

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคอ้วนจัดเป็นปัญหาหลักทางสาธารณสุขที่พบมากขึ้นในยุคปัจจุบัน คนไทยมีปัญหากับโรคอ้วนเนื่องจากพฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสม โดยเฉพาะการนิยมบริโภคอาหารประเภทที่มีแป้ง น้ำตาล และไขมันสูง ทำให้มีน้ำหนักตัวและไขมันสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น การมีน้ำหนักตัวมากเกินไปส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพกายและก่อให้เกิดโรคภัยต่างๆ ตามมา ภาวะแทรกซ้อนของโรคอ้วนที่พบได้บ่อย ได้แก่ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด โรคเกี่ยวกับถุงน้ำดี โรคมะเร็งบางชนิด โรคกระดูกเสื่อม โรคเกี่ยวกับตับ เป็นต้น ยาลดความอ้วนที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ ยาออร์ลิสแตต (orlistat) ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ทำให้ไขมันถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายน้อยลง ร่างกายจึงนำไขมันที่เก็บสะสมไว้ออกมาใช้ ส่งผลให้ความอ้วนลดลงได้ แต่ยาออร์ลิสแตตนี้ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ ปัจจุบันชาชนิคมมีการควบคุมการใช้เฉพาะในสถานพยาบาลเท่านั้น และยังคงติดตามผลการใช้ยาอยู่ ปัจจุบันคนไทยมีความตื่นตัวในเรื่องสุขภาพอนามัยมากขึ้น รู้จักเอาใจใส่ในการรักษาสุขภาพของตนเองและครอบครัว พร้อมกับกระแสมโนทัศน์การใช้พืชสมุนไพรในการรักษาโรคต่างๆ ในปัจจุบันกำลังเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังนิยมนำพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มาใช้เป็นยาลดความอ้วนอีกด้วย แต่เนื่องจากยังขาดผลการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือ จึงไม่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยจากการใช้พืชสมุนไพรเหล่านั้นได้

งานวิจัยนี้มีแนวความคิดที่จะศึกษาฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของพืชสมุนไพร โดยการสกัดและแยกหาองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในสมุนไพร และพิสูจน์ทราบโครงสร้างทางเคมีของสารยับยั้งไลเปส องค์ความรู้ที่จะได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้ที่มิ้น้ำหนักตัวเกินมาตรฐานและผู้ที่ใส่ใจกับสุขภาพ และอาจนำมาพัฒนาเป็นยาลดความอ้วนได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อสกัด แยก และพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารยับยั้งไลเปสจากพืชสมุนไพร

ขอบเขตของโครงการวิจัย

สกัดพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วแยกสารสกัดนั้นด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี และพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารยับยั้งไลเปสที่แยกได้จากพืชสมุนไพร

ทฤษฎีและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

โรคอ้วนเป็นโรคที่เกิดจากการเสียสมดุลของพลังงานของร่างกาย ผู้ป่วยโรคอ้วนมีลักษณะสำคัญคือ มีไขมันทั่วร่างกายมากกว่าปกติ สาเหตุของโรคอ้วน ได้แก่ กรรมพันธุ์ โรคของต่อมไร้ท่อ การรับประทานอาหารที่มีแป้งและไขมันมาก การขาดการออกกำลังกาย และการใช้ยาบางชนิดติดต่อกันเป็น

เวลานาน โรคอ้วนเป็นสาเหตุของปัญหามากมาย และบางครั้งอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ โรคแทรกซ้อนของความอ้วนที่พบบ่อย ได้แก่ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด โรคเกี่ยวกับถุงน้ำดี โรคกระเพาะอาหาร โรคกระดูกเสื่อม โรคเกี่ยวกับตับ เป็นต้น

องค์การอนามัยโลกกำหนดมาตรฐานที่เป็นเครื่องบ่งชี้ว่าบุคคลอยู่ในภาวะอ้วนหรือไม่ โดยใช้ค่าดัชนีมวลกาย (Body mass index, BMI) ซึ่งคำนวณจากน้ำหนักตัวและส่วนสูง ดังนี้

$$\text{ดัชนีมวลกาย} = \frac{\text{น้ำหนักตัว หน่วยกิโลกรัม}}{(\text{ส่วนสูง หน่วยเมตร})^2}$$

* หมายเหตุ การคำนวณวิธีนี้ไม่ใช้กับเด็กที่กำลังเจริญเติบโต สตรีมีครรภ์ และนักกีฬา

ซึ่งค่าดัชนีมวลกายในระดับต่างๆ แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วย แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ของค่าดัชนีมวลกายและความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วย

ประเภท	ดัชนีมวลกาย	ความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วย
น้ำหนักตัวต่ำกว่าเกณฑ์	น้อยกว่า 18.5	ต่ำ (เสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ)
น้ำหนักตัวปกติ	18.5 – 24.9	ปกติ
น้ำหนักตัวเกิน	25 – 29.9	เพิ่มกว่าปกติ
โรคอ้วนขั้นที่ 1	30 – 34.9	เพิ่มขึ้นอย่างมาก
โรคอ้วนขั้นที่ 2	35 – 39.9	ต่ำ (เสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ)
โรคอ้วนขั้นที่ 3	40 ขึ้นไป	เพิ่มขึ้นถึงขั้นรุนแรง

จากตารางข้างต้นจะพบว่าผู้ที่มีน้ำหนักตัวเกิน (ค่า BMI มากกว่า 25) และผู้ที่เป็นโรคอ้วน (ค่า BMI มากกว่า 30) จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วยอย่างมาก หรือกล่าวได้ว่าการมีน้ำหนักตัวเกินหรืออ้วนมีผลต่อระบบการทำงานในร่างกาย ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด อัตราการเสียชีวิตของคนที่มีอ้วนมากมีสูงถึง 2-12 เท่า ขึ้นอยู่กับอายุของแต่ละบุคคล

วิธีการรักษาโรคอ้วนที่ดีต้องมีการผสมผสานการรักษาหลายวิธีร่วมกัน คือ การควบคุมอาหาร การออกกำลังกาย การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมที่ไม่เหมาะสม ส่วนการรักษาโดยใช้ยานั้นต้องใช้ในกรณีจำเป็นต่อการรักษาโรคอ้วนจริงๆ ซึ่งควรปรึกษาแพทย์และเภสัชกรก่อนจะใช้ยารักษาโรคอ้วน เพราะยาอาจมีผลข้างเคียง โดยเฉพาะต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคหัวใจ โรคตับ และโรคไต

ยาลดความอ้วน

ยาลดความอ้วนหรือยาลดน้ำหนักแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามตำแหน่งการออกฤทธิ์ของยา ได้แก่ ยากลุ่มที่ออกฤทธิ์ที่สมอง โดยมีผลต่อศูนย์ควบคุมการรับประทานอาหาร หรือความอยากอาหาร และ

ยาที่ออกฤทธิ์ส่วนนอกสมอง ได้แก่ ยาที่ออกฤทธิ์ที่ทางเดินอาหาร ยาลดความอ้วนซึ่งออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางมีจุดประสงค์เพื่อลดความอยากอาหารหรือทำให้เกิดความรู้สึกอิ่ม โดยเป็นผลมาจากการเพิ่มสารเคมีในสมอง คือ catecholamine และ/หรือ serotonin ซึ่งสารเคมีทั้งสองตัวนี้ออกฤทธิ์ควบคุมความอยากอาหารและอารมณ์ ยากลุ่มที่ออกฤทธิ์ที่สมองนี้แบ่งออกตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

ก. กลุ่มที่ออกฤทธิ์ผ่าน catecholamine pathways ได้แก่ amphetamine, phenmetrazine, amfepramone, phentermine, mazindol, cathine และ phenylpropanolamine ซึ่งยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทซิมพาเทติก

ข. กลุ่มที่ออกฤทธิ์ผ่าน serotonin pathways ได้แก่ fenfluramine และ dexfenfluramine ซึ่งยาในกลุ่มนี้ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทซิมพาเทติก

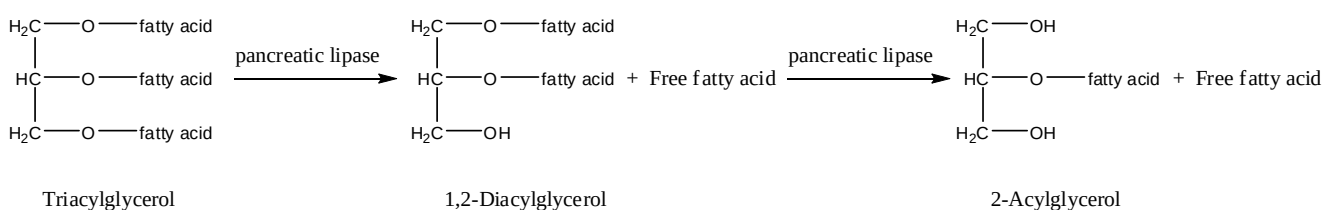
สำหรับยาที่ออกฤทธิ์ที่ทางเดินอาหาร แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

ก. สารที่พองตัวในกระเพาะอาหาร (bulk forming agents) เป็นสารที่ไม่ถูกย่อยสลายให้เป็นพลังงาน ทำให้อิ่มแต่ไม่ให้พลังงาน เช่น glucomannan ซึ่งเป็นแป้งที่เป็นเส้นใยธรรมชาติสกัดจากหัวบุกบางชนิด

ข. สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (pancreatic lipase inhibitors) เช่น orlistat ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยไขมันให้อยู่ในรูปที่ร่างกายนำไปใช้ได้

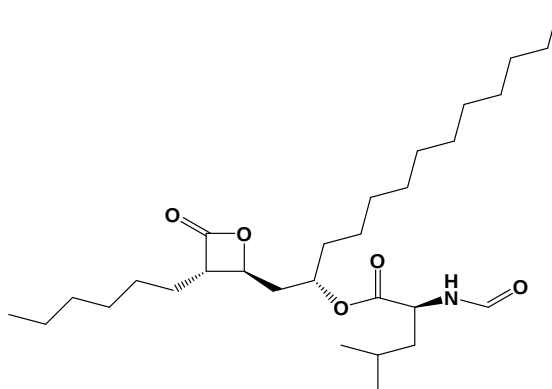
ไลเปส

ไลเปส (acylglycerol acylhydrolase, EC3.1.1.3) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายของน้ำมันและไขมัน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล นอกจากนี้ไลเปสยังเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันซึ่งเป็นปฏิกิริยาผันกลับในระบบที่มีน้ำน้อยหรือระบบที่มีสารอินทรีย์เป็นตัวทำละลาย เอนไซม์นี้สกัดได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ (เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย) จุลินทรีย์เป็นแหล่งของไลเปสที่สำคัญ เนื่องจากมีความง่ายในการผลิต การเก็บเกี่ยว และการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์ มีการนำเอนไซม์ชนิดนี้ไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ อุตสาหกรรมยาฆ่าแมลง น้ำยาซักล้าง เชื้อเพลิงชีวภาพ อาหาร เครื่องสำอาง และยา ไลเปสมีหลายชนิด เช่น pancreatic lipase, lipoprotein lipase, hormone sensitive lipase เป็นต้น ในร่างกายมนุษย์มีเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจากตับอ่อน ทำหน้าที่ย่อยสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล โดยสลายพันธะเอสเทอร์ที่เชื่อมกรดไขมันกับกลีเซอรอลตรงตำแหน่งที่ 3 ก่อน แล้วค่อยย่อยตรงตำแหน่งที่ 1 ตามลำดับ ได้กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) 1,2-diacylglycerols และ 2-acylglycerols ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยกรดไขมันอิสระมักอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียม



ภาพที่ 1 การย่อยสลายไตรเอซิลกลีเซอรอลด้วยเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส

การยับยั้งการทำงานของไลเปสจะมีผลทำให้ลดการดูดซึมไขมัน และเพิ่มการขับถ่ายของไตรกลีเซอไรด์ในอุจจาระ ทำให้ไขมันในอาหารที่รับประทานเข้าไปไม่ถูกย่อยและไม่สามารถดูดซึมไปใช้ได้ จึงเป็นเหตุให้ร่างกายไม่ได้รับพลังงานจากไขมันเหล่านี้ ออร์ลิสแทตเป็นยาตัวแรกของยาลดความอ้วนในกลุ่มยับยั้งไลเปส รู้จักกันในชื่อ tetrahydrolipstatin มีชื่อทางการค้า คือ Xenical ผลิตโดยบริษัท Roche และมีสูตรโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2 ซึ่งแยกได้จากแบคทีเรีย *Streptomyces toxytricini* ในปี 1987 โดยปกติอัตราการใช้ยาออร์ลิสแทต คือ วันละ 3 ครั้ง ครั้งละ 120 มิลลิกรัม ก่อนอาหาร กลไกการทำงานของออร์ลิสแทตคือทำให้ไขมันที่รับประทานเข้าไปประมาณ 1/3 ไม่ถูกดูดซึม และเพิ่มการขับถ่ายของไตรกลีเซอไรด์ในอุจจาระ ทำให้ไขมันในอาหารที่รับประทานเข้าไปไม่ถูกย่อยและไม่สามารถดูดซึมไปใช้ได้ เป็นเหตุให้ร่างกายไม่ได้รับพลังงานจากไขมันเหล่านั้น ร่างกายต้องนำไขมันที่เก็บสะสมไว้ออกมาใช้ จึงทำให้น้ำหนักลดลง อาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ของการใช้ยาที่เด่นชัดเกี่ยวข้องกับการดูดซึมไขมันที่ผิดปกติ (fat malabsorption) ได้แก่ ไม่สามารถกลืนอุจจาระได้ (faecal urgency) อุจจาระไม่เกาะรวมกัน (loose) มีแก๊สและไขมันขับออกมาด้วย นอกจากนี้ยังอาจมีผลทำให้การดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมันผิดปกติได้ (fat soluble vitamin malabsorption) ฉะนั้นเมื่อใช้ยานี้จึงแนะนำให้รับประทานวิตามินรวมอย่างน้อย 2 ชั่วโมงก่อนหรือหลังรับประทานยา ปัจจุบันยาดังนี้ถูกควบคุมการใช้เฉพาะในสถานพยาบาลเท่านั้น



ภาพที่ 2 โครงสร้างของออร์ลิสแทต (1-(3-hexyl-4-oxo-oxetan-2-yl) tridecan-2-yl-2-formylamino-4-methyl-pentanoate)

นอกจากออร์ลิสแทตแล้วยังพบรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารยับยั้งไลเปสอีกหลายชนิด เช่น Gargouri และคณะ (1984) พบโปรตีนบางชนิดที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ซีรัมแอลบูมิน (serum albumin) และบีตาแล็กโตโกลบูลิน (β -lactoglobulin) ที่ความเข้มข้นมากกว่าไมโครโมลาร์มีความสามารถยับยั้งไลเปส

Tani และคณะ (1995) พบโปรตีนขนาดน้ำหนักประมาณ 25 และ 28 กิโลดาลตันในข้าวสาลีสามารถยับยั้งไลเปส ซึ่งโปรตีนเหล่านี้สกัดแยกด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) และอิเล็กโตรโฟรีซิสสองมิติ (two dimensional electrophoresis)

Hatano และคณะ (1997) พบสารประเภทฟลาวันไดเมอร์ (flavan dimer) จากต้น *Cassia nomame* ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

Satouchi และคณะ (1998) รายงานการพบโปรตีนในถั่วเหลืองซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 70,000 ดาลตัน มีคุณสมบัติในการยับยั้งไลเปสคล้ายโปรตีนซีรัมแอลบูมิน และบีตาแล็กโตโกลบูลิน

Han และคณะ (2001) สกัดสารซาโปนินจากชาอู่หลง ชาเขียว และชาดำ ด้วยเมทานอล ซึ่งสามารถยับยั้งไลเปส 100, 75 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Moreno และคณะ (2003) สกัดเมล็ดคอรันด้วยเอทานอล จากนั้นสกัดต่อด้วยน้ำและเฮกเซน (hexane) พบว่าสารสกัดน้ำสามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปส 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Slanc และคณะ (2004) ศึกษาการคัดกรองสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปสจาก wood-damaging fungi และ macrofungi จำนวน 60 สปีชีส์ พบสายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์การยับยั้งสูงสุด 3 ชนิด คือ *Laetiporus sulphureus*, *Tylophilus felleus* และ *Hygrocybe conica* โดยมีค่าการยับยั้งคือ $83\% \pm 5\%$, $96\% \pm 3\%$ และ $97\% \pm 5\%$ ตามลำดับ

Sharma และคณะ (2005) ศึกษาสารสกัดของพืชสมุนไพรเกาหลีจำนวน 75 ชนิด ซึ่งสกัดด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีพืช 3 ชนิดที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ *Eriochloa villosa* (Thunb.) Kunth (83%), *Orixa japonica* Thunb. (81.3%) และ *Setaria italica* (L.) Palib. (80.3%)

Xu และคณะ (2005) พบสารจำพวกไตรเทอร์พีนอยด์ซาโปนิน (triterpenoidal saponins) ในรากต้น *Platycodon grandiflorum* ได้แก่ สารพลาติโคดิน เอ ซี ดี (platycodin A, C, D) และสารดีอะปิโอพลาติโคดิน ดี (deapioplatylcodin D) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไลเปส 3.3, 5.2, 34.8 และ 11.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

He และคณะ (2006) รายงานการพบสารประเภทโพลีฟีนอล (polyphenol) จากชาเขียวซึ่งสามารถยับยั้งไลเปสได้

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

1) เตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการวิจัย โดยการล้างพืชสมุนไพรด้วยน้ำให้สะอาด อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส และบดให้ละเอียด

2) สกัดพืชสมุนไพรด้วยเอทานอล และน้ำ ตามลำดับ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธีการระเหยแบบสูญญากาศภายใต้ความดัน (rotary evaporation under reduced pressure) และทำสารสกัดให้แห้งด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry)

3) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร

4) แยกสารสกัดหยาบของพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปสด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน เช่น เฮกเซน เอทิลเอซิเตต และน้ำ

5) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดที่แยกได้

6) แยกส่วนสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ให้ค่าการยับยั้งที่มีค่าสูงที่สุดเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์

7) พิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโกปีต่างๆ เช่น NMR MS เป็นต้น

8) วิเคราะห์ผล สรุปผล เขียนรายงานการวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

องค์ความรู้ที่จะได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัยของผู้ที่มีน้ำหนักตัวเกินมาตรฐาน และผู้ที่ใส่ใจกับสุขภาพ เป็นผลดีต่อการบรรเทาหรือลดปัญหาสาธารณสุขจากโรคอ้วนให้แก่สังคมได้ นอกจากนี้ผลการวิจัยอาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยขั้นประยุกต์ต่อไป โดยสารยับยั้งไลเปสที่แยกได้นี้อาจนำมาศึกษา และพัฒนาเป็นยาลดความอ้วนในอนาคตต่อไป และสามารถนำผลงานวิจัยนี้ไปเผยแพร่ในงานประชุม/สัมมนาทางวิชาการ วารสารทางวิชาการ อีกทั้งยังเป็นโอกาสที่ดีในการสร้างและฝึกฝนนักวิจัยรุ่นใหม่เพื่อพัฒนาทักษะในการทำงานวิจัย ส่งผลให้มีการพัฒนางานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้กับประเทศไทยด้วย

วิธีการดำเนินการวิจัย

สารเคมี วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย

สารเคมี

1. ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน เฮกเซน เอทิลเอซิเตต เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน แอซิโทไนโตรล์ ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide)
2. เอนไซม์ไลเปส
3. Tris HCl pH 8.5
4. พาราไนโตรฟีนิลพาล์มิเตต (*p*-nitrophenyl palmitate)
5. ออร์ลิสแทต
6. ซิลิกาเจล (no. 7734 E. Merck)

วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Silica gel 60 F₂₅₄ E. Merck)
2. คอตมันแก้ว
3. แท่งแก้ว
4. pasteur pipette พร้อมจุกยางซิลิโคน
5. กระจกกรองเบอร์ 1
6. ตัวอย่างพืชสมุนไพร
7. ถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (tissue culture plate 96 well)
8. ปีกเกอร์ ขนาด 50, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
9. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 50, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
10. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (micropipette)
11. เครื่องชั่ง
12. เครื่องคนชนิดใช้สนามแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
13. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
14. ตู้อบ (hot air oven)
15. เครื่องบด
16. เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator)
17. เครื่องวัดการดูดกลืนแสงยูวี (UV-Vis spectrometer)
18. Nuclear magnetic resonance spectrometer (400 MHz)
19. Gas chromatography – Mass spectrometer

วิธีการดำเนินการวิจัย

การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

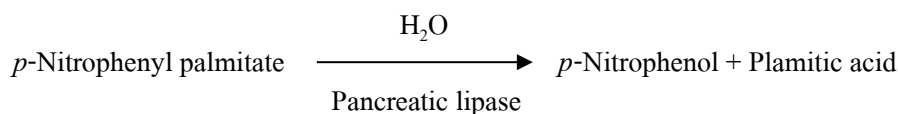
1) เตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร ล้างพืชสมุนไพรด้วยน้ำให้สะอาด อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส และบดพืชให้เป็นชิ้นเล็กๆ

2) สกัดพืชด้วยเอทานอล 200 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และระเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธีการระเหยแบบสุญญากาศภายใต้ความดัน (rotary evaporation under reduced pressure)

3) นำกากของพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอลจากข้อ 2) มาสกัดต่อด้วยน้ำ 150 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และระเหยตัวทำละลายด้วยวิธีการระเหยแบบสุญญากาศภายใต้ความดัน (rotary evaporation under reduced pressure)

4) นำส่วนสกัดหยาบเอทานอลและน้ำมาทำให้แห้ง

5) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบของพืชสมุนไพร โดยใช้สารละลายพาราไนโตรฟีนอลที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพาราไนโตรฟีนิลพาล์มิเตตเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการทำงานของไลเปส โดยความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบพืชสมุนไพรที่ทดสอบคือ 25 mg/mL ส่วนสกัดหยาบเอทานอลละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และส่วนสกัดหยาบน้ำละลายด้วยน้ำ



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพาราไนโตรฟีนิลพาล์มิเตตและแพนกรีเอติกไลเปส

การแยกสารและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสของผลมะเขือพวง

1) สกัดสารจากพืชทดสอบที่ให้ค่าการยับยั้งที่ดีจากการคัดกรอง คือ ผลมะเขือพวง ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลเอซิเตต เมทานอล และน้ำ ตามลำดับ และนำส่วนสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

2) แยกส่วนสกัดหยาบเฮกเซนและทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

2.1) แยกส่วนสกัดหยาบเฮกเซนด้วยเทคนิคคลอรันิโครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ เฮกเซน เฮกเซน:เอทิลเอซิเตต (1:1 โดยปริมาตร) เอทิลเอซิเตต และเอทิลเอซิเตต:เมทานอล (4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้แฟรกชันรวม 4 ส่วน (A-D) แล้วทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของสาร A-D

2.2) แยกสาร B ด้วยเทคนิคคลอรันิโครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเอทิลเอซิเตต (1:1 โดยปริมาตร) เอทิลเอซิเตต และสารละลายผสมเอทิลเอซิเตตและเมทานอล (9:1 และ 4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบ

2.10) แยกสาร BBCCD ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน และสารละลายผสมเฮกเซนและเอซีโทน (49:1 และ 19:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน

2.11) แยกสาร BBCCDF ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (preparative thin layer chromatography) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซีเตต (19:1 โดยปริมาตร) ได้สารบริสุทธิ์ของแข็งสีขาว **Hex 1** 37.6 มิลลิกรัม (0.0009% yield) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของสารที่แยกได้

3) แยกส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซีเตตและทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

3.1) ส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซีเตตถูกแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ เฮกเซน เฮกเซน:เอทิลเอซีเตต (1:1 โดยปริมาตร) เอทิลเอซีเตต และเอทิลเอซีเตต:เมทานอล (9:1 และ 4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส

3.2) แยกสาร F ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซีเตต (9:1 และ 1:1 โดยปริมาตร) และเอทิลเอซีเตต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกันจากนั้นนำส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส

3.3) แยกสาร FE ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเอทิลเอซีเตต (19:1, 9:1, 4:1 และ 3:2 โดยปริมาตร) เอทิลเอซีเตต และสารละลายผสมเอทิลเอซีเตตและเมทานอล (4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน

3.4) แยกสาร FEE ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน และสารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซีเตต (1:1 โดยปริมาตร) และเอทิลเอซีเตต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน

3.5) แยกสาร FEEA ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน และสารละลายผสมเฮกเซนและเอซีโทน (19:1 และ 1:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน

3.6) แยกสาร FEEAC ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน (4:1 โดยปริมาตร) ไดคลอโรมีเทน และเอทิลเอซิเทต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน

3.7) แยกสาร FEH และ FEI ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซิเทต (1:1 โดยปริมาตร) และเอทิลเอซิเทต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารบริสุทธิ์ของแข็งสีครีม EA1 23.1 มิลลิกรัม และนำสารนี้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส

การพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร Hex 1 และ EA 1

ทดสอบหาโครงสร้างของสารทั้งสองด้วยเทคนิคโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (^1H NMR), คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์ (^{13}C NMR), Dept 90 NMR, Dept 135 NMR และ GC-MS (Gas chromatography mass spectrometry)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

พืชสมุนไพรที่นำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปสมีจำนวน 16 ชนิด (ตารางที่ 2) ซึ่งทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบเอทานอลและน้ำของพืชสมุนไพร โดยใช้สารละลายพาราโนโทรฟีนอลที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพาราโนโทรฟีนิลปาล์มิตเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการทำงานของไลเปส โดยความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบพืชสมุนไพรที่ทดสอบคือ 25 mg/mL พบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ดี ได้แก่ ส่วนสกัดหยาบเอทานอลของตะไคร้ เหง้าขมิ้น เมล็ดพริกไทยดำ และผลมะเขือพวง ซึ่งมีฤทธิ์การยับยั้งเท่ากับ $77\pm2\%$, $75\pm1\%$, $76\pm2\%$ และ $87\pm9\%$ ตามลำดับ สำหรับส่วนสกัดหยาบน้ำของพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งสูง ได้แก่ เหง้ากระชาย ใบทองพันชั่ง ผลพุทราจีน ผลส้มแขก เหง้าข่า ฐานรองดอกกระเจี๊ยบแดง และใบสะระแหน่ ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $71\pm5\%$, $76\pm1\%$, $77\pm10\%$, $77\pm7\%$, $88\pm1\%$, $91\pm1\%$ และ $92\pm2\%$ ตามลำดับ ผู้วิจัยได้เลือกผลมะเขือพวงในการทำงานวิจัยขั้นต่อไป

ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสของผลมะเขือพวง

1) ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสของส่วนสกัดหยาบของผลมะเขือพวง

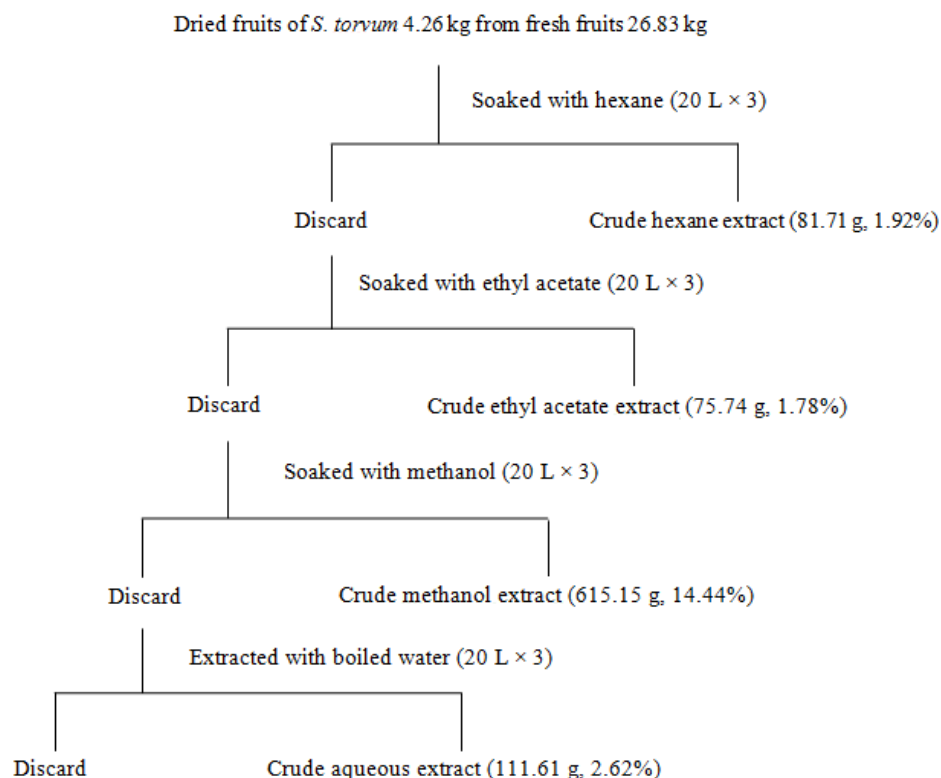
สกัดผลมะเขือพวงด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลแอซิเตต เมทานอล และน้ำ ตามลำดับ (รูปที่ 4) และนำส่วนสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไลเปส (ตารางที่ 3) พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลแอซิเตต มีฤทธิ์การยับยั้งไลเปสดีที่สุด ซึ่งมีค่าการยับยั้งเท่ากับ $67\pm3\%$ รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบเฮกเซนมีค่าการยับยั้งเท่ากับ $46\pm6\%$ ส่วนสกัดหยาบเมทานอลและน้ำมีฤทธิ์การยับยั้งที่น้อยมาก คือ $16\pm1\%$ และ $8\pm2\%$ ตามลำดับ ดังนั้นส่วนสกัดหยาบเฮกเซนและเอทิลแอซิเตตน่าจะมีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย จึงนำมาแยกต่อเพื่อหาสารบริสุทธิ์

ตารางที่ 2ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบเอทานอลและส่วนสกัดหยาบน้ำของพืชสมุนไพร

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ส่วนของพืชที่ใช้	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	
			ส่วนสกัดหยาบเอทานอล	ส่วนสกัดหยาบน้ำ
<i>Abelmoschus esculentus</i> Linn.	กระเจี๊ยบเขียว	ผล	56±2	32±10
<i>Allium sativum</i> Linn.	กระเทียม	หัว	56±2	52±1
<i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd.	ข่า	เหง้า	37±3	88±1
<i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf	กระชาย	เหง้า	na	71±5
<i>Carthamus tinctorius</i> Linn.	คำฝอย	ดอก	42±2	23±3
<i>Curcuma longa</i> Linn.	ขมิ้น	เหง้า	75±1	na
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	ตะไคร้	ลำต้น	71±2	4±1
<i>Garcinia atroviridis</i> Griff.	ส้มแขก	ผล	60±12	77±7
<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn.	กระเจี๊ยบแดง	ฐานรองดอก	na	91±1
<i>Metha cordifolia</i> Opiz.	สะระแหน่	ใบ	66±8	92±2
<i>Piper nigrum</i> Linn.	พริกไทยดำ	เมล็ด	76±2	24±10
<i>Rhinacanthus nasutus</i> (L.) Kurz.	ทองพันชั่ง	ใบ	31±3	76±1
<i>Senna alexandrina</i> (P.) Miller.	มะขามแขก	ใบ	62±12	68±8
<i>Solanum torvum</i> Swartz.	มะเขือพวง	ผล	87±9	7±1
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	ขิง	เหง้า	18±2	67±5
<i>Ziziphus mauritiana</i> Mill.	พุทราจีน	ผล	14±1	77±10
ออร์ลิสแทต* (Positive control)			93±2	

หมายเหตุ * หมายถึง ความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 1×10^{-5} mg/mL

na หมายถึง ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปส



ภาพที่ 4 การสกัดผลมะเขือพวง

ตารางที่ 3ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบของผลมะเขือพวง

ส่วนสกัดหยาบ	ลักษณะ	ปริมาณ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
เฮกเซน	ของแข็ง สีเขียว	81.7	46.0±6.7
เอทิลเอซิเทต	ยางเหนียว สีเขียวเข้ม	75.7	67.2±3.6
เมทานอล	ยางเหนียว สีน้ำตาลเข้ม	615.2	15.8±1.1
น้ำ	ของแข็ง สีน้ำตาลเข้ม	111.6	8.5±1.1
ออร์ลิสแทต*	93.6±1.1		

หมายเหตุ * หมายถึง ความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 1×10^{-5} mg/mL

2) การแยกส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของผลมะเขือพวงและฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

2.1) ส่วนสกัดหยาบเฮกเซนถูกแยกด้วยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ เฮกเซน เฮกเซน:เอทิลเอซิเทต (1:1 โดยปริมาตร) เอทิลเอซิเทต และเอทิลเอซิเทต:เมทานอล (4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้แฟรกชันรวม 4 ส่วน

(A-D) ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของสาร A-D (ตารางที่ 4) พบว่าสาร A-C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 48-50% และสาร D มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่ำที่สุด $11.7 \pm 5.7\%$

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบเฮกเซนที่แยกได้

ส่วนสกัดที่แยกได้	เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้	น้ำหนักสารที่แยกได้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
A	เฮกเซน	15.2	48.0±7.3
B	เฮกเซน:เอทิลเอซิเทต (1:1)	68.2	48.8±2.3
C	เอทิลเอซิเทต	0.8	50.3±6.1
D	เอทิลเอซิเทต:เมทานอล (4:1)	0.4	11.7±5.7
ออร์ลิสแทต*	93.6±1.1		

หมายเหตุ * หมายถึง ความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 1×10^{-5} mg/mL

2.2) แยกสาร B ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเอทิลเอซิเทต เอทิลเอซิเทต และสารละลายผสมเอทิลเอซิเทตและเมทานอล ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 8 แฟรกชัน (BA-BH) จากนั้นนำส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส (ตารางที่ 5)

2.3) แยกสาร BA ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเอทิลเอซิเทต และเอทิลเอซิเทต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 4 แฟรกชัน (BAA-BAD) จากนั้นนำส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส (ตารางที่ 5)

2.4) แยกสาร BAA ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 5 แฟรกชัน (BAAA-BAAE)

2.5) แยกสาร BAAA ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเฮกเซน เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 5 แฟรกชัน (BAAAA-BAAAE)

2.6) แยกสาร BAAAD ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 5 แฟรกชัน (BAAADA-BAAADE)

2.7) แยกสาร BB ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 5 แฟรกชัน (BBA-BBE) จากนั้นนำส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส (ตารางที่ 5)

2.8) แยกสาร BBC ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 4 แฟรกชัน (BBCA-BBCD)

2.9) แยกสาร BBCC ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน เอทิลเอซิเทต และสารละลายผสมเอทิลเอซิเทตและเมทานอล ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 7 แฟรกชัน (BBCCA-BBCCG)

2.10) แยกสาร BBCCD ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน และสารละลายผสมเฮกเซนและเอซิโทน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 7 แฟรกชัน (BBCCDA- BBCCDG)

2.11) แยกสาร BBCCDF ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (preparative thin layer chromatography) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซิเทต ได้สารบริสุทธิ์ของแ่งสีขาว **Hex 1** 37.6 มิลลิกรัม (0.0009% yield) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของสารที่แยกได้ เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $60.7 \pm 0.5\%$ ที่ความเข้มข้น 4 mg/ml (ตารางที่ 5) พร้อมทดสอบหาค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 82.56 mg/ml

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของสารสกัดหยาบเฮกเซนที่แยกได้

สารสกัดที่แยกได้	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
BA	92.3±2.4
BB	96.4±1.3
BC	94.1±6.9
BD	75.0±7.1
BE	65.9±2.3
BF	82.9±3.7
BG	70.8±6.8
BH	32.1±7.1
BAA	88.4±2.8
BAB	87.5±1.8
BAC	88.0±13.4
BAD	94.2±7.2
BBA	55.0±3.7
BBB	55.0±3.7
BBC	87.9±1.2
BBD	57.1±9.4
BBE	71.3±2.1
Hex 1	60.7±0.5

3) การแยกส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซิทของผลมะเจือพวงและฤทธิ์ยับยั้งไลเปส

3.1) ส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซิทถูกแยกด้วยเทคนิควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจล เป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่คือ เฮกเซน เฮกเซน:เอทิลเอซิท (1:1 โดยปริมาตร) เอทิลเอซิท และ เอทิลเอซิท:เมทานอล (9:1 และ 4:1 โดยปริมาตร) ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยก ได้ด้วยเทคนิคทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้แฟรกชันรวม 5 ส่วน (E-I) ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปสของสาร E-I (ตารางที่ 6) พบว่าสาร F และ G มี เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดี 82.8±8.2 และ 80.4±4.5% ตามลำดับ สาร H และ I มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งปานกลาง 67.9±5.2% และ 62.1±2.8% ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสาร E ต่ำที่สุด อยู่ที่ 38.1±14.9%

ตารางที่ 6ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซิทที่แยกได้

สารสกัดที่แยกได้	เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้	น้ำหนักสารที่แยกได้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
E	เฮกเซน	30.7	38.1±1.9
F	เฮกเซน:เอทิลเอซิท (1:1)	27.7	82.8±8.2
G	เอทิลเอซิท	6.7	80.4±4.5
H	เอทิลเอซิท:เมทานอล (9:1)	4.9	67.9±5.2
I	เอทิลเอซิท:เมทานอล (4:1)	3.9	62.1±2.8
ออร์ลิสเทต*	93.6±1.2		

หมายเหตุ * หมายถึง ความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 1×10^{-5} mg/mL

3.2) แยกสาร F ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซิท และเอทิลเอซิท ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 10 แฟรกชัน (FA-FJ) จากนั้นนำส่วนที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส (ตารางที่ 7)

3.3) แยกสาร FE ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและเอทิลเอซิท เอทิลเอซิท และสารละลายผสมเอทิลเอซิทและเมทานอล ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกันได้ทั้งหมด 10 แฟรกชัน (FEA-FEJ)

3.4) แยกสาร FEE ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน และสารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซิท และเอทิลเอซิท ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 3 แฟรกชัน (FEEA- FEEC)

3.5) แยกสาร FEEA ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน และสารละลายผสมเฮกเซนและเอซีโตน ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 4 แฟรกชัน (FEEAA- FEEAD)

3.6) แยกสาร FEEAC ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน สารละลายผสมเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน และเอทิลเอซิท

ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ทั้งหมด 9 แฟรกชัน (FEEACA- FEEACD)

3.7) แยกสาร FEH และ FEI ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเอทิลเอซิเตต และเอทิลเอซิเตต ตามลำดับ ตรวจสอบองค์ประกอบของแฟรกชันที่แยกได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และรวมแฟรกชันที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารบริสุทธิ์ของแข็งสีครีม **EA1** 23.1 มิลลิกรัม และนำสารนี้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไลเปส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $33.6 \pm 1.4\%$ ที่ความเข้มข้น 4 mg/ml (ตารางที่ 7) พร้อมทดสอบหาค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 91.98 mg/ml

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสของสารสกัดหยาบเอทิลเอซิเตตที่แยกได้

สารสกัดที่แยกได้	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
FA	na
FB	49.3 ± 4.9
FC	54.6 ± 2.6
FD	66.7 ± 1.6
FE	77.4 ± 6.8
FF	23.6 ± 5.3
FG	6.1 ± 2.8
FH	54.2 ± 7.3
FI	68.8 ± 6.3
FJ	70.2 ± 8.5
EA 1	33.6 ± 1.4

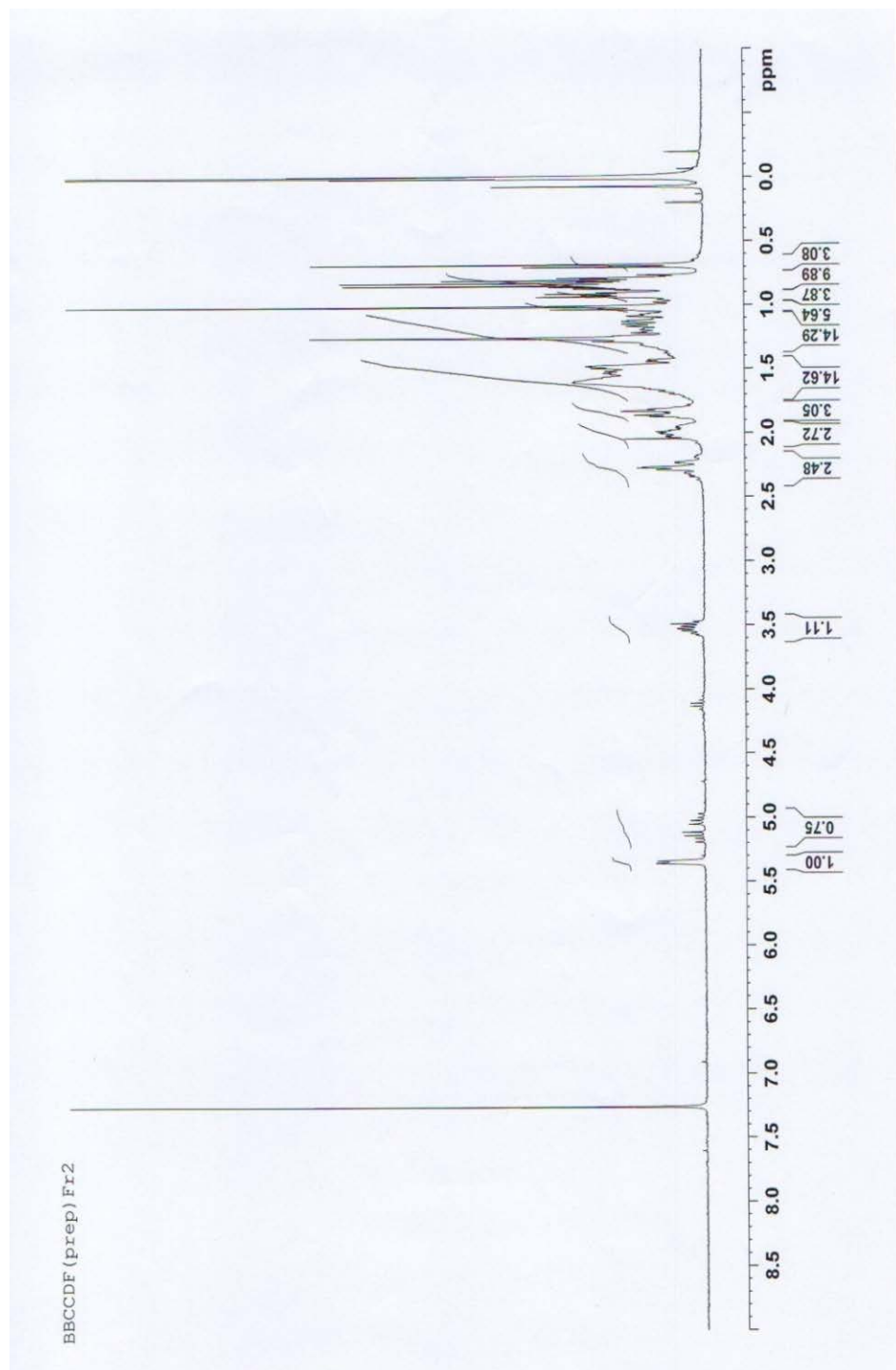
หมายเหตุ * na หมายถึง no activity

4) การพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร Hex 1 และ EA 1

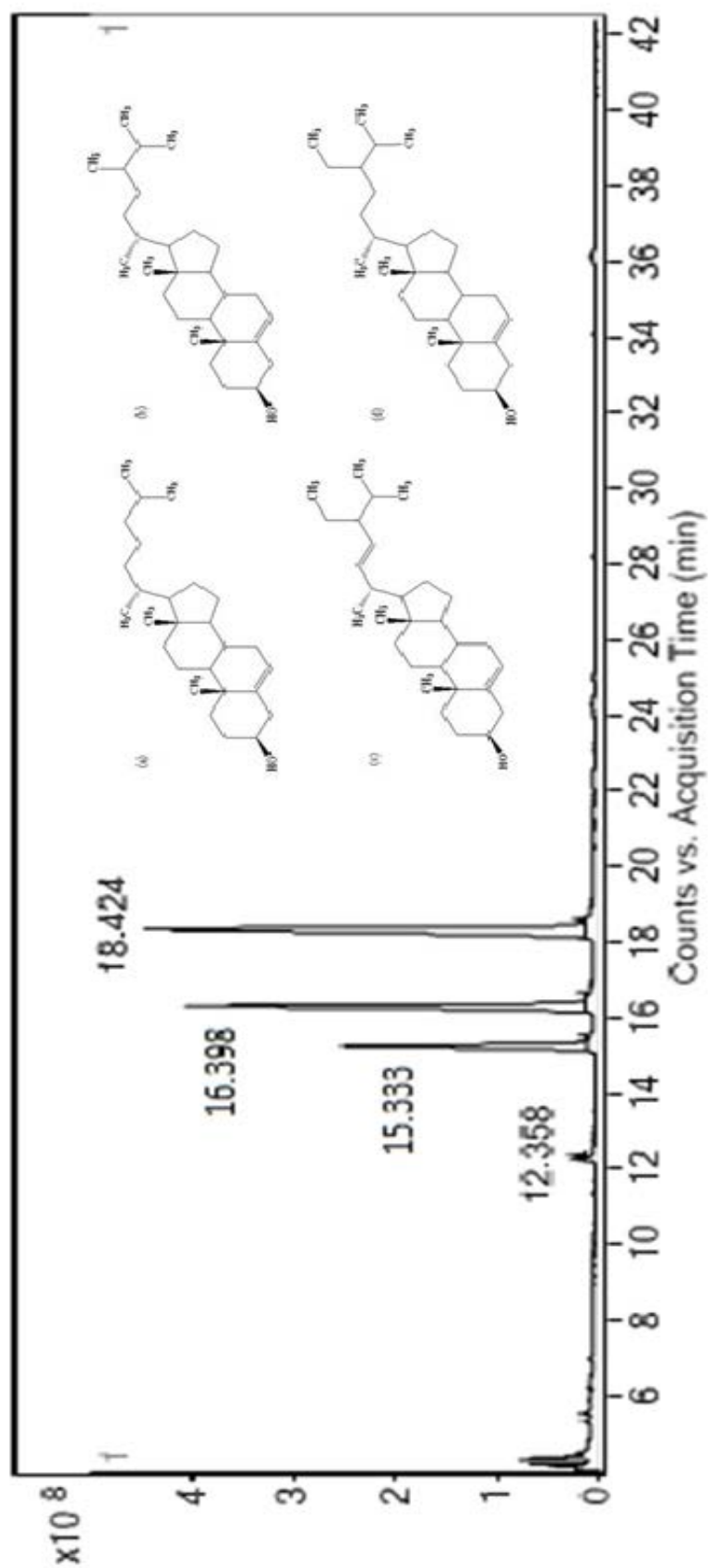
4.1) สาร Hex 1

ข้อมูลจากสเปกตรัมของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (1H NMR) (ภาพที่ 5) พบสัญญาณของ olefinic methine proton 3 ตำแหน่ง คือ δ 5.02 (dd, δ = 8.7, 8.4 Hz), 5.14 (dd, δ = 8.7, 8.4 Hz) และ 5.35 (d, δ = 5.1 Hz) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ระบุว่าเป็นหมู่ฟังก์ชันของพันธะคู่ของคาร์บอนอะตอม และสัญญาณของ carbonyl proton 1 ตำแหน่งคือ δ 3.53 (m) แสดงให้เห็นว่าสารนี้มีหมู่ฟังก์ชันแอลกอฮอล์ และจากข้อมูลของสเปกตรัม GC-MS (Gas chromatography mass spectrometry) พบองค์ประกอบที่ให้เวลาต่างกัน 4 ค่า คือ 12.358, 15.333, 16.398 และ 18.424 นาที (ภาพที่ 6) จากนั้นตรวจสอบโดยการเปรียบเทียบข้อมูลของ Wiley

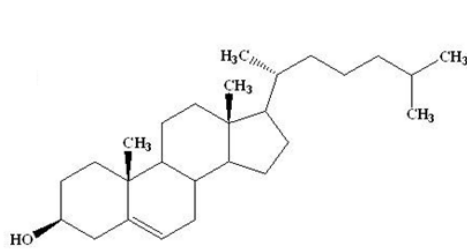
and Nist standard chart library พบว่าสาร **Hex 1** ประกอบด้วยสารประเภทสเตียรอยด์ 4 สาร คือ 17-(1,5-dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1*H*-cyclopenta[α]phenanthren-3-ol, campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol ในสัดส่วน 1.18%, 19.40%, 33.14% และ 46.29% ตามลำดับ สูตรโครงสร้างทั้งหมดแสดงดังภาพที่ 7



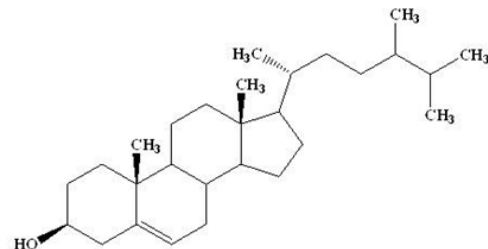
ภาพที่ 5 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (^1H NMR spectrum) ของสาร **Hex 1**



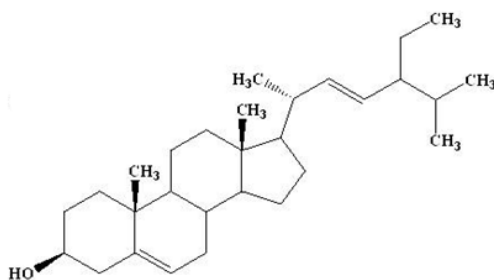
ภาพที่ 6 GC-MS สเปกตรัมของสาร Hex 1



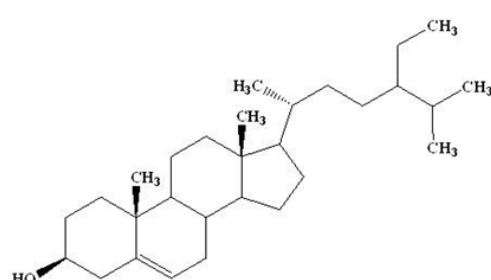
17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-
2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-
tetradecahydro-1*H*-cyclopenta[α]phenanthren-3-ol



Campesterol



β -Sitosterol



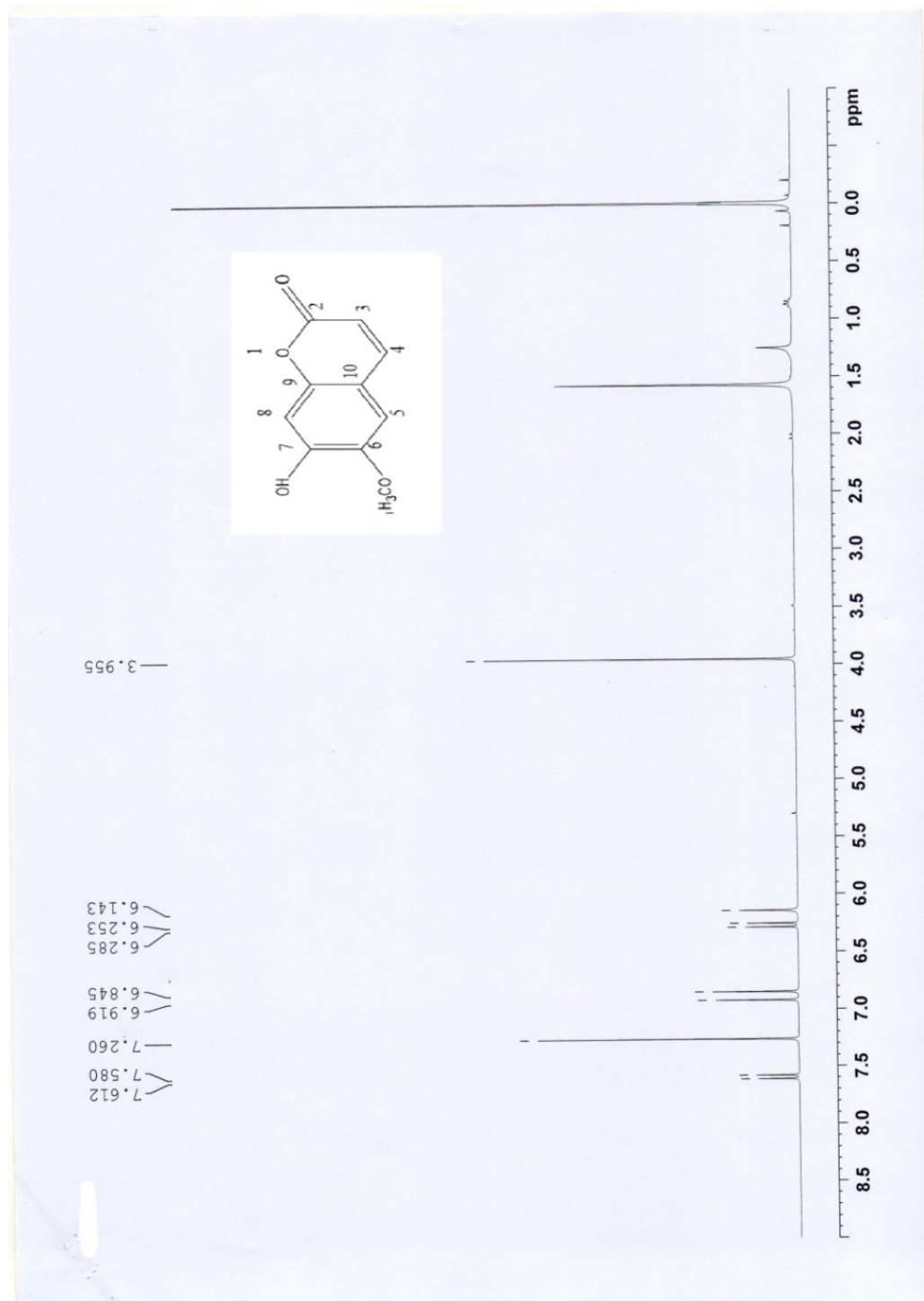
Stigmasterol

ภาพที่ 7 สูตรโครงสร้างของสาร **Hex 1**

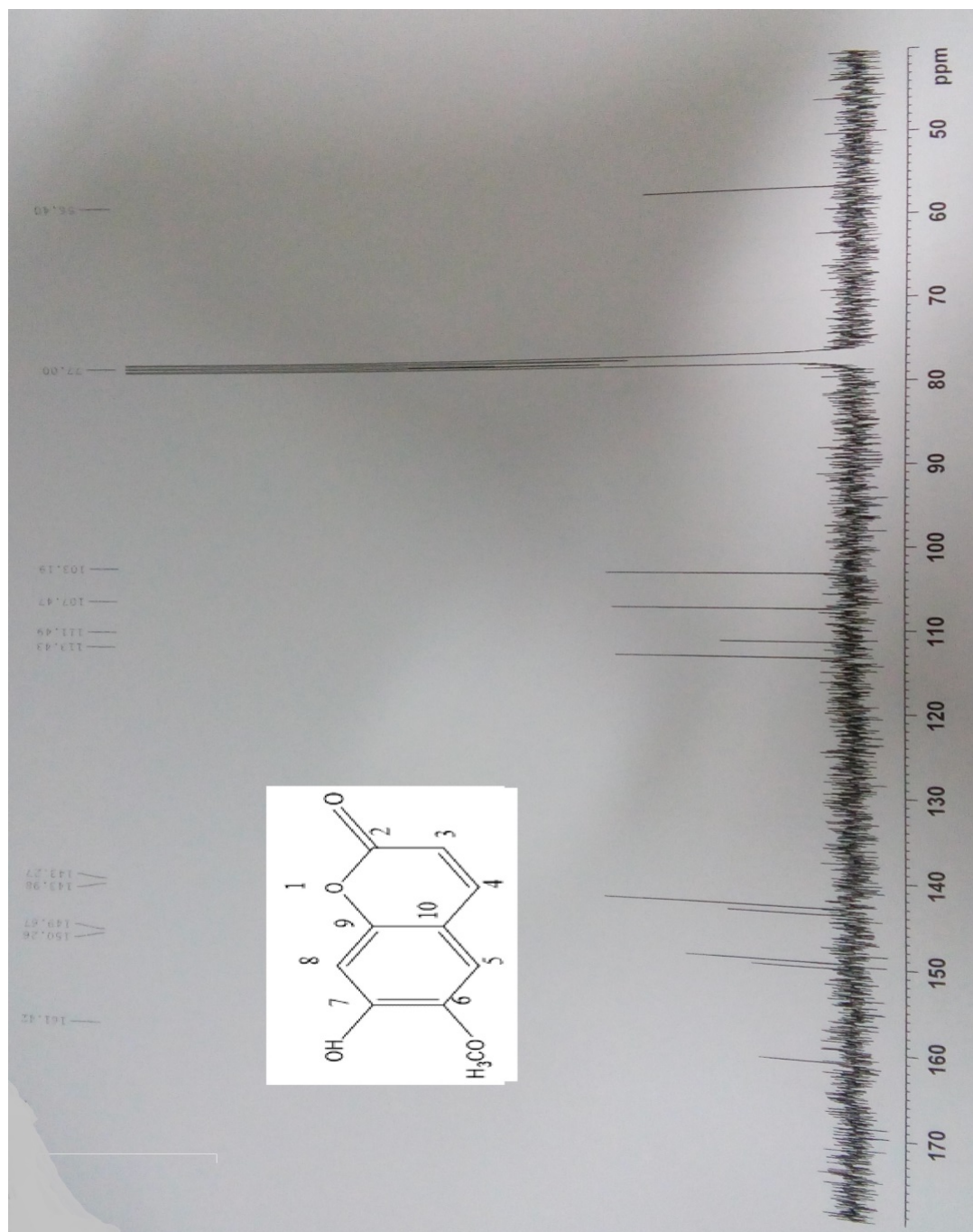
4.2) สาร **EA 1**

ข้อมูลจากสเปกตรัมของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (^1H NMR) (ภาพที่ 8) พบสัญญาณของ hydroxyl และ methoxyl proton ที่ตำแหน่ง δ 6.15 (s) และ 3.95 (s) ตามลำดับ คาร์บอนสเปกตรัมในภาพที่ 9 แสดงสัญญาณของคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะคู่ในอะตอม 2 ตำแหน่ง คือ δ 7.59 และ 6.26 ppm และสัญญาณของคาร์บอนอะตอมประเภท aromatic proton ที่ δ 6.92 และ 6.85 ppm และจากข้อมูลของคาร์บอนสเปกตรัมพบว่าสารนี้มีจำนวนคาร์บอนอะตอม 10 อะตอม โดยค่า δ 161.42 ppm แสดงลักษณะเฉพาะของ sp^2 carbon atom ของสารประกอบคูมาริน (coumarin compound) สัญญาณของค่า δ 56.40 ppm แสดงลักษณะเฉพาะของ sp^3 carbon atom ที่เกิดพันธะโดยตรงกับอะตอมของออกซิเจน ซึ่งอาจเป็น methoxy group ($\text{O}-\text{CH}_3$) นอกจากนี้ข้อมูลของสเปกตรัม DEPT90 (ภาพที่ 10) และ DEPT135 (ภาพที่ 11) พบว่าคาร์บอนอะตอมที่ให้ค่าสัญญาณ δ 103.19, 107.47, 113.43 และ 143.27 ppm คืออะตอมคาร์บอนประเภท sp^2 carbon $=\text{CH}-$ และค่าสัญญาณ δ 111.49, 143.98, 149.67 และ 150.26 ppm คืออะตอมคาร์บอนประเภท quaternary sp^2 carbon นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จาก HSQC (Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy) (ภาพที่ 12) และ HMBC (Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy) (ภาพที่ 13) ทำให้สามารถระบุตำแหน่งของ hydroxyl และ methoxyl carbon ได้ โดยดูจากความสัมพันธ์ของ C-6, C-7 และ C-8 ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 14 จากข้อมูลทั้งหมดทำให้สามารถระบุโครงสร้างทางเคมีของสาร **EA 1** ดังแสดง

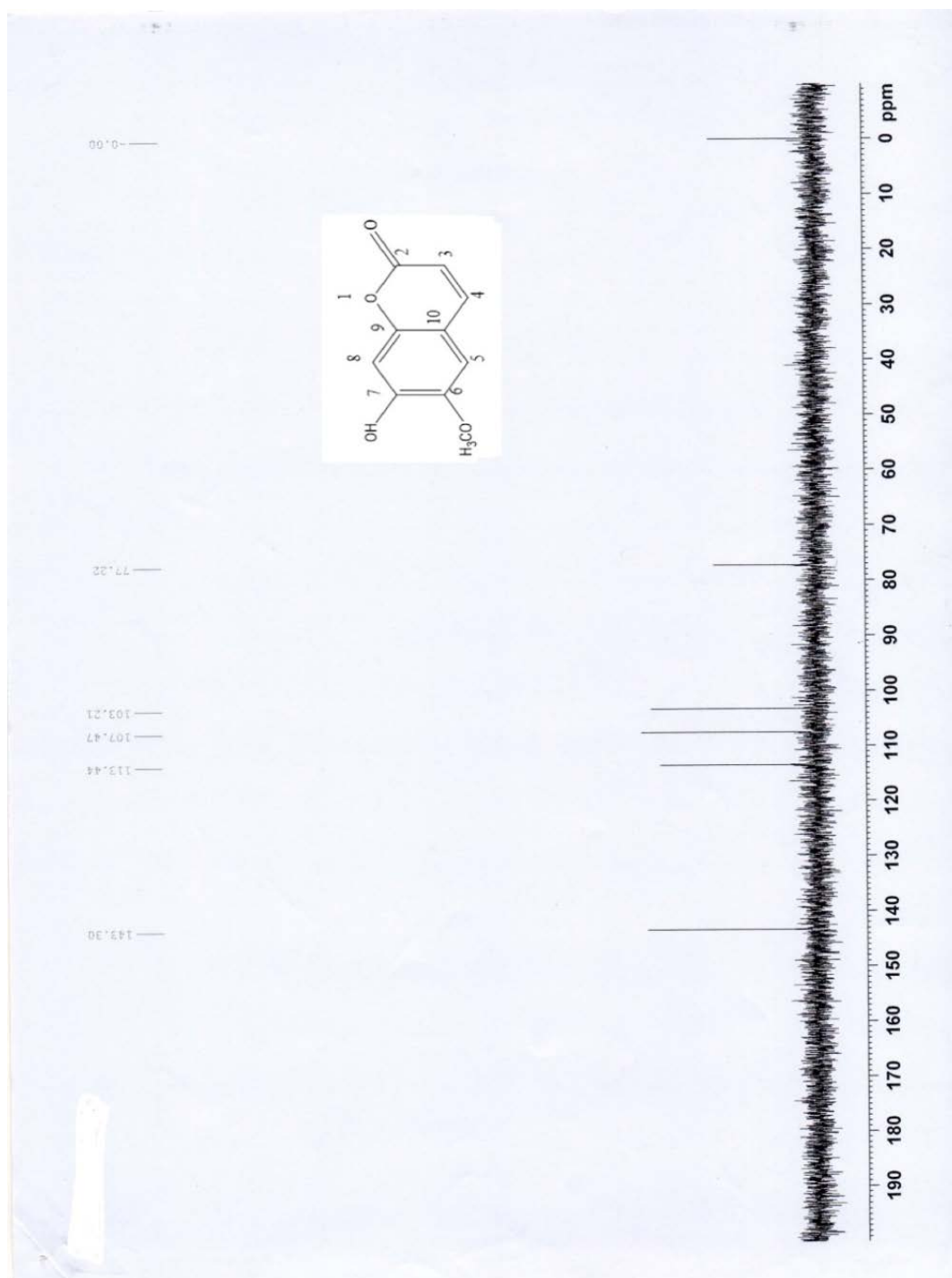
ในภาพที่ 15 ซึ่งมีชื่อเรียกว่า 7-hydroxy-6-methoxycoumarin หรือ scopoletin สารนี้สามารถแยกได้จากพืชหลายชนิด เช่น *Saussure aeopygmae*, *Morinda officinalis* and *Coriarian epalensis* เป็นต้น ซึ่งมีรายงานพบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร scopoletin นี้ เช่น hepatoprotective activity, antipyretic, hypothermic และ anti-inflammatory activities



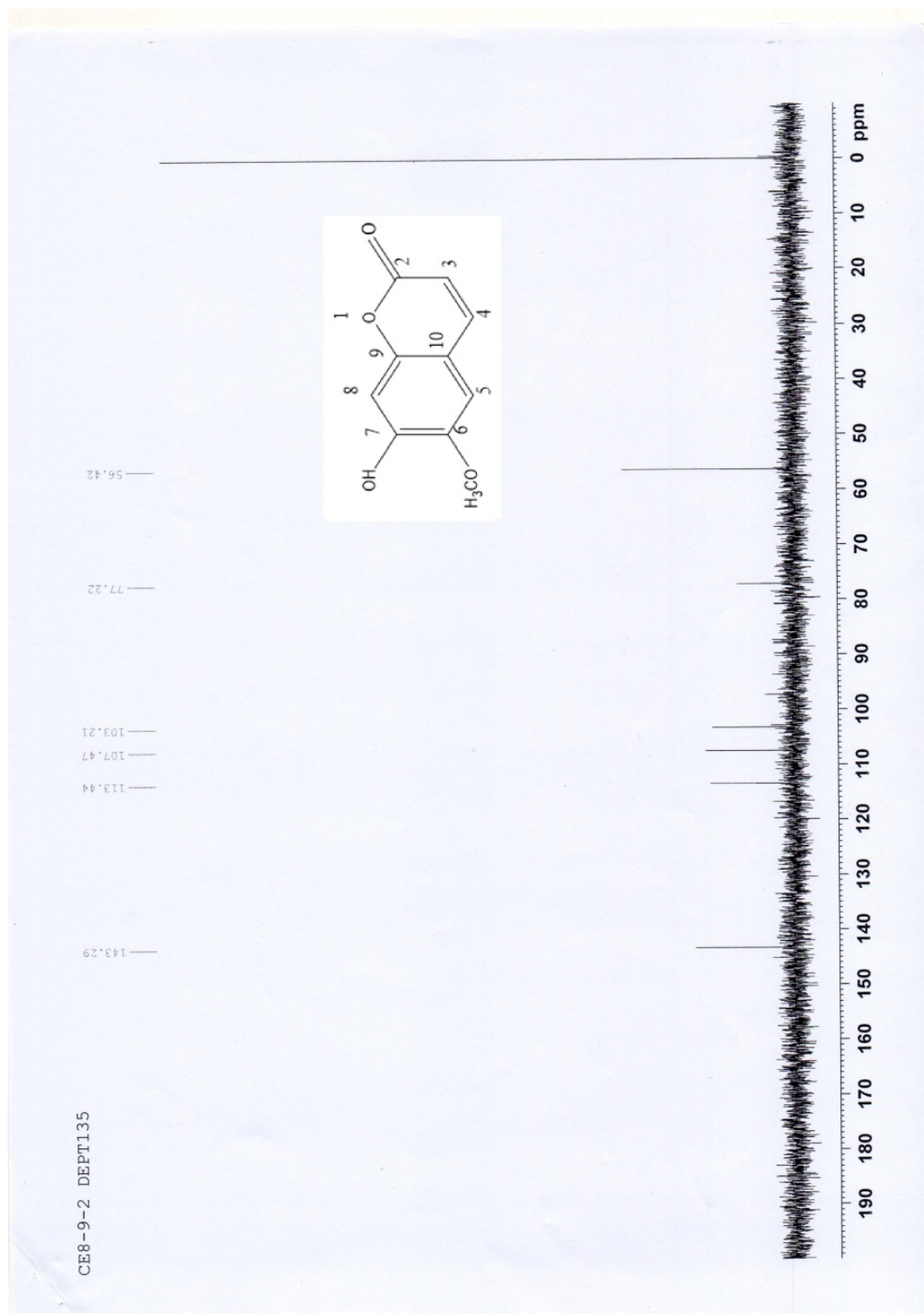
ภาพที่ 8 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร EA 1



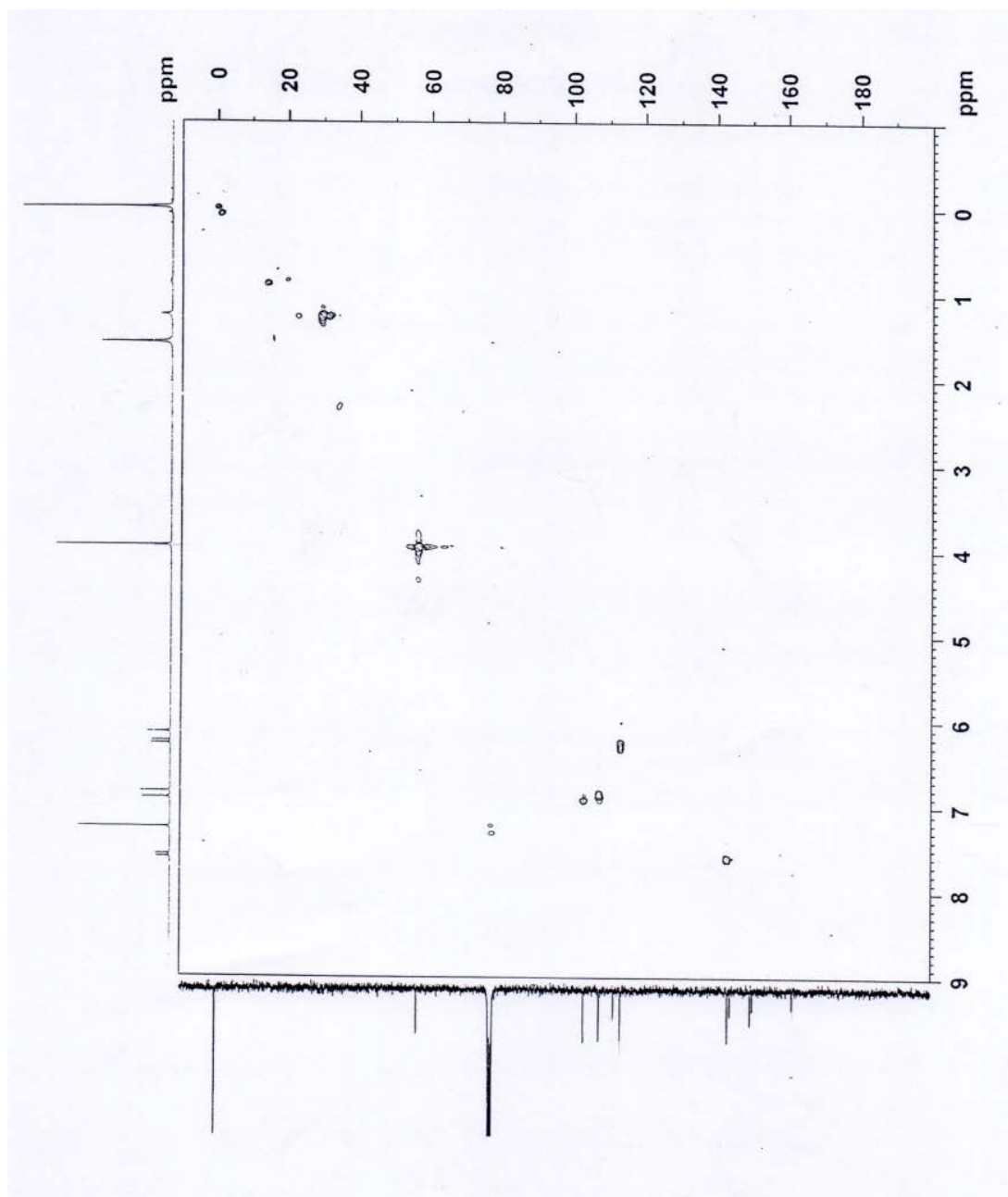
ภาพที่ 9 คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร EA 1



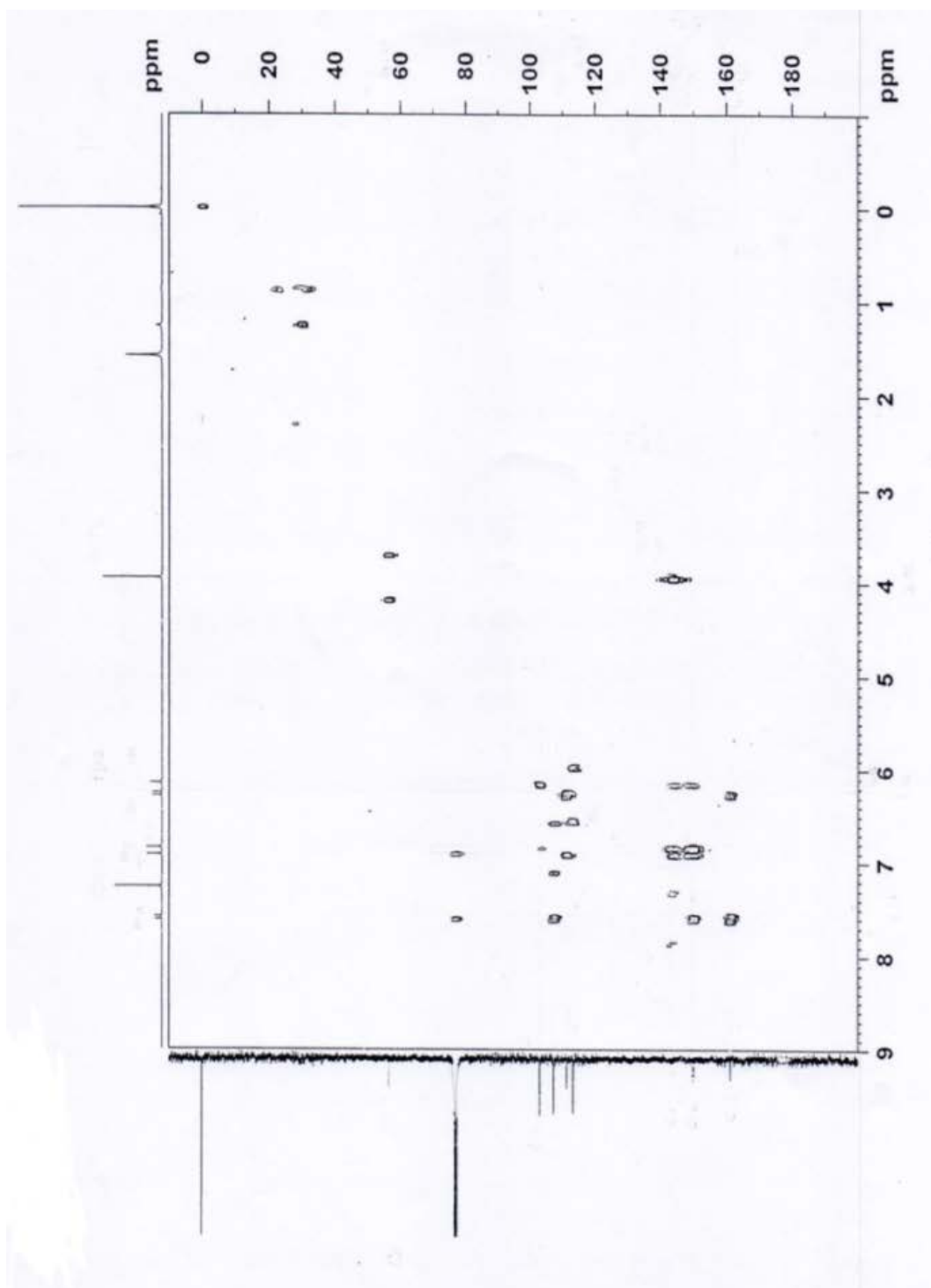
ภาพที่ 10 Dept 90 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร EA 1



ภาพที่ 11 DEPT 135 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร EA 1



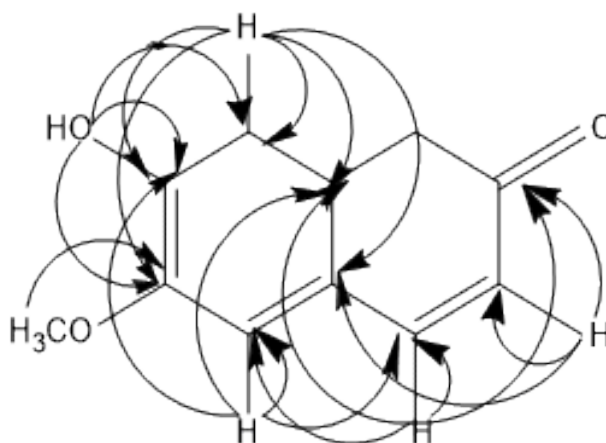
ภาพที่ 12 HSQC เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร EA 1



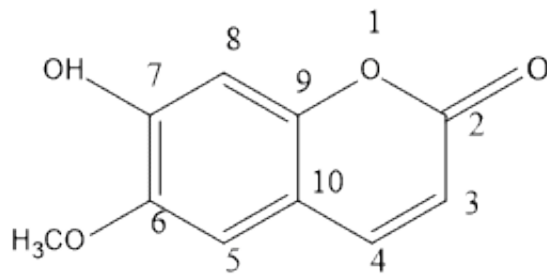
ภาพที่ 13 HMBC เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร EA 1

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่าง ^1H -NMR, ^{13}C -NMR และ HMBC correlation ของสาร **EA1**

Position	δ_{H} mult. (J Hz)	δ_{C}	HMBC Correlations
1	-	-	-
2	-	161.42	-
3	6.26 d (9.6 Hz)	113.43	C-2, C-10
4	7.59 d (9.6 HZ)	143.27	C-2, C-5, C-9
5	6.85 s	107.47	C-4, C-7, C-9
6	-	143.98	-
7	-	149.67	-
8	6.92 s	103.19	C-6, C-7, C-9, C-10
9	-	150.26	-
10	-	111.49	-
OH	6.15 s	-	C-6, C-7, C-8
OCH ₃	3.95 s	56.40	C-6



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์แบบ HSQC และ HMBC Correlations ของสาร **EA1**



ภาพที่ 15 สูตรโครงสร้างของสาร **EA1** (7-Hydroxy-6-methoxycoumarin หรือ scopoletin)

สรุปและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในขั้นต่อไป

งานวิจัยนี้สามารถคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปส ได้แก่ ส่วนสกัดหยาบเอทานอลของ ตะไคร้ เหง้าขมิ้น เมล็ดพริกไทยดำ และผลมะเขือพวง ซึ่งมีฤทธิ์การยับยั้งเท่ากับ $77\pm2\%$, $75\pm1\%$, $76\pm2\%$ และ $87\pm9\%$ ตามลำดับ สำหรับส่วนสกัดหยาบน้ำของพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ได้แก่ เหง้ากระชาย ใบทองพันชั่ง ผลพุทราจีน ผลส้มแขก เหง้าข่า รากรองดอกกระเจี๊ยบแดง และใบสาระแหน่ ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $71\pm5\%$, $76\pm1\%$, $77\pm10\%$, $77\pm7\%$, $88\pm1\%$, $91\pm1\%$ และ $92\pm2\%$ ตามลำดับ และผู้วิจัยได้เลือกผลมะเขือพวง เพื่อแยกสารยับยั้งไลเปสในขั้นต่อไป พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซิทेटมีฤทธิ์การยับยั้งไลเปสดีกว่าส่วน สกัดหยาบส่วนอื่นๆ ของผลมะเขือพวง มีค่าการยับยั้งเท่ากับ $67.2\pm3.6\%$ รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบเฮก เซนมีค่าการยับยั้งเท่ากับ $46.0\pm6.7\%$ ส่วนสกัดหยาบเมทานอลและน้ำมีฤทธิ์การยับยั้งต่ำ ดังนั้นส่วนสกัด หยาบเฮกเซนและเอทิลเอซิทेटน่าจะมีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสเป็นองค์ประกอบอยู่ ผล จากการแยกส่วนสกัดหยาบเฮกเซนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีและทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟีเชิง ป ร ิ ม า ณ พ บ ส า ร ส เติ ย ร อ ย ค์ 4 ข น ิ ด คื อ 17-(1,5-dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[α]phenanthren-3-ol, campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol ในสัดส่วน 1.18%, 19.40%, 33.14% และ 46.29% ตามลำดับ โดยสารผสมนี้มี ฤทธิ์ยับยั้งไลเปสต่ำ มีค่าเท่ากับ $60.67 \pm 0.53\%$ ที่ความเข้มข้น 4.00 mg/ml และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 82.56 mg/ml และส่วนสกัดหยาบเอทิลเอซิทेटที่แยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีพบสารประกอบคูมาริน คือ 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin) มีฤทธิ์ยับยั้งไลเปสต่ำเช่นกัน มีค่าเท่ากับ $60.67 \pm 0.53\%$ ที่ ความเข้มข้น 4.00 mg/ml และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 91.98 mg/ml

องค์ประกอบของผลมะเขือพวงที่แยกได้จากงานวิจัยนี้ทั้งสาร **Hex 1** และ **EA 1** มีค่าการยับยั้งไล เปสที่ต่ำ แต่ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากการคัดกรองเบื้องต้นมีค่าสูง ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งไล เปสอยู่ในส่วนสกัดหยาบเฮกเซนและเอทิลเอซิทेटเฟรกชันอื่นที่ยังไม่ได้ถูกแยก ซึ่งหากทดลองแยก ต่อไปในอนาคตอาจพบสารองค์ประกอบที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งไลเปสที่ดี และนอกจากนี้พืชสมุนไพรชนิด อื่นๆ เช่น ตะไคร้ เหง้าขมิ้น เมล็ดพริกไทยดำ เหง้ากระชาย ใบทองพันชั่ง ผลพุทราจีน ผลส้มแขก เหง้าข่า รากรองดอกกระเจี๊ยบแดง และใบสาระแหน่ ที่แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไลเปสที่ดีในขั้นตอนการคัด กรองก็เป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจและน่าศึกษาหาองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไลเปสต่อไป

บรรณานุกรม

- มูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา. โภชนาการและคุณค่าผักพื้นบ้านอาหารต้านโรค ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย มูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา 2548.
- เมฆ จันทน์ประยูร. ผักพื้นบ้าน เคล็ดลับของคนอายุยืน 2541.
- Barbier P, Schneider F. Syntheses of tetrahydrolipstatin and absolute configuration of tetrahydrolipstatin and lipstatin. *Helv Chim Acta*. 1987; **70**: 196–202.
- Delporte C, Backhouse N, Negrete R, Salinas P, Rivas P, Cassels B, et al. Antipyretic, hypothermic and antiinflammatory activities and metabolites from *Solanum ligustrinum* Lood. *Phytotherapy Research*. 1998; **12**(2): 118-122.
- Gargouri Y, Julien R, Sugihara A, Verger R, Sarda L. Inhibition of pancreatic and microbial lipases by proteins. *Biochem Biophys Acta*. 1984; **795**: 326-331.
- Hadvay P, Lengsfeld H, Wolfer H. Inhibition of pancreatic lipase in vitro by covalent inhibitor tetrahydrolipstatin. *Biochem J* 1988; **256**: 357-361.
- Han LK, Kimura Y, Kawashima M, Takaku T, Taniyama T, Hayashi T, Zheng YN, Okuda H. Antiobesity effects in rodents of dietary tea saponin, a lipase inhibitor. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; **25**: 1459-1464.
- Hatano T, Yamashita A, Hashimoto T, Ito H, Kubo N, Yoshiyama M, Shimura S, Itoh Y, Okuda T, Yoshida T. Flavandimmers with lipase inhibitory activity from *Cassia nomame*. *Phytochemistry* 1997; **46**: 893-900.
- He Q, Lv Y, Yao K. Effects of tea polyphenols on the activities of α -amylase, pepsin, trypsin and lipase. *Food Chem* 2006; **101**: 1178-1182.
- Hochuli E, Kupfer E, Maurer R, Meister W, Mercadal Y, Schmidt K. Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase, produced by *Streptomyces toxytricini*. II. Chemistry and structure elucidation. *J Antibiot* 1987; **40**: 1086-1091.
- Kang SY, Sung SH, Park JH, Kim YC. Hepatoprotective activity of scopoletin, a constituent of *Solanum Lyratum*. *Archives of pharmacal research*. 1998; **21**(6): 718-722.
- Moreno DA, Ilic N, Poulev A, Brasaemle DL, Fried SK, Raskin I. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition* 2003; **19**: 876-879.
- Satouchi K, Hirano K, Fujino O, Ikoma M, Tanaka T, Kitamura K. Lipoxxygenase-1 from soybean seed inhibiting the activity of pancreatic lipase. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998; **62**: 1498-1503.
- Sharma N, Sharma VK, Seo SY. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *Journal of Ethnopharmacol* 2005; **97**: 453-456.

Shen YH, Li SH, Han QB, Li RT, Sun HD. Coumarins from *Coriaria nepalensis*. *Journal of Asian natural products research*. 2006; **8**(4): 345-350.

Slanc P, Doljak B, Mlinaric A, Strukelj B. Screening of wood damaging fungi and macrofungi for inhibitors of pancreatic lipase. *Phytother Res* 2004; **18**: 758-762.

Tani H, Ohishi H, Watanabe K. Wheat flour lipase inhibitor decrease serum lipid levels in male rats. *J Nutr Vitaminol* 1995; **41**: 699-706.

Weibel EK, Hadvary P, Hochuli E, Kupfer E, Lengsfeld H. Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase, produced by *Streptomyces toxytricini*. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity. *J Antibiot* 1987; **40**: 1081-1085.

Xu BJ, Han LK, Zheng YN, Lee JH, Sung CK. *In vitro* inhibitory effect of triterpenoidal saponins from *Platycodi radix* on pancreatic lipase. *Arch Pharm Res* 2005; **28**: 180-185.

Zhang BB, Yuan D, Zhi XL. Chemical constituents of *Saussurea eopygmaea*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2011; **9**(1): 33-37.

Zhang HI, Zhang QW, Zhang XG, Ye W, Wang Y. Chemical constituents from the root of *Morinda officinalis*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2010; **8**: 192-195.

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) อาจารย์ ดร. จรรยา ชัยเจริญพงศ์
ชื่อ – นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Chanya Chaicharoenpong, Ph.D.
2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2102 00084 76 6
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาคารสถาบัน 3 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02-2188073 โทรสาร 02-2533543

E-mail Chanya.C@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2546 Ph.D. (Fundamental Science and Technology) Keio University ประเทศญี่ปุ่น

พ.ศ. 2540 วท. ม. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2537 วท. บ. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, การสังเคราะห์สารอินทรีย์

7. ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1) Kijprayoon S., Tolieng V., Petsom A. and Chaicharoenpong C. (2014). Molluscicidal activity of *Camellia oleifera* seed meal. *ScienceAsia*. 40(6), 393-399.

2) Mkhize S., Suzuki N., Kurosawa A., Fujinami M., Chaicharoenpong C. and Ishikawa T. New synthetic procedure for 2-aryl-1,4-naphthoquinone-1-oxime methyl ethers with potent anti-tumor activity. *Synlett*. 2014; 25, 2059-2063.

3) Chanmee W., Chaicharoenpong C. and Petsom A. Lipase inhibitor from fruits of *Solanum stramonifolium* Jacq. *Food and Nutrition Sciences*. 2013; 4, 554-558.

4) Techapremreecha S., Khongchareonporn N., Chaicharoenpong C., Aranyakananda P., Chunhabundit S. and Petsom A. Nutritional composition of farmed and wild sandworms, *Perinereis nuntia*. *Animal Feed Science and Technology*. 2011; 169, 265-269.

5) Chaicharoenpong C. and Petsom A. Quantitative thin layer chromatographic analysis of saponins in tea seed meal. *Phytochem Anal*. 2009; 20, 253-255.

- 6) Chaicharoenpong C., Kato K. and Umezawa K. Preparation of radioactively labeled dehydroxymethylepoxyquinomicin, an NF- κ B function inhibitor. *Drugs Exp Clin Res.* 2003; 29, 1-3.
- 7) Chaicharoenpong C., Kato K. and Umezawa K. Synthesis and structure-activity relationship of dehydroxymethylepoxyquinomicin analogues as inhibitors of NF- κ B functions. *Bioorg Med Chem* 2002; 10: 3933-3939.
- 8) Umezawa K. and Chaicharoenpong C. Molecular design and biological activities of NF- κ B inhibitors. *Mol Cells* 2002; 14: 163-167.
- 9) Saito Y., Nakamura M., Ohno T., Chaicharoenpong C., Ichikawa E., Yamamura S., Kato K. and Umezawa K. Synthesis of sugar-modified derivatives of the unusual nucleoside oxanosine and its carbocyclic analogs as potential inhibitors of HIV. *J Chem Soc Perk T 1* 2001; 298-304.
- 10) Saito Y., Nakamura M., Ohno T., Chaicharoenpong C., Ichikawa E., Yamamura S., Kato K. and Umezawa K. Synthesis of oxanosine and carbocyclic oxanosine derivatives as anti-HIV agent. *J Antibiot.* 2000; 53, 309-13.
- 11) Saito, Y., Chaicharoenpong, C., Ohno, O., Ichikawa, E., Yamamura, S., Kato, K., Nakamura, M., Ohno, T. and Umezawa, K. Synthesis and anti-HIV activity of unusual nucleoside oxanosine derivatives. *Nucleic Acids Symp Ser.* 1999; 42, 19-20.