random amplified polymorphic DNA analysis of *Thunbergia laurifolia* Lindl. And its related species. *J.Med.Plants Res.,* 6(15), 2955-2964, 2012.

2. Daikuhara, N., Tada, Y., Yamaki, S.,Charupant, K., **Amnuoypol, S**., Suwanborirux, K., and Saito, N. Chemistry of renieramycins. Part 7: Renieramycin T and U, novel renieramycin-ecteinascidin hybrid marine natural products from Thai sponge Xestospongia sp. *Tetrahedron Letters*, 50, 4276-4278, 2009. ผู้ร่วมวิจัย

3. Charupant, K., Daikuhara, N., Saito, E., **Amnuoypol, S.,** Suwanborirux, K., Owa, T. and Saito, N. Chemistry of renieramycins. Part 8: Synthsis and cytotoxicity evaluation of renieramycin M-jorunnamycin A analogues. *Bioorg. & Med. Chem*., 17, 4548-4558, 2009. ผู้ร่วมวิจัย

4. Wirotesangthong, M., Nagai, T., Yamada, H., **Amnuoypol, S.,** Mungmee, C. Effect of Clinacanthus siamensis Leaf Extract on Influenza Virus Infection. *Microbiol. Immuno.,* 53(2), 66-74, 2009. ผู้ร่วมวิจัย

5. Charupant K., Suwanborirux K., **Amnuoypol S,** Saito, E., Kubo A., and Saito N., Jorunnamycins A-C, New Stabilized Renieramycin-Type Bistetrahydroisoquinolines Isolated from the Thai Nudibranch *Jorunna funebris*. *Chem. Pharm. Bull*., 55(1), 81-86, 2007 ผู้ร่วมวิจัย

6. Puthongking P., Patarapanich C., **Amnuoypol, S**., Suwanborirux K., Kubo A., and Saito N. Chemistry of Ecteinascidins. Part 2. Preparation of 6’-O-Acyl Derivatives of the stable Ecteinascidins and Evaluation of Antitumor Activity. *Chem. Pharm. Bull*., 54(7), 1010-1016, 2006. ผู้ร่วมวิจัย

7. Saito, N., Tanaka, C., Koizumi, Y., Suwanborirux, K., **Amnuoypol, S.**, Pummangura, S., and Kubo, A. Chemistry of Renieramycins. Part 6. Transformation of Renieramycin M into Jorumycin and Renieramycin J Including Oxidative Degradation Products, Mimosamycin, Renierone, and Renierol Acetate. *Tetrahedron*, 60, 3873-3881, 2004. ผู้ร่วมวิจัย

8. **Amnuoypol, S.**, Suwanborirux, K., Pummangura, S., Kubo, A, Tanaka, C., and Saito N. Chemistry of Renieramycins. Part 5. Structure Elucidation of Renieramycin-Type Derivatives O, Q, R, and S, from Thai Marine Sponge Xestospongia Species Pretreated with Potassium Cyanide. J. Nat. Prod, 67, 1023-1027., 2004. ผู้ร่วมวิจัย

9. Suwanborirux K., **Amnuoypol S.**, Plubrukarn A., Pummangura S., Kubo A., Tanaka C. and Saito N. Chemistry of Renieramycins. Part 3. Isolation and Structure of Stabilized Renieramycin Type Derivatives Possessing Antitumor Activity from Thai Sponge, Xestospongia Species, Pretreated with Potassium Cyanide. J. Nat. Prod., 66, 1441-1446, 2003. ผู้ร่วมวิจัย

10. Saito N., Koizumi Y., Tanaka C., Suwanborirux K., **Amnuoypol S**. and Kubo A. Chemistry of Antitumor Isoquinolinequinone Alkaloids: Unexpected Oxidative Degradation of Saframycin S to Generate Simple Isoquinoline Alkaloids, Mimosamycin and Mimocin. Heterocycles, 61, 79-86, 2003. ผู้ร่วมวิจัย

11. Suwanborirux K., Charupant K, **Amnuoypol S**, Pummangura S, Kubo A, and Saito N. Ecteinascidins 770 and 786 from the Thai Tunicate Ecteinascidia thurstoni. J. Nat. Prod., 65, 935-937, 2002. ผู้ร่วมวิจัย