

รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

(ภาษาไทย)...การแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในพื้นที่ของ
โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้ง
การสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ ปีที่ 2

(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 (year 2)

ผู้ดำเนินงาน

รองศาสตราจารย์ ดร. สุรัตนา อำนวยผล

ชื่อหน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

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

บทคัดย่อ

จากการนำสารสกัดพืชสมุนไพรจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ที่มีฤทธิ์ดีในการยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ ได้คัดเลือกใบพลองใบรี นำมาสกัดแยกสารด้วยวิธี Bioassay guided fractionation สามารถแยกสารได้ 1 สาร คือ สาร NP จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารทั้งสอง พบว่า คือ 2-(3',5'-dihydroxy-4'-methoxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-chromen-4-one หรือ mearnsetin โดยเทียบกับข้อมูล ¹H-NMR และ ¹³C-NMR spectra ของสารที่ได้รายงานมาแล้ว จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ พบว่า mearnsetin มีร้อยละของการยับยั้งการสร้าง AGE เป็น 75.62 และร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา กลูโคซิเดสเป็น 90.47

คำสำคัญ การสกัดแยกสาร, ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์, ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา กลูโคซิเดส, Bioassay guided fractionation, พื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

Abstract

Memecylon plebejum Kurz. var. *ellipsoideum* Craib Family Melastomataceae was selected for extraction and isolation by using bioassay guided fractionation, NP, was isolated. Structure elucidation of this compound, using ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectral data compare to the previous reports, show that NP is 2-(3',5'-dihydroxy-4'-methoxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy chromen-4-one or mearnsetin. The percent inhibition of advanced glycation end product formation and percent inhibition of α -glucosidase activity of mearnsetin is 75.62 and 90.47, respectively.

Keyword: screening, extraction, isolation, advanced glycation end product formation, α -glucosidase activity, 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
แอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีน

กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	iii
สารบัญเรื่อง.....	iv
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ และสารบัญแผนภาพ.....	v
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	vi
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	1
วัตถุประสงค์	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา.....	5
ผลการศึกษา	6
สรุปและวิจารณ์ผล.....	20
เอกสารอ้างอิง.....	22

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	แสดงข้อมูลการแยกสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทด้วยวิธี QUICK CC.....	8
ตารางที่ 2	แสดงข้อมูลการแยกสารสกัดส่วน F1 ด้วยวิธี FLASH COLUMN CHROMATOGRAPHY	10
ตารางที่ 3	แสดงข้อมูลการแยกสารสกัดส่วน F2 ด้วยวิธี FLASH COLUMN CHROMATOGRAPHY	11

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

ตารางที่ 4	แสดงข้อมูลการแยกสารสกัดส่วน F2.5.....	13
ตารางที่ 5	แสดงข้อมูลการแยกสารสกัดส่วน F3.....	14
ตารางที่ 6	แสดง น้ำหนักรวม ของสาร NP	15
ตารางที่ 7	แสดงข้อมูล ^{13}C และ ^1H SPECTRA ของสาร NP ใน DMSO (^{13}C : 75 MHz ^1H : 300 MHz, δ PPM, J Hz)เทียบกับสาร MEARNSETIN ใน CD_3OD (^{13}C : 125 MHz ^1H : 500 MHz, δ PPM, J Hz).....	19
ตารางที่ 8	ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีนของสารที่แยกได้จากสารสกัดพืช	21

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1	TLC แสดงการแยกสารจาก ETOAc EXT. ด้วยวิธี QUICK COLUMN CHROMATOGRAPHY	9
รูปที่ 2	TLC แสดงการแยกสารจาก F1 ด้วยวิธี COLUMN CHROMATOGRAPHY	10
รูปที่ 3	TLC แสดงการแยกสารจาก F2 ด้วยวิธี COLUMN CHROMATOGRAPHY	12
รูปที่ 4	TLC แสดงการแยกสารจาก F2.5 ด้วยวิธี COLUMN CHROMATOGRAPHY	13
รูปที่ 5	TLC แสดงการแยกสารจาก F3 ด้วยวิธี COLUMN CHROMATOGRAPHY	15
รูปที่ 6	แสดงโครงสร้าง MEARNSETIN	17
รูปที่ 7	^1H NMR SPECTRA ของสาร NP	18
รูปที่ 8	^{13}C NMR SPECTRA ของสาร NP	18

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1	การสกัดสารสกัดหยาบจากใบพลองใบรี และการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการสร้างสาร AGEs และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส.....	7
แผนภูมิที่ 2	การแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากใบพลองใบรี.....	16

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