รายงานผลการดำเนินงาน
ปีงบประมาณ 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การหาจลนพลศาสตร์ในการยับยั้งเมตาบอลึซึมของไขมันโดยสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

ผู้รับผิดชอบโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภญ. ทักษิณา ชวนอาษา

รายงานวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การหาจลนพลศาสตร์ในการยับยั้งเมตาบอลิซึมของไขมันโดยสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

Kinetics of lipid metabolism inhibitory activities by the chemical isolated from a medicinal plant in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn Samaesan Island Chonburi

โดย

ผศ. ภญ. ดร.ทักษิณา ชวนอาษา

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา และ การไฟฟ้าฝ่ายผลิต ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ และขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

ในการศึกษาวิจัยนี้ได้ใช้สารสกัด hexane ของใบลำบิดดง (*Diospyros filipendula*) ที่เก็บได้ในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพสธ.) บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี การที่ศึกษาผ่านมาพบว่าสาร uvaol ที่แยกได้จากสารสกัดชั้น ethylacetate มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส แต่สารมีความไม่คงตัวภายใต้การเก็บในห้องปฏิบัติการ จึงทำให้การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเมื่อมี uvaol ร่วมอยู่ในปฏิกิริยาไม่สำเร็จ อย่างไรก็ดี uvaol ถูกตรวจพบในสารสกัดชั้น hexane ด้วย และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอกติกไลเปสมีค่าสูงคือ 94.95 ± 2.92% ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 1 mg/mL IC50 คือ 0.24 mg/mL จากการศึกษาจลนศาสตร์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสโดยพิจารณาจาก Lineweaver-Burk plot analysis พบว่าสารสกัด hexane นี้ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบ non-competitive inhibition ภายใต้สภาวะควบคุม Km ของเอนไซม์คือ 808.09 μM และ Vmax คือ 23.53 μM min^{-1} ส่วน Vmax ของเอนไซม์เมื่อมีสารสกัด hexane ของลำบิดดง อยู่ในปฏิกิริยา คือ 13.57 μM min^{-1} ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/mL และ 15.72 μM min^{-1} ที่ความเข้มข้น 0.25 mg/mL การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับในเรื่องการแยกสารสำคัญในสารสกัด hexane นี้ที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะช่วยให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาและการออกแบบยาต้านเมตาบอลิซึมของไขมันได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านแพนครีเอติกไลเปส จลนศาสตร์ เอนไซม์

Abstract

The research is to study kinetic of the pancreatic lipase enzyme in the presence of a hexane extract of Lum Bid Dong (*Diospyros filipendula*) leaves harvested from the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, Samae-San Island, Chonburi. The previous study showed that uvaol was isolated from ethyl acetate extracts of Lum Bid Dong and exhibited pancreatic lipase actiivity. This chemical was unstable under our storage condition leading to an unsuccessful kinetic study of the enzyme in the presence of uvaol. However this substance was also found in the hexane extract which presented 94.95 ± 2.92% pancreatic lipase inhibitory activity with 1 mg/mL final concentration. The IC50 value of this extract was 0.24 mg/mL. Kinetic study of the enzyme was performed in the presence of the hexane extract which showed non-competitive inhibition by Lineweaver-Burk plot analysis. Under a controlled condition, Km value for enzyme was 808.09 µM and Vmax was 23.53 µM min^{-1}. In the presence of the hexane extract, Vmax was 13.57 µM min^{-1} and 15.72 µM with 0.5 and 0.25 mg/mL final concentration, respectively. Further isolatation is required to determine active compounds essentially responsible for this activity. Obtained active substances will be informative for development and modeling of a new anti-lipid metabolism drug in the future.

Keywords: anti-pancreatic lipase activity, kinetic, enzyme

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	5
ผลการศึกษา	6
สรุปและวิจารณ์ผล	12
เอกสารอ้างอิง	14
ประวัตินักวิจัย	17

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ของ hexane extract ของลำบิดดง และ orlistat 7

ตารางที่ 2 จลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL 8

ตารางที่ 3 จลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี orlistat ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 μM 9

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงการเคลื่อนที่ของสาร uvaol, ethanolic crude extract และ hexane extract ของลำบิดดง บนแผ่น TLC 6

รูปที่ 2 กราฟแสดง %inhibiton ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้นต่างๆ ในปฏิกิริยา 6

รูปที่ 3 กราฟแสดง %inhibiton ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี orlistat ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในปฏิกิริยา 6

รูปที่ 4 กราฟของ Michaelis-Menten แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL 10

รูปที่ 5 กราฟของ Lineweaver-Burk แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL 10

รูปที่ 6 กราฟของ Michaelis-Mentenแสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วยorlistat ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 μM 11

รูปที่ 7 กราฟของ Lineweaver-Burk แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย orlistat ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 μM 11

การหาจลนพลศาสตร์ในการยับยั้งเมตาบอลิซึมของไขมันโดยสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

Kinetics of lipid metabolism inhibitory activities by the chemical isolated from a medicinal plant in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn Samaesan Island

ทักษิณา ชวนอาษา

Taksina Chuanasa

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ร่างกายของมนุษย์ต้องการไขมันในการดำรงชีวิต แต่ทั้งนี้ปริมาณที่บริโภคจะต้องสมดุลกับปริมาณที่จะถูกเผาผลาญเพื่อให้เกิดเป็นพลังงานที่ต้องการ หากเกิดภาวะไม่สมดุลขึ้นจะเกิดการสะสมไขมันขึ้นในร่างกายทั้งในระบบเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆ ในปัจจุบันมีผู้ป่วยโรคไขมันในเลือดสูงเป็นจำนวนมาก ซึ่งโรคไขมันในเลือดสูงนี้เป็นสาเหตุของโรคร้ายแรงอื่นๆอีกมากมาย ได้แก่ โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง เป็นต้น และจำนวนผู้ป่วยโรคไขมันโลหิตสูงมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น สาเหตุหนึ่งอาจมาจากการประทานอาหารจานด่วนที่มีปริมาณไขมันสูง และไขมันนั้นเข้าไปสะสมในร่างกายเป็นปริมาณมาก กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกตินี้คือ กระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมัน ซึ่งโดยปกติต้องการเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในรูปของกรดไขมันก่อน เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะนำเข้าสู่ mucosal ของ intestinal villi ในลำไส้เล็กได้ แล้วจึงดูดซึมกรดไขมันนั้นเข้าสู่กระแสเลือด

การรักษาไขมันในเลือดสูงมีหลายแนวทาง ที่ซับซ้อนน้อยที่สุดคือการจำกัดการบริโภคและการออกกำลังกาย อย่างไรก็ดีมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งที่ไม่สามารถควบคุมระดับไขมันในเลือดได้ สาเหตุเช่น อุปนิสัยในการรับประทานอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ดังจะเห็นได้จากสถิติของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข แสดงให้เห็นถึงจำนวนผู้ป่วยไขมันผิดปกติร่วมกับผู้ป่วยมีความผิดปกติทางเมตาบอลิกเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ในปัจจุบันมียาที่ใช้รักษาภาวะไขมันในเลือดสูงอยู่หลายชนิด แต่การรักษาจะต้องใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน ยากลุ่มที่สามารถลดไขมันที่ออกฤทธิ์ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมันตั้งแต่ขั้นต้น คือ ยาที่ชะลอการดูดซึมกรดไขมันเข้าสู่กระแสเลือด จึงทำให้มีความสนใจในการพัฒนายาที่มีกลไกไปยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ซึ่งจะทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการดูดซึมไตรกลีเซอไรด์ผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือด และทำให้เกิดการขับไขมันออกจากร่างกาย ซึ่งจะช่วยลดระดับไขมันในเลือดได้ อย่างไรก็ตามผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงยังจำเป็นจะต้องรับประทานยาอย่างต่อเนื่อง จึงมีค่าใช้จ่ายด้านยาค่อนข้างสูง รวมไปถึงปัญหาความเป็นพิษของยาต่อตับของผู้ป่วย จึงเกิดความพยายามในการวิจัยศึกษาหาพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดระดับไขมัน มาพัฒนาเป็นยาลดไขมันจากสมุนไพรที่มีราคาถูก และปลอดภัย เพื่อช่วยเหลือผู้ป่วยให้เข้าถึงยาได้ง่ายขึ้น

ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นแหล่งของพืชสมุนไพรหลากหลายชนิด รวมทั้งมีการนำพืชบางชนิดมาใช้ในการช่วยลดระดับไขมันในการแพทย์พื้นบ้านด้วย เช่น กระเจี๊ยบแดง ดอกคำฝอย เสาวรส ซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัด และในส่วนกลไกยับยั้งเอนไซม์ไลเปสในหลอดทดลอง มีพืชสมุนไพรที่ได้รับการวิจัย เช่น ชาต่างๆ คือ ชาอู่หลง ชาดำ ชาเขียว (*Camellia sinensis*) (Han et al., 2001) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) (Satouchi et al., 1998) ชะเอมเทศ (Won et al., 2007) ข้าวฟ่างหางกระรอก (*Setaria italic*) (Sherma et al., 2005) sage (*Mussaenda flava*) (Ninomiya et al., 2004) กีวี (*Actinidia arguta*) (Jang et al., 2008) เป็นต้น ซึ่งเห็นได้ว่าการวิจัยส่วนใหญ่มักเป็นการดำเนินการในต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ดีมีพืชหลากหลายชนิดที่สามารถเจริญเติบโตหรือเพาะปลูกได้ในประเทศไทยที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสแต่ยังขาดการวิจัยในเชิงลึกถึงถึงฤทธิ์ทางชีวภาพนี้

ในการวิจัยที่ผ่านมาได้ทำการคัดกรองเบื้องต้นเพื่อหาสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส โดยโครงการวิจัยปีนี้ได้ศึกษาวิเคราะห์จลนพลศาตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสในสภาวะที่มีสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ฯ ที่หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (อพ.สธ.) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์นี้ เพื่อให้ทราบว่าการยับยั้งนั้นมีรูปแบบ และมีประสิทธิภาพเพียงใดเมื่อเทียบกับตัวควบคุมผลบวก orlistat

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

โรคอ้วนและโรคไขมันในเลือดสูงนับเป็นปัญหาด้านสุขภาพในประเทศต่างๆ ทั่วโลก ซึ่งมักจะปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวพันกับโรคเรื้อรังอื่นๆ ด้วย เช่น โรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจ โรคเบาหวาน และ มะเร็ง ยาแผนปัจจุบันที่นิยมใช้ลดไขมันที่มีใช้ในมีหลายกลุ่ม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยาลดระดับไขมันในเลือด กล่าวคือ ยาเหล่านี้จะออกฤทธิ์กำจัดหรือลดปริมาณไขมันที่ผ่านกระบวนการย่อยจากทางเดินอาหารและถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดแล้ว เช่น statins, fibric acid derivatives, niacin, bile acid binding resins และ probucol (วิทยา ศรีดามาและคณะ, 2544) ส่วนยาที่ลดหรือต้านการดูดซึมไขมันเข้าสู่กระแสเลือดโดยที่ไม่มีผลต่อความอยากอาหาร (ซึ่งออกฤทธิ์ผ่านศูนย์ควบคุมการอยากอาหารในระบบประสาท) ที่นิยมใช้ในปัจจุบันและได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาและไทย คือ orlistat ซึ่งยานี้ถูกพัฒนามาจากสารต้นแบบ lipstatin ที่ได้จากการคัดกรองกรองฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces toxytricini* (Hochuli et al., 1987; Weibel et al., 1987) กลไกการออกฤทธิ์ของ orlistat คือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสแบบไม่ย้อนกลับ จึงทำให้ไตรกลีเซอร์ไรด์ไม่ถูกย่อยเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง และถูกขับออกไปจากร่างกายทางอุจจาระ ดังนั้นจึงทำให้ไตรกลีเซอร์ไรด์ที่ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดได้มีปริมาณน้อยลง (Ballinger and Peikin, 2002) ซึ่งน่าจะเป็นยาที่เหมาะกับผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงหรือผู้ป่วยโรคอ้วนที่ควบคุมการรับประทานอาหารประเภทไขมันได้ยาก

พืชถือได้ว่าเป็นแหล่งสำคัญของยาในการรักษาโรคต่างๆ มาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน มีงานวิจัยหลายแห่งพบกว่าพืชจากธรรมชาติสามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ตัวอย่างเช่น Satouchi และคณะได้ทำการศึกษาถึงผลการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max*) พบสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับ lipoxygenase-1 แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพนี้ (Satouchi et. al., 1998) Han และคณะพบว่า ชาอู่หลง ชาเขียว ชาดำสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของคอเรสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด โดยสารกลุ่มแทนนินในชา เช่น epicatechingallate และ epigallocatechingallate และสารกลุ่มซาโปนินในชา (teasaponins) สามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และเพิ่มกระบวนการเผาผลาญไขมัน (Han et. al., 2001) Won และ คณะ แยกสารสำคัญกลุ่ม flavonoid คือ licochalcone A จากรากชะเอมเทศ (*Gycyrrhiza uralensis*) ที่มีฤทธิ์ชีวภาพนี้ค่อนข้างดี (Won et al., 2007) Ninomiya และ คณะพบสารสกัดจากใบของ Sage (*Salvia officinalis*) มีฤทธิ์ยับยับเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส โดยมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ carnosic acid, carnosol, royleanonic acid, 7-methoxyrosmanol และ oleanolic acid (Ninomiya et al., 2004) Jang และคณะศึกษาสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากรากกีวี (*Actinidia arguta*) พบสารประกอบใหม่ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส คือ 3-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl actinidic acid ซึ่งเป็นสารกลุ่ม coumaroyl triterpenes และสารประกอบอื่นๆ อีก 5 ชนิด ซึ่งเป็นสารกลุ่ม

triterpenes ได้แก่ ursolic acid, 23-hydroxyursolic acid, corosolic acid, asiatic acid และ betulinic acid (Jang et al., 2008)

มีงานวิจัยจากหลายแหล่งพบว่าสารสกัดจากพืชที่พบในประเทศไทย หลายชนิดมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เช่น ทับทิม (*Punica granatum*) (Jurenka, 2008; Lei et al., 2007), มะระขี้นก (*Momordica charantia*) (Oishi et al., 2007), ชา (*Camellia sinensis*) (Nakai et al.,2005), เบญกานี (*Quercus infectoria*) (Gholamhoseinian et al., 2010) รวมทั้งมีการวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดจากพืชที่มีผลยับยั้งแพนครีเอติกไลเปสด้วย ตัวอย่างสารเช่น สารกลุ่ม saponins, polyphenolics และ terpenes (Birari and Bhutani, 2007)

ในการวิจัยครั้งนี้จะนำสารสกัดจากพืชในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ที่เคยตรวจสอบแล้วว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส คือ ลำบิดดง มาทำการศึกษาผลของสารสกัดต่อจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาให้เป็นยาต้านเมตาบอลิซึมของไขมันต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเมื่อมีสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพรในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ในปฏิกิริยา โดยการวัดความสามารถในยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเทียบกับสารมาตรฐาน

วิธีดำเนินการศึกษา

1. การเตรียมตัวอย่าง

พิจารณาเลือกสารสกัดในชั้นตัวทำละลายที่มีศักยภาพในการต้านเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่น่าจะมีสาร uvaol เป็นองค์ประกอบ ในที่นี่เลือกใช้สารสกัดชั้น hexane ของใบลำบิดดง

2. การตรวจสอบหาการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส

วิธีการหาฤทธิ์ทางชีวภาพนี้จะทำการตรวจสอบดำเนินการตามรายงานการวิจัยที่ผ่านมา (McDougall et. al., 2009)

3. ศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์เมื่อมีสารสกัด hexane ของใบลำบิดงที่อยู่ในปฏิกิริยา

ตรวจสอบ activity โดยเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นในที่นี้คือ *p*-nitrophenyl dodecanoate ในช่วง 31.25, 62.5, 125, 250. 500 μM เมื่อมี hexane extract 2 ความเข้มข้น คือ 0.25 และ 0.50 mg/mL ในปฏิกิริยา เทียบกับปฏิกิริยาควบคุมที่ไม่มีสารสกัด รูปแบบของการยับยั้งเอนไซม์ได้จากกราฟของ Lineweaver-Burk plot โดยนำข้อมูลการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นทุกๆ 5 นาที มาดำเนินการสร้างกราฟของ Michaelis-Menten แล้วนำผลมาคำนวณหาค่า 1/V และ 1/[S] สำหรับการสร้าง Lineweaver-Burk plot

4. อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

สถานที่ทำการศึกษาและเก็บข้อมูล

ทำการทดลองที่ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษา

การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสโดย uvaol และ สารสกัด hexane ของใบลำบิดดง

การศึกษาวิจัยปีที่ผ่านมา ได้ทำการสกัดแยกสาร uvaol ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสได้ จากสิ่งสกัดชั้น ethylacetate ของใบลำบิดดง และได้ตรวจสอบเบื้องต้นพบว่ามีความแรงในการยับยั้งที่ 83.17 ± 1.51% ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL อย่างไรก็ดีสภาวะการเก็บสาร uvaol ในห้องปฏิบัติอาจไม่เหมาะสมจึงทำให้ uvaol ที่แยกได้นั้นไม่สามารถกลับมาละลายได้ดีดังเดิม การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเมื่อมีสาร uvaol อยู่ในปฏิกิริยาจึงไม่สำเร็จ

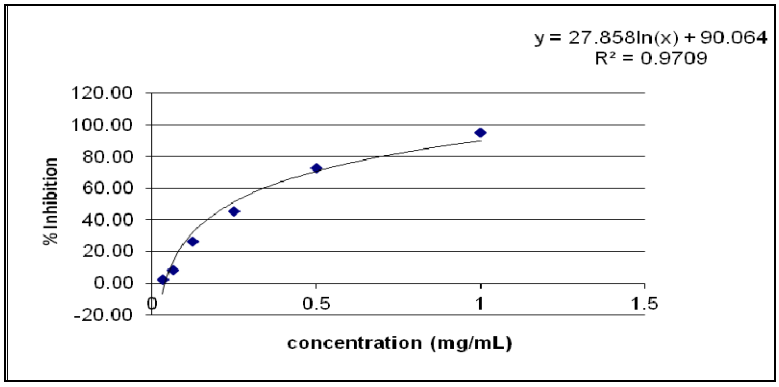
รูปที่ 1 แสดงการเคลื่อนที่ของสาร uvaol, ethanol crude extract และ hexane extract ของลำบิดดง ตามลำดับ (จากซ้ายไปขวา) บนแผ่น TLC

เมื่อตรวจสอบการเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC พบว่า uvaol ปรากฏในสารสกัดชั้น hexane extract ซึ่งได้จากการ partition กับ ethanol crude extract ของลำบิดดง (รูปที่ 1) จึงมีความเป็นไปได้ที่ส่วนสกัดชั้น hexane นี้จะให้ฤทธิ์ชีวภาพเช่นเดียวกับ uvaol จากการตรวจสอบเบื้องต้นพบว่าสารสกัด hexane ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกที่ค่อนสูงมาก คือ 94.95 ± 2.92% ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 1 mg/mL และการยับยั้งเป็นแบบแปรผันตามความเข้มข้น หรือ concentration-dependent manner คือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ hexane extract ก็จะทำให้การยับยั้งสูงขึ้นตามลำดับ ทำให้สามารถหาค่า IC50 ได้ คือ 0.24 mg/mL (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 2) ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ orlistat เป็นตัวควบคุมผลบวก ซึ่งให้

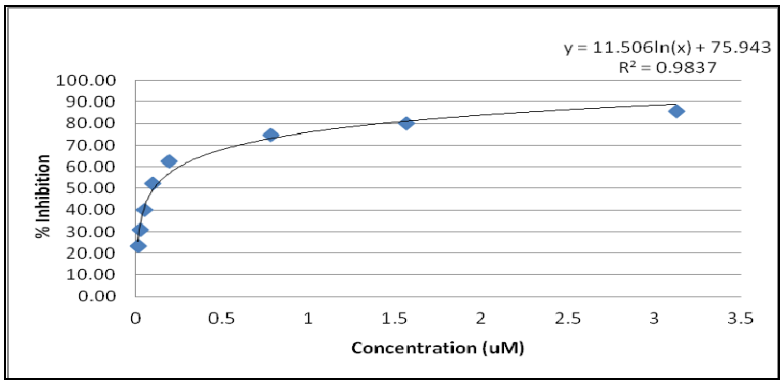
ค่าการยับยั้งที่ 94.31 ± 0.03% ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 25 µM และค่า IC50 คือ 0.11 µM (ตารางที่ 1 และรูปที่ 3) จึงนำสารสกัด hexane ของใบลำบิดดงมาใช้ในการศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ต่อไป

ตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส ของ hexane extract ของใบลำบิดดง และ orlistat

สิ่งทดสอบ	ความเข้มข้นสุดท้าย	% inhibition			average	SD
		1	2	3		
Hexane extract	1 mg/mL	96.61	96.67	91.58	94.95	2.92
Orlistat	25 µM	94.33	94.28	94.33	94.31	0.03



รูปที่ 2 กราฟแสดง %inhibiton ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้นต่างๆ ในปฏิกิริยา



รูปที่ 3 กราฟแสดง %inhibiton ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี orlistat ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในปฏิกิริยา

<u>การศึกษาจลนศาสตร์ของการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสโดยสารสกัด hexane ของใบลำบิดดง</u>

การศึกษาหาจลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสพบว่า ปฏิกิริยามีความเร็วสูงสุด Vmax ที่ 23.53 μM min^{-1} และมีค่า Km คือ 808.09 μM ในสภาวะควบคุม เมื่อมีการเติม hexane extract ของลำบิดดงลงในปฏิกิริยาจะทำให้ค่า Vmax เปลี่ยนแปลงโดยมีค่าลดลง ส่วนค่า Km เปลี่ยนแปลงน้อยมากหรือถือว่าไม่ได้เปลี่ยนแปลงจากสภาวะควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) ส่วนตัวควบคุมผลบวก orlistat เมื่อใส่ลงในปฏิกิริยาให้ผลตรงข้ามกับ hexane extract กล่าวคือ จะทำให้ค่า Km เปลี่ยนแปลงโดยมีค่าลดลง ส่วนค่า Vmax เปลี่ยนแปลงน้อยมากหรือถือว่าไม่ได้เปลี่ยนแปลงจากสภาวะควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) การพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของตัวเลขใช้การคำนวณหาร้อยละของความแปรปรวนของข้อมูล หรือ % CV ซึ่งคำนวณได้จากค่าเฉลี่ยส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและนำไปคูณ 100 เพื่อทำเป็นจำนวนร้อยละ หาก %CV มีค่าไม่เกิน 10% ถือว่าค่าที่ได้นั้นเป็นมีความแปรปรวนน้อยซึ่งสามารถนับเป็นข้อมูลเดียวกันได้ หาก %CV เกินกว่า 10% นับว่าข้อมูลที่ได้มีความแปรปรวนสูงและขาดความน่าเชื่อถือที่จะเป็นข้อมูลชุดเดียวกัน

ตารางที่ 2 จลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL

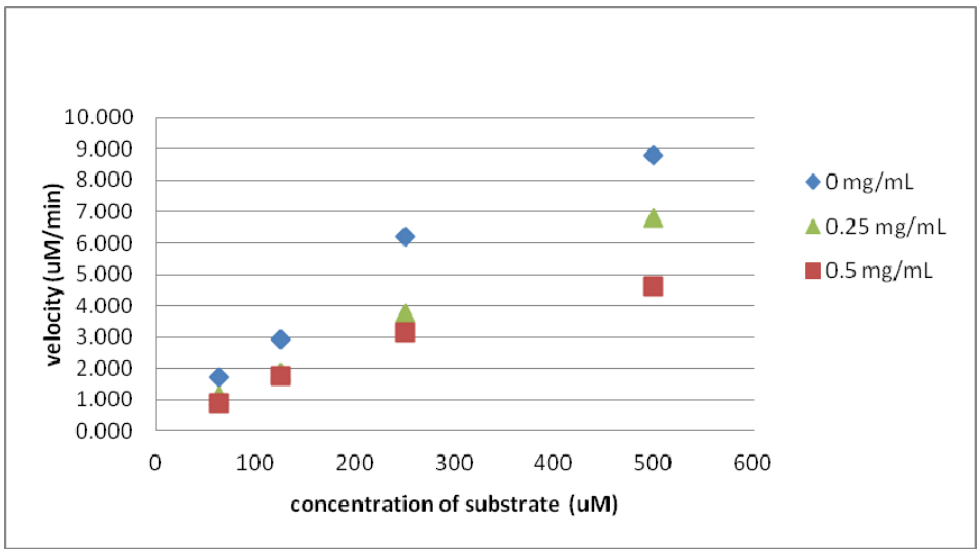
ความเข้มข้นของ hexane extract (mg/mL)	ความเร็วของปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นต่างๆของสารตั้งต้น (μM)				Vmax (μM min^{-1})	Km (μM)
	62.5	125	250	500		
0	1.71	2.93	6.21	8.82	23.53	808.09
0.25	1.14	1.88	3.78	6.83	15.72	822.86
0.50	0.92	1.76	3.18	4.63	13.57	857.48
ค่าเฉลี่ย (Average)					17.61	829.48
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)					5.24	25.35
เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของข้อมูล (% CV)					29.77	3.06

ตารางที่ 3 จลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อมี orlistat ที่ความเข้มข้น 0.20 และ 0.40 μM

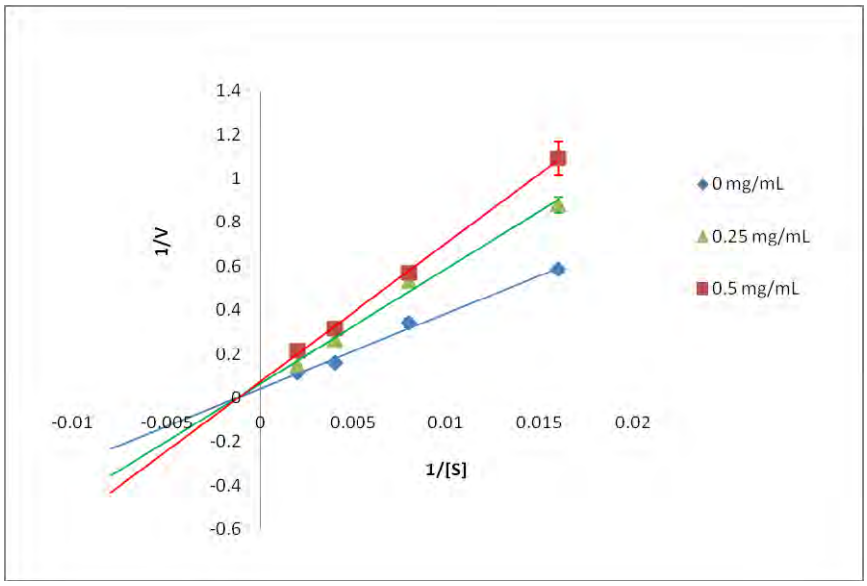
ความเข้มข้นของ orlistat (μM)	ความเร็วของปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นต่างๆของสารตั้งต้น (μM)				Vmax (μM min^{-1})	Km (μM)
	62.5	125	250	500		
0	1.71	2.93	6.21	8.82	23.53	808.09
0.20	1.27	2.37	4.30	7.75	23.87	1115.80
0.40	1.04	1.89	3.74	6.25	21.05	1212.53
ค่าเฉลี่ย (Average)					22.82	1045.47
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)					1.54	211.19
เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของข้อมูล (% CV)					6.73	20.20

<u>รูปแบบของการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสโดย hexane extract ของใบลำบิดดง</u>

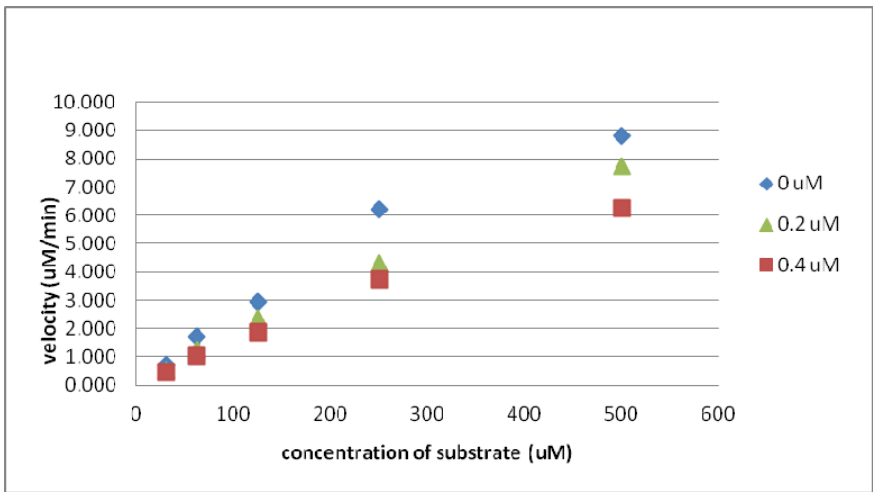
ข้อมูลการดำเนินกิจกรรมของเอนไซม์ทุกๆ 5 นาทีสามารถนำมาสร้างกราฟของ Michaelis-Menten ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยาบนแกน Y กับความเป็นข้นของสารตั้งต้นบนแกน X กราฟของ Michaelis-Menten เมื่อมี hexane extract และ orlistat แสดงในรูปที่ 4 และ 6 ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลนี้สามารถนำมาวิเคราะห์เพิ่มเติมถึงรูปแบบการยับยั้งได้โดยสร้าง Lineweaver-Burk plot ระหว่างส่วนกลับของความเร็วของปฏิกิริยา (1/V) และส่วนกลับของความเข้มข้นของสารตั้งต้น (1/[S]) จากการวิเคราะห์พบว่าปฏิกิริยาเมื่อมีสารสกัด hexane ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL กราฟของ Lineweaver-Burk plot ให้จุดตัดแกน X ซึ่งคือค่า –1/Km คงเดิม ส่วนจุดตัดแกน Y ซึ่งคือค่า 1/Vmax เพิ่มขึ้นแปรผันตามเข้มข้นของ hexane extract (รูปที่ 5) ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสของ hexane extract เป็นแบบ noncompetitive inhibition ในทางกลับกัน กราฟของ Lineweaver-Burk plot ของปฏิกิริยาที่มีตัวควบคุมผลบวก orlistat ให้ค่าให้จุดตัดแกน X ซึ่งคือค่า –1/Km เพิ่มขึ้น ส่วนจุดตัดแกน Y ซึ่งคือค่า 1/Vmax คงเดิม (รูปที่ 7) ซึ่งเป็นการยืนยันผลว่า orlistat สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้แบบ competitive inhibition



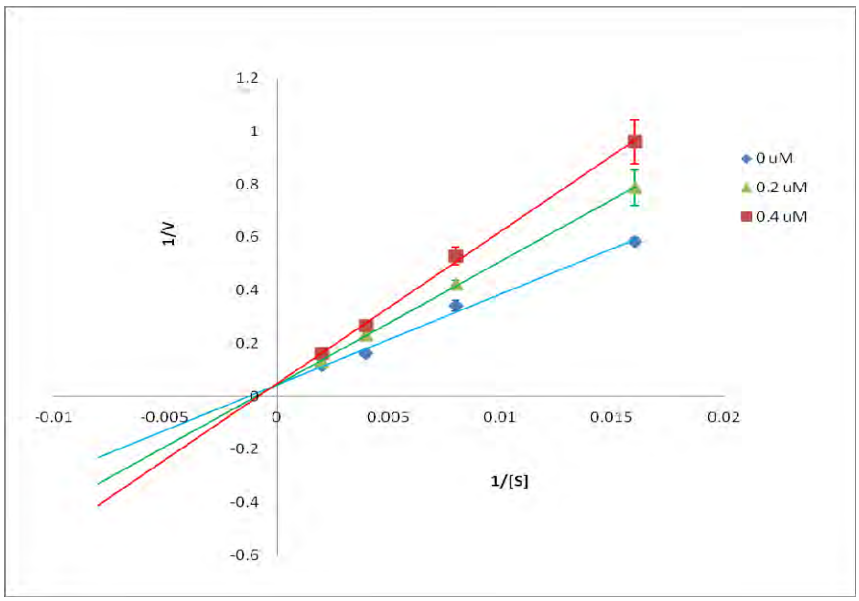
รูปที่ 4 กราฟของ Michaelis-Menten แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย hexane extract ของลำบิดดง ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL



รูปที่ 5 กราฟของ Lineweaver-Burk แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย hexane extract ของลำบิดดงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mg/mL



รูปที่ 6 กราฟของ Michaelis-Mentenแสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วยorlistat ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 µM



รูปที่ 7 กราฟของ Lineweaver-Burk แสดงผลของการยับยั้งปฏิกิริยาด้วย orlistat ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 µM

สรุปและวิจารณ์ผล

พืชในสกุล *Diospyros* อยู่ในวงศ์ Ebenaceae จำนวนหนึ่ง ได้ถูกใช้รักษาทางอายุรเวทและใช้เป็นยาพื้นบ้านอย่างกว้างขวาง ซึ่งต่อมาตรวจสอบพบสารเคมีสำคัญที่น่าจะมีผลในการให้ฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ (Sinha and Bansal, 2008) อย่างไรก็ดีลำบิดดง (*Diospyros filipendula* Pierre ex Lecomte.) ไม่มีการใช้เป็นยาพื้นบ้านอย่างชัดเจน

มีรายงานการวิจัยจากหลายแหล่งพบว่าสารเคมีหลายกลุ่ม จากพืชหลายชนิด มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส (Hasani-Ranjbar et al., 2013; Sahib et al., 2012) จากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับลำบิดดง ยังไม่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชนี้ และยังไม่มีข้อมูลทางพฤกษเคมีจากใบของลำบิดดง แต่มีรายงานสารสำคัญที่ได้จากส่วนสกัดเฮกเซนของรากลำบิดดงคือ stigmasterol taraxerol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม triterpenoids (วารี เนื่องจำนงค์, 2555)

จากการศึกษาวิจัยในระยะแรก พบว่าสาร crude ethanol extract จากใบลำบิดดงมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส เมื่อทำการแยกสารสำคัญโดยอาศัยเทคนิค bioassay-guided fractionation สามารถแยกสารบริสุทธิ์ คือ uvaol ที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพนี้ อย่างไรก็ดีสภาวะปัจจุบันในการเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการทำให้ uvaol ไม่สามารถละลายได้ดีดังเดิมซึ่งอาจเกิดจากความไม่คงตัวหรือเสื่อมสภาพไป ดังนั้นการศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเมื่อมี uvaol ในปฏิกิริยาจึงไม่สำเร็จ

ผู้วิจัยได้ทบทวนข้อมูลเกี่ยวกับสารสกัดทั้งหมดที่ได้จากลำบิดดงที่ได้ทดสอบเบื้องต้นมาแล้ว พบว่า hexane extract ที่ได้จากการ partition กับ crude ethanol extract มีองค์ประกอบของ uvaol และให้ฤทธิ์ทางชีวภาพนี้ที่สูงมาก จึงมีความเป็นได้อย่างยิ่งที่ฤทธิ์ต้านเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสของ hexane extract ส่วนหนึ่งมาจาก uvaol ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดนี้ และเป็นที่น่าสนใจว่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เท่ากัน (1 mg/mL) ของ uvaol และ สารสกัด hexane % inbition ที่ได้จาก hexane extract มีค่าสูงกว่าสารบริสุทธิ์ uvaol ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าใน hexane extract มีองค์ประกอบของสารเคมีหลายชนิดและมีสารที่สามารถต้านเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสมากกว่า 1 ชนิด หรือ มีสารที่ให้ผล synergetic effect ในการยับยั้งเอนไซม์ จึงได้คัดเลือก hexane extract เพื่อมาทำการศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ต่อไป

การวิเคราะห์จลนศาสตร์ของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสเมื่อมี hexane extract ในปฏิกิริยา เมื่อเทียบกับสภาวะควบคุมพบว่า ค่า Km ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ค่า Vmax ลดลง ซึ่งสามารถระบุรูปแบบของการยับยั้งเอนไซม์ได้ว่าเป็นชนิด non-competitive inhibition ส่วนสารควบคุมผลบวกคือ orlistat นั้นให้ผลตรงข้ามคือ เมื่อเทียบกับสภาวะควบคุมพบว่า ค่า Vmax ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ค่า Km ลดลง ซึ่งเป็น

ลักษณะเฉพาะของการยับยั้งแบบ competitive inhibition และจากการวิจัยที่ผ่านมา orlistat จับกับเอนไซม์แบบไม่ผันกลับ (irreversible reaction) ซึ่งหมายถึงเมื่อ orlistat จับกับเอนไซม์แล้วทำให้เสียหน้าที่ไปโดยสิ้นเชิงเพราะไม่สามารถกลับมาทำงานอย่างเดิมได้อีก (Hogan et al., 1987) จึงนับเป็นข้อด้อยสำหรับยาที่มีลักษณะการทำงานเช่นนี้ สำหรับการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โดย hexane extract และ orlistat เป็นไปได้ยาก เนื่องจากความเข้มข้นที่ใช้มีหน่วยที่ต่างกัน และ สารสกัด hexane มีองค์ประกอบของสารเคมีที่หลากหลายที่ยังไม่ได้แยกให้เป็นสารบริสุทธิ์รายชนิด ซึ่งถ้าพิจารณาเบื้องต้นแล้วสารสกัด hexane มีความแรงในการยับยั้งน้อยกว่าสารบริสุทธิ์ อย่างไรก็ดีการศึกษาต่อไปในเรื่องกลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัด hexane ว่าสามารถจับกับเอนไซม์แบบผันกลับหรือไม่ โดยอาจใช้วิธีตรวจสอบปฏิกิริยาหลังกระบวนการ dialysis ของเอนไซม์ที่ได้หลังการบ่มระหว่างเอนไซม์และสารสกัด ซึ่งหากปฏิกิริยายังคงดำเนินต่อไปได้แสดงถึงว่าสารสกัดนั้นจับกับเอนไซม์แบบ reversible reaction ซึ่งหากเป็นดังนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งเนื่องจากอาจมีทางเลือกในการพัฒนาสารที่มีศักยภาพในการต้านเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสที่ไม่ได้ทำให้เอนไซม์เสียสภาพไปอย่างถาวร หรืออาจมีใช้ร่วมกันหลายชนิดซึ่งน่าจะทำให้ขนาดการใช้ยาแต่ละชนิดในการต้านเอนไซม์เป้าหมายไม่สูงเกินไป

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยังเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้น หากจะสามารถตอบคำถามวิจัยให้ชัดเจนว่าสารใดในสารสกัด hexane ของใบลำบิดดงเป็นตัวออกฤทธิ์ชีวภาพ มีความจำเพาะต่อเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปสหรือไม่ และ สารนั้นมีความแรงเทียบเท่า orlistat หรือไม่ จะต้องทำการวิจัยเพิ่มเติมโดยวิธี bioassay-guided isolation และนำสารสำคัญที่ได้จากการแยกนั้นมาศึกษาทาง kinetic ต่อไป การศึกษาเพิ่มเติมเหล่านั้นจะให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาและการออกแบบยาต้านเมตาบอลิซึมของไขมันได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Ballinger, A. and Peikin, S,R. (2002). Orlistat: its current status as an anti-obesity drug. *Eur. J. Pharmacol*. 404: 109 – 117.
2. Birari, R.B. and Bhutani, K.K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov. Today.* 12: 879 – 889.
3. Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B. and Sharifi-far, F. (2010). Inhibitory effect of some plant extracts on pancreatic lipase. *Int. J. Pharmacol.* 6: 18 – 24.
4. Han, L.K., Kimura, Y., Kawashima, M., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, Y.N. and Okuda, H. (2001). Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obesity*. 25: 1459 – 1464.
5. Hasani-Ranjbar, S., Jouyandeh, Z. and Abdollahi, M. (2013). A systematic review of anti-obesity medicinal plant – an update. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 12: 28 – 37.
6. Hochuli, E., Kupfer, E., Maurer, R., Meister, W., Mercadal, Y. and Schmidt, K. (1987). Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase produced by streptomyces toxytricini. II. Chemistry and structure elucidation. *J. Antibiot.* 40: 1086 – 1091.
7. Hogan, S., Fleury, A., Hadvary, P., Lengsfeld, H., Meier, M. K., Triscari, J and Sullivan, A.C. (1987). Studies of the antiobesity activity of tetrahydrolipstatin, a potent and selective inhibitor of pancreatic lipase. *Int. J. Obesity* 11; 35 – 42.
8. Jang, D.S., Lee, G.Y., Kim, J., Lee, Y.M., Kim, J.M., Kim, Y.S. and Kim, J.S. (2008). A new pancreatic lipase inhibitor isolated from the roots of *Actinidia arguta. Arch. Pharm. Res.* 31: 666 – 670.
9. Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Altern. Med. Rev.* 13: 128 – 144.
10. Lei, F., Zhang, X.N., Wang, W., Xing, D.M., Xie, W.D., Su, H. and Du, L.J. (2007). Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *Int. J. Obesity.* 31: 1023 – 1029.

11. McDougall, G.J., Kulkarni, N.N. and Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chem.* 115: 193 – 199.
12. Nakai, M., Fukui, Y., Asami, S., Toyoda-Ono, Y. Iwashita, T., Shibata, H., Mitsunaga, T., Hashimoto, F and Kiso, Y. (2005). Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. *J Agr. Food Chem.* 53: 4593 – 4598.
13. Ninomiya, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Nishida, N., Kasajima, N., Yoshino, T., Morikawa, T. and Yoshikawa M. (2004). Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 14: 1943 – 1946.
14. Oishi, Y., Sakamoto, T., Udagawa, H., Taniguchi, H., Kobayashi-Hattori, K., Ozawa, Y. and takita, T. (2007). Inhibition of increases in blood glucose and serum neutral fat by *Momordica charantia* saponin fractions. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 735 – 740.
15. Sahib, N.J. Saari, N., Ismail, A., Khatib, A., Mahomoodally, F. and Hamid, A.A. (2012). Plant's metabolites as potential antiobesity agents. *The Sci. World J.* Article ID 436039. doi:10.1100/2012/436039
16. Satouchi, K., Hirano, K., Fujino, O., Ikoma, M., Tanaka, T. and Kitamura, K. (1998) Lipoxygenase-1 from soybean seed inhibiting the activity of pancreatic lipase. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 62: 1498 – 1503.
17. Sharma, N., Sharma, V.K. and Seo, S.Y. (2005). Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *J. Ethnopharmacol*. 97: 453 – 456.
18. Sinha, B.N. and Bansal, S.K. (2008). A review of phytochemical and biological studies of *Diospyros* species used in folklore medicine of Jharkhand. *J. Nat. Remedies* 8(1): 11 – 17.
19. Weibel, E.K., Hadvary, P., Hochuli, E., Kupfer, E. and Lengsfeld, H. (1987). Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase produced by *streptomyces toxytricini*. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity. *J. Antibiot.* 40: 1081 – 1085.
20. Won, S., Kim, S., Kim, Y., Lee, P., Ryu, J., Kim, J. and Rhee, H. (2007). Licochalcone A: a lipase inhibitor from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Food Res. Int.* 40: 1046 – 1050.

21. วารี เนื่องจำนงค์. องค์ประกอบทางเคมีของลำบิดดงและเท้าแสนปม. งานวิจัยมหาวิทยาลัยบูรพา. 2555 http://www.lib.buu.ac.th/buuir/research/node/428

22. วิทยา ศรีดามา และ คณะ. โรคอ้วนและไขมันในเลือดผิดปกติ. *โรคต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2544. 425 – 476.

ประวัติคณะวิจัย

1. **ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)** นาง ทักษิณา ชวนอาษา
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Taksina Chuanasa
2. **เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน** 3102101661237
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail**

   ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพ 10330
   โทรศัพท์ 0-2218-8362 โทรสาร 0-2218-8357 E-mail: taksina.c@chula.ac.th

5. **ประวัติการศึกษา**

วุฒิ	**ปีที่สำเร็จ**	**สาขาวิชา**	**สถาบัน**
ปริญญาเอก	2549	Biochemistry (Plant Biology Program)	Purdue University (USA)
ปริญญาตรี	2540	เภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยศิลปากร

6. **สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ**

   เทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตสารทุติยภูมิ

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

   7.2.1 โครงการวิจัยเรื่อง “การหาจลนพลศาสตร์ในการยับยั้งเมตาบอลิซึมของไขมันโดยสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2558 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

   7.2.2 โครงการวิจัยเรื่อง “แยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส ปีที่ 2” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2557 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.2.3 โครงการวิจัยเรื่อง “แยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2556 ระยะเวลา 1 ปี

7.2.4 โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2555 ระยะเวลา 1 ปี

7.2.5 โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดกรองเบื้องต้นเพื่อหาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์ของสาร renieramycins จากฟองน้ำทะเลสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp.” ได้รับทุนนักวิจัยใหม่ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2552 ระยะเวลา 1 ปี

7.2.6 โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดกรองสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ปกป้องดีเอ็นเอ” ได้รับการสนับสนุนจาก ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษก ประจำปี 2550 ระยะเวลา 3 ปี

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อแผนงานวิจัยและหรือโครงการวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการทำวิจัย

7.3.1 โครงการวิจัยเรื่อง “การหาจลนพลศาสตร์ในการยับยั้งเมตาบอลิซึมของไขมันโดยสารสำคัญที่แยกได้จากพืชสมุนไพร ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2558 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.2 โครงการวิจัยเรื่อง “แยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส ปีที่ 2” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2557 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.3 โครงการวิจัยเรื่อง “แยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2556 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.4 โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดกรองพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเมตาบอลิซึมของไขมัน ในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ โดยการวัดฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แพนครีเอติกไลเปส” ได้รับทุนโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2555 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.5 โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดกรองเบื้องต้นเพื่อหาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์ของ

สาร renieramycins จากฟองน้ำทะเลสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp." ได้รับทุนนักวิจัยใหม่ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2552 ระยะเวลา 1 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.6 โครงการวิจัยเรื่อง "การศึกษาพืชสมุนไพรไทยที่สร้างอัลคาลอยด์ต้านมะเร็ง: แคมโททีซิน" ได้รับทุนวิจัยเซเรบอส ประจำปี 2551 ระยะเวลา 1 ปี (ผู้ร่วมวิจัย)

7.3.7 โครงการวิจัยเรื่อง "ศูนย์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตในทะเลและราเอนโดไฟท์" ได้รับทุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ประจำปี 2549 ระยะเวลา 3 ปี (ผู้ช่วยวิจัย)

7.3.8 โครงการวิจัยเรื่อง "การคัดกรองสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ปกป้องดีเอ็นเอ" ได้รับการสนับสนุนจาก ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษก ประจำปี 2550 ระยะเวลา 2 ปี (หัวหน้าโครงการ)

7.3.9 โครงการวิจัยเรื่อง "การศึกษาสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส" ได้รับทุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (ผู้ช่วยวิจัย)

<u>ผลงานที่เคยตีพิมพ์หลังจากงานวิจัยเสร็จแล้ว</u>

1. Temeeyasen, G., Srijangwad, A., Tripipat, T., Tipsombatboon, P., Piriyapongsa, J., Phoolcharoen, W., **Chuanasa, T.**, Tantituvanont, A. and Nilubol, D. Genetic diversity of ORF3 and spike genes of porcine epidemic diarrhea virus in Thailand. *Infection Genetic and Evolution* 21, 2014: 205-13.

2. Cheun-Arom, T., Chanvorachote, P., Sirimangkalakitti, N., **Chuanasa, T.**, Naoki, S., Abe, I. and Suwanborirux. Replacement of a quinone by 5-O-acetylhydroquinone abolishes the accidental necrosis inducing effect while preserving the apoptosis-inducing effect of renieramycin M on lung cancer cells. *Journal of Natural Products* 76, 2013: 1468 – 1474.

3. **Chuanasa, T.**, Chatsumpun, M., Sritularak, B. and Likhitwitayawuid, K. Screening of Thai medicinal plants for free radical scavenging and DNA protective properties. *Journal of Health Research* 25(2), 2011: 91-96.

4. Chatsumpun, M., **Chuanasa, T.**, Sritularak, B. and Likhitwitayawuid, K. Oxyresveratrol Protects Against DNA Damage Induced by Photosensitized Riboflavin. *Natural Product Communications* 6(1), 2011: 41-44.

5. Viraporn, V., Yamazaki, M., Saito, K., Denduangboripant, J., Chayamarit, K., **Chuanasa, T.** and Sukrong, S. Correlation of Camptothecin-producing Ability and Phylogenetic Relationship in the Genus Ophiorrhiza. *Planta Medica* 77(7), 2011: 759-64.

6. **Chuanasa, T.**, Phromjai, J., Lipipun, V., Likhitwitayawuid, K., Suzuki, M., Pramyothin, P., Hattori, M. and Shiraki, K. "Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from Thai medicinal plant: Mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice." *Antiviral Research* 80, 2008: 62-70.

7. **Sinlapadech, T.**, Stout, J. Ruegger, M.O., Deak, M., and Chapple, C.: The hyper-

fluorescent trichome phenotype of the *brt1* mutant of Arabidopsis is the result of a defect in a sinapic acid:UDPG glucosyltransferase. *The Plant Journal* 49(4), 2007: 655-668.

8. Fraser, C.M., Thompson, M.G., Shirley, A.M., Ralph, J., Schoenherr, J.A., **Sinlapadech, T.**, Hall, M.C. and Chapple, C.: Related serine carboxypeptidase-like sinapoylglucose acyltransferases display distinct but overlapping substrate specificity. *Plant Physiology* 144(4), 2007: 1986-1999.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ: ชื่อแผนงานวิจัยและหรือโครงการวิจัย และสถานภาพในการทำวิจัย

7.4.1 โครงการวิจัยเรื่อง “ฐานประเมินที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อมุ่งเป้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางยาจากพืชสมุนไพร” ได้รับการสนับสนุนจาก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษก ประจำปี 2554 ระยะเวลา 3 ปี (ผู้ร่วมวิจัย) ได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 90