

สารบัญชั้่งแอลฟาถูโคซีเตสจากเอ็องจำปา

นางสาวกนกพร ผมงาม 5636501033

นางสาวชิตชนก รุจิระชาติกุล 5636516533

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โครงการปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เกสัซศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกสัซศาสตร์

คณะเกสัซศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

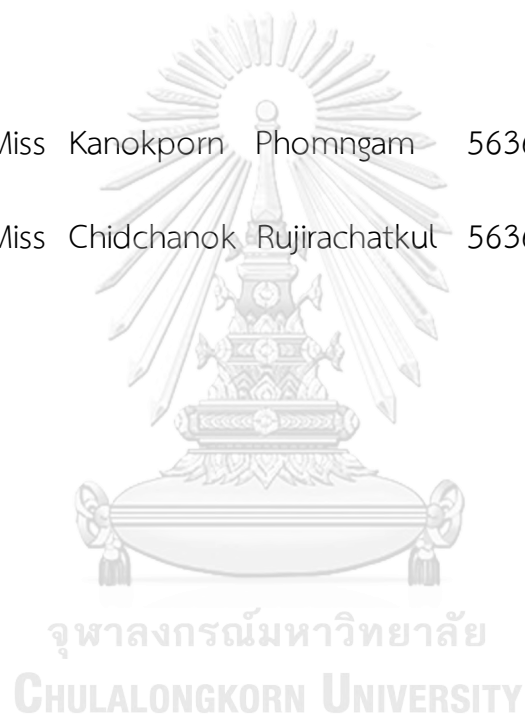
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Alpha-glucosidase inhibitors from *Dendrobium moschatum*

Miss Kanokporn Phomngam 5636501033

Miss Chidchanok Rujirachatkul 5636516533



A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Doctor of Pharmacy Program in Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

2017

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)


are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

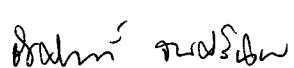
หัวข้อโครงการปริญญาโท สารบัญยังแอลฟาโคซิดีสจากเอื้องจำปา
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ นางสาวกนกพร ผมงาม
นางสาวชิตชนก รุจิระชาติกุล
สาขาวิชา/ภาควิชา การค้นพบและพัฒนา ยา / เภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท รศ. ภก. ดร.บุญชู ศรีตุลารักษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อ. ภก. ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต


..... คนบดี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพชร สกกุลบำรุงศิลป์)


..... ประธานสาขาการค้นพบและพัฒนา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สุภาณี พงษ์ธนานิกร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.บุญชู ศรีตุลารักษ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ เภสัชกร ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม)

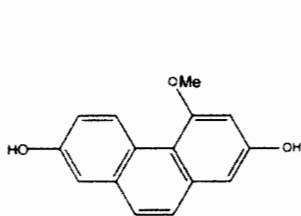
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

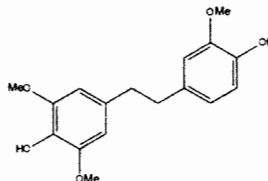
บทคัดย่อปริญญาานิพนธ์

ชื่อโครงการ : สารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจากเอื้องจำปา
หัวหน้าโครงการ : นางสาวกนกพร ผมงาม 5636501033
ผู้ร่วมโครงการ : นางสาวชิตชนก รุจิระชาติกุล 5636516533
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ : รองศาสตราจารย์ เกสัชกร ดร.บุญชู ศรีตุลารักษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ เกสัชกร ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม
สาขา/ภาควิชา : การค้นพบและพัฒนาายา/ เกสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์

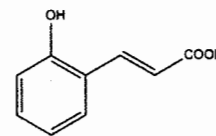
การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เป็นกลไกหนึ่งของยาในกลุ่มต้านเบาหวาน โดยที่เอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์สำคัญในการย่อยสลายประเภทคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว การยับยั้งเอนไซม์นี้จะสามารถลดปริมาณการดูดซึมกลูโคสเข้ากระแสเลือดหลังการรับประทานอาหารได้อย่างมีนัยสำคัญ และในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากค้นพบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากพืชสกุลหวาย (*Dendrobium* spp.) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำเอื้องจำปาซึ่งเป็นพืชในสกุลหวายมาทำการสกัดแยกสารเพื่อหาโครงสร้างทางเคมีและสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดส จากการนำส่วนเหนือดินของเอื้องจำปา น้ำหนักแห้ง 1.3 กิโลกรัม มาแช่สกัด ด้วย methanol แล้วตามด้วยวิธี partition ระหว่างตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำ ethyl acetate และ butanol จากนั้นนำสิ่งที่ได้จากชั้น ethyl acetate มาสกัดแยกโดยใช้เทคนิคทาง column chromatography โดยใช้ silica gel และ sephadex LH20 จากนั้นนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ไปวิเคราะห์ห่อด้วยเทคนิค NMR spectroscopy เพื่อหาสูตรโครงสร้างทางเคมี และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วย α -glucosidase inhibition assay จากชั้นของ ethyl acetate สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ flavanthrinin moscatilin และ *trans*-*o*-coumaric acid คิดเป็นร้อยละ เท่ากับ 7.25×10^{-4} , 6.48×10^{-3} , 4.01×10^{-3} ตามลำดับ ซึ่งสารที่ถูกลบเหล่านี้มีเพียง flavanthrinin เท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 34.45 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมากกว่าฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของ acarbose ที่มีค่า IC_{50} มากถึง 530.74 ไมโครโมลาร์ ซึ่งการค้นพบนี้ถือเป็นงานวิจัยแรกที่พบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสาร flavanthrinin



Flavanthrinin



Moscatilin



trans-*o*-Coumaric acid

คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการงานปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการงานปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Abstract

Senior project title : Alpha-glucosidase inhibitors from *Dendrobium moschatum*

Students' name : Miss Kanokporn Phomngam 5636501033

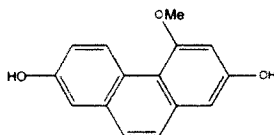
Miss Chidchanok Rujirachatkul 5636516533

Advisor : Assoc. Prof. Boonchoo Sritularak Ph.D.

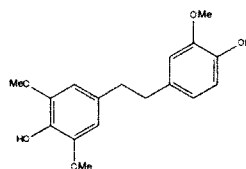
Co-advisor : Chaisak Chansrinoyom Ph.D.

Field/Department : Drug discovery and development/ Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

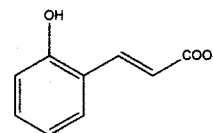
α -glucosidase inhibitors are one of the several mechanisms in anti-diabetic drugs. They work by competitively inhibit α -glucosidase enzymes which hydrolyze carbohydrates into monosaccharide in small intestine. Inhibition of these enzymes can significantly reduce absorption of blood glucose to control diabetes mellitus disease. Regard from several α -glucosidase inhibitor compounds have been found in *Dendrobium*. This research study aims to isolate and elucidate the constituents responsible for α -glucosidase inhibitory activity from *Dendrobium moschatum*. An aerial part of *D. moschatum* (1.3 kg) was macerated with methanol to obtain the crude extract then remove the methanol. The extract was suspended in water and then partitioned with ethyl acetate and butanol respectively. The ethyl acetate extract was isolated by column chromatography on silica gel or/and sephadex LH20 . The structure of isolated compound were determined through analysis of their NMR data. All of the isolates were evaluated for their α -glucosidase inhibitory activity. Chromatographic separation of the ethyl acetate extract from *D. moschatum* resulted in the isolation of 3 compounds which include flavantrinin, moscatilin and *trans*-o-coumaric acid with amount of 7.25×10^{-4} , 6.48×10^{-3} , 4.01×10^{-3} %, respectively. The results showed that only flavantrinin exhibited α -glucosidase inhibitory activity with IC_{50} value of 34.45 μ M which stronger than acarbose with IC_{50} value of 530.74 μ M. This is the first report on α -glucosidase inhibition activity of flavantrinin.



Flavantrinin



Moscatilin



trans-o-Coumaric acid

Faculty of Pharmaceutical

Chulalongkorn University

Sciences Student's signature

Kanokporn Phomngam.

Advisor's signature

บันทึกชื่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโท/ปริญญาตรีที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโท/ปริญญาตรีที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

คำนำ

โครงการปริญญาานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการค้นพบและพัฒนา ยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560 มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นเอื้องจำปา (*Dendrobium moschatum*) นำสารที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสาร ซึ่งโครงการปริญญาานิพนธ์นี้เป็นจุดเริ่มต้นของการนำเอื้องจำปามาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ผู้ดำเนินโครงการหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการปริญญาานิพนธ์นี้จะ เป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจด้านงานวิจัย ตลอดจนผู้ที่สนใจศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับต้นเอื้องจำปาและการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

หากโครงการปริญญาานิพนธ์นี้มีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้ดำเนินโครงการต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

คณะผู้ดำเนินโครงการ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทและปริญญาตรี ผู้ศึกษาได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาเกษตรและเกษตร
พฤกษศาสตร์และศูนย์เครื่องมือวิจัยทางเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่เอื้อเพื่อสถานที่ทำวิจัย และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ เกษชกร ดร.บุญชู ศรีตุลาภิษฐ์
อาจารย์ที่ปรึกษา และ อาจารย์ เกษชกร ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณา
ให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็น
ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ นิสิตปริญญาโทและปริญญาเอก รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเกษตรและเกษตร
และเกษตรพฤกษศาสตร์ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือให้โครงการปริญญาโทและปริญญาตรีสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทและปริญญาตรีที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทและปริญญาตรีที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ

| เรื่อง | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อปริญญานิพนธ์ภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อปริญญานิพนธ์ภาษาอังกฤษ..... | จ |
| คำนำ..... | ฉ |
| กิตติกรรมประกาศ | ช |
| สารบัญ..... | ซ |
| สารบัญรูปภาพ | ฅ |
| สารบัญตาราง | ญ |
| สารบัญแผนภาพ..... | ฎ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ | 1 |
| ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา | 1 |
| วัตถุประสงค์การวิจัย..... | 2 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| 2 ทัศนวิสัยวรรณกรรม | 2 |
| 2.1 โรคเบาหวาน แอลฟา-กลูโคซิเดสและสารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส | 2 |
| 2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส..... | 5 |
| 2.3 เอื้องจำปา..... | 6 |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 8 |
| 3.1 พิษสมุนไพรรูป อนุกรม สารเคมี และเครื่องมือ | 8 |
| 3.2 การเตรียมสิ่งสกัดหยาบ | 10 |
| 3.3 การสกัดสารบริสุทธิ์..... | 10 |
| 3.4 การวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี NMR spectroscopy | 16 |
| 3.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส..... | 16 |

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ (ต่อ)

| เรื่อง | หน้า |
|---|------|
| 4 ผลการวิจัย | 23 |
| 4.1 ผลการสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นเอื้องจำปา..... | 23 |
| 4.2 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค NMR spectroscopy | 23 |
| 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส | 28 |
| 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย..... | 29 |
| รายการอ้างอิง | 30 |
| ภาคผนวก..... | 33 |

สารบัญรูปภาพ

| รูปที่ | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1 แสดงภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวาน..... | 3 |
| รูปที่ 2 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส | 4 |
| รูปที่ 3 แสดงการทำงานของสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส บนเยื่อของผนังลำไส้เล็ก..... | 5 |
| รูปที่ 4 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ PNP-G | 5 |
| รูปที่ 5 แสดงลักษณะอิงอาศัยของต้นเอื้องจำปา..... | 6 |
| รูปที่ 6 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดอก ลำต้น และใบของเอื้องจำปา | 6 |
| รูปที่ 7 แสดง รูปแบบการหยดสารละลายใน microtiterplate ที่ 1..... | 18 |
| รูปที่ 8 แสดง รูปแบบการหยดสารละลายใน microtiterplate ที่ 2-4 | 22 |
| รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM1 DM2 และ DM3 | 24 |
| รูปที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM1 | 25 |
| รูปที่ 11 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM2 | 27 |
| รูปที่ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM3 | 28 |

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

**The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.**

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 แสดง อัตราการส่วของตัวทำละลายที่ใช้ในการทำ quick column chromatography..... | 10 |
| ตารางที่ 2 แสดงการรวม fraction จากการสกัดหยาบด้วยวิธี quick column chromatography | 11 |
| ตารางที่ 3 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction D | 11 |
| ตารางที่ 4 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction D5 | 12 |
| ตารางที่ 5 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction E..... | 13 |
| ตารางที่ 6 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction Ea..... | 14 |
| ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 1..... | 25 |
| ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 2..... | 26 |
| ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 3..... | 27 |



| แผนภาพที่ | หน้า |
|--|------|
| แผนภาพที่ 1 แสดงการสกัดสารจากต้นเอื้องจำปา..... | 15 |
| แผนภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการทำ α -glucosidase inhibition assay..... | 17 |

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
 The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยเบาหวานมีการเพิ่มขึ้นอย่างมากและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี ค.ศ. 2017 มีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกจำนวน 425 ล้านคน (1) และในปี ค.ศ. 2015 ประชากรประมาณ 1.6 ล้านคนต้องเสียชีวิตด้วยโรคเบาหวาน โดยส่วนใหญ่ที่พบมักจะเป็นผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองร้อยละ 90 ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมด ซึ่งมีสาเหตุมาจากอินซูลินที่หลั่งออกมาไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) (2,3) ส่งผลให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่สามารถควบคุมน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในระดับปกติได้และนำไปสู่การเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อชีวิต เช่น หัวใจวาย ไตวาย ตาบอด และระบบประสาทถูกทำลาย ผู้ป่วยจึงต้องได้รับการรักษาเพื่อควบคุมและป้องกันภาวะแทรกซ้อนดังกล่าว ยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยเบาหวานมีด้วยกันหลายกลุ่ม ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะยาในกลุ่มตัวยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase inhibitor) (3)

แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่หลั่งออกมาบริเวณลำไส้เล็ก โดยทำหน้าที่ย่อยสารประเภทคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เพื่อดูดซึมและใช้เป็นแหล่งสร้างพลังงานของร่างกาย ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จะสามารถยืดเวลาในการย่อยสารประเภทคาร์โบไฮเดรตออกไป เป็นผลให้อัตราการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสลดลง และสามารถควบคุมน้ำตาลในเลือดให้กลับมาอยู่ในระดับปกติได้ ตัวอย่างของยาที่มีกลไกยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดส คือ acarbose voglibose และ miglitol (4,5)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า พืชในสกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำมาศึกษาและวิจัยเป็นจำนวนมาก พบว่า พืชสกุลนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งเกี่ยวข้องกับ การลดระดับน้ำตาลสำหรับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง (6) เช่น *Dendrobium loddigesii* ที่ใช้เป็นสมุนไพร ในการแพทย์แผนจีนสำหรับรักษาโรคเบาหวานชนิดที่สอง โดยสารสกัดบริสุทธิ์จากลำต้นพบสารกลุ่ม polyphenols 5 ชนิดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้แก่ crepidatuol และสารใหม่ loddigesiinols G-J (7) รวมถึงสารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium tortile* พบสารสำคัญ 7 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยพบสาร Dendrofalconerol A ออกฤทธิ์เป็น strong α - glucosidase inhibitory เมื่อเปรียบเทียบกับ acarbose (8) และสารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium devonianum* พบสารใหม่ในกลุ่ม flavonol glycoside และ gigantol มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่า acarbose (9)

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จากการที่ผู้ดำเนินโครงการทำการทดสอบเบื้องต้น (Preliminary test) โดยการนำสารสกัดหยาบ (crude extract) ของเอื้องจำปา (*Dendrobium moschatum*) มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สารสกัดหยาบของเอื้องจำปาที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้มากกว่าร้อยละ 80 ดังนั้นผู้ดำเนินโครงการจึงมีความสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากเอื้องจำปา รวมทั้งทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งคาดหวังว่าน่าจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยาต่อไปได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีและพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์จากเอื้องจำปา
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์จากเอื้องจำปา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีและโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้จากเอื้องจำปา
2. ได้ข้อมูลการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์จากเอื้องจำปา

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

2.1 โรคเบาหวาน แอลฟา-กลูโคซิเดสและสารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส

เบาหวาน

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบการเผาผลาญอาหาร (metabolic disorders) ทำให้ระดับกลูโคสในเลือดมีระดับสูงกว่าปกติ โดยความผิดปกตินี้สามารถแบ่งหลักๆ ได้ 2 ชนิด ได้แก่ เบาหวานชนิดที่ 1 ซึ่งเกิดจากการที่ร่างกายไม่สามารถหลั่งอินซูลินจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนได้ และเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งเป็นผลมาจากการที่อินซูลินที่ร่างกายหลั่งออกมาไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) หรือกล่าวได้ว่า เนื้อเยื่อเป้าหมายไม่สามารถตอบสนองต่อคำสั่งของอินซูลินเพื่อนำกลูโคสเข้าเซลล์ได้อย่างเหมาะสม ซึ่งร้อยละ 90 ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมดที่พบมักจะเป็นผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้ (10)

การที่ผู้ป่วยเบาหวานมีการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด จะส่งผลให้ระบบการเผาผลาญอาหารส่วนอื่นๆ ของร่างกายเปลี่ยนแปลงไปและนำไปสู่การทำลายของหลอดเลือดเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ได้ (รูปที่ 1) ดังนี้

- โรคหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มขึ้นจะทำให้หลอดเลือดขนาดใหญ่เกิด

บทความฉบับเต็มทางข้อมูลการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา (Athens Dileosiri) ทำให้ข้อมูลถูกต้องและเป็นประโยชน์

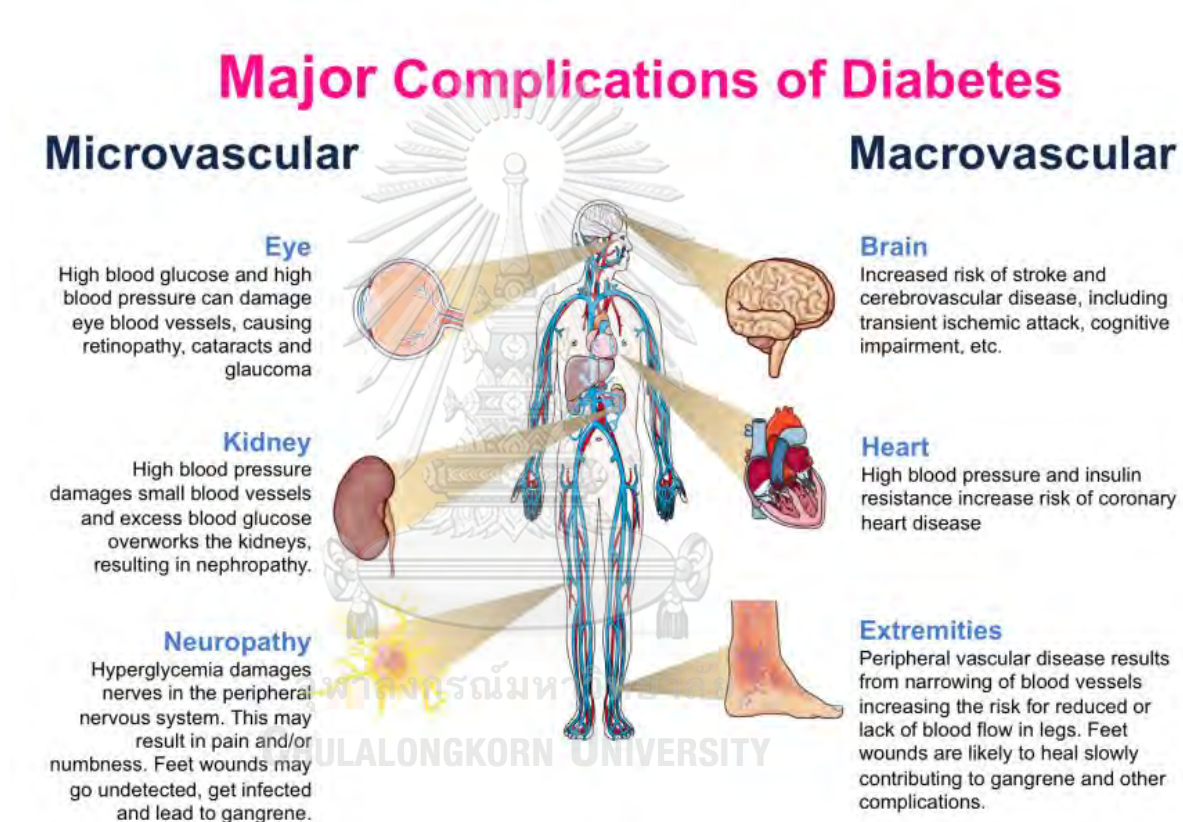
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จนไม่สามารถส่งเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้เพียงพอและทำให้เกิดภาวะหัวใจวาย หรือหากเกิดที่สมองก็จะส่งผลให้เกิดภาวะหลอดเลือดสมอง (Stroke) หรือถ้าเกิดที่หลอดเลือดส่วนปลายก็จะทำให้แผลหายช้าหรือเกิดภาวะกล้ามเนื้อส่วนปลายขาดเลือดได้

- ภาวะเบาหวานขึ้นจอตา ซึ่งเกิดจากหลอดเลือดขนาดเล็กบริเวณเรตินาถูกทำลาย ทำให้ผู้ป่วยมีปัญหาด้านการมองเห็น และอาจลุกลามทำให้ตาบอดได้ในที่สุด
- ภาวะไตวาย ซึ่งเกิดจากหลอดเลือดขนาดเล็กในไตถูกทำลาย ซึ่งอาจรุนแรงจนนำไปสู่การเสียชีวิตได้
- ภาวะขาบริเวณปลายมือปลายเท้า ซึ่งเกิดจากระบบประสาทถูกทำลายจากการที่หลอดเลือดบริเวณเส้นประสาทได้รับเสียหาย (11)



รูปที่ 1 แสดงภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวาน (12)

ผู้ป่วยจึงต้องได้รับการรักษาเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและป้องกันภาวะแทรกซ้อนดังกล่าว โดยยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยเบาหวานมีด้วยกัน 3 กลุ่ม ตามกลไกการออกฤทธิ์ ได้แก่

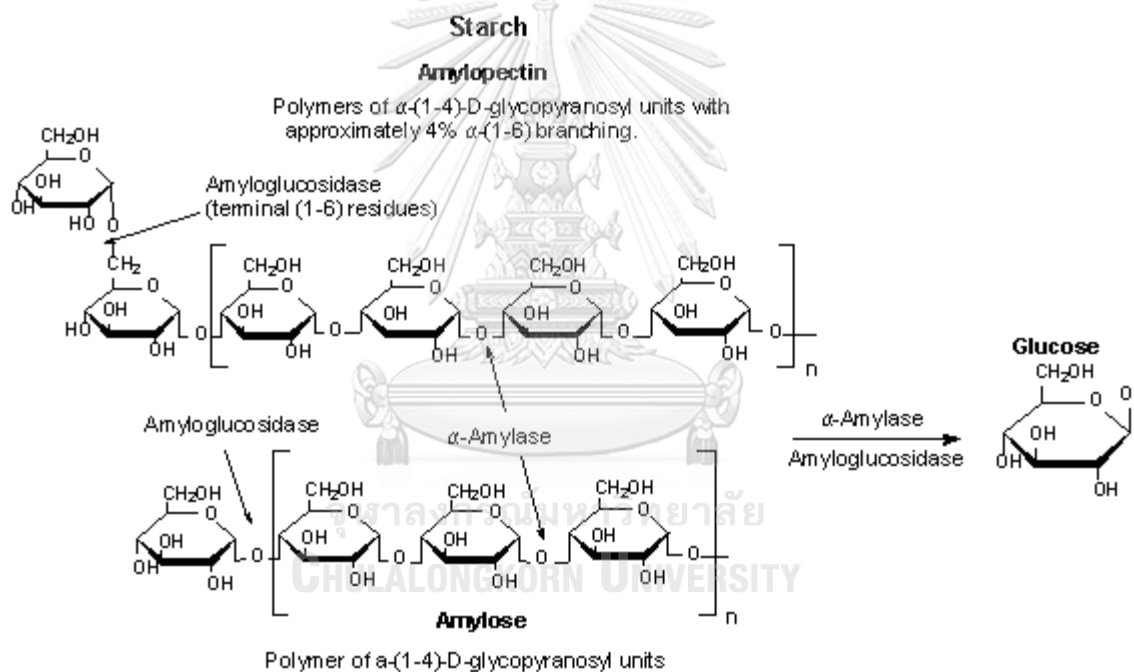
1. กลุ่มที่เพิ่มการหลั่งของอินซูลินจากตับอ่อน (insulin secretagogue) เช่น glipizide, repaglinide
2. กลุ่มที่ลดการดื้อต่ออินซูลิน (insulin sensitizer) เช่น metformin, pioglitazone
3. กลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase inhibitor) เช่น acarbose, miglitol (3)

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

แอลฟา-กลูโคซิเดสและสารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส

แอลฟา-กลูโคซิเดส เป็นเอนไซม์ที่อยู่ที่ยึดบุผนังลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ทำลายพันธะแอลฟาไกลโคซิดิก เพื่อย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (รูปที่ 2) (13) โดยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตจะประกอบไปด้วยแป้งประมาณร้อยละ 60 และน้ำตาลซูโครสประมาณ ร้อยละ 30 การย่อยสลายของสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตประเภทแป้งจะเริ่มจากการถูกไฮโดรไลซิสที่ลำไส้เล็ก ส่วนต้นและส่วนกลางโดยเอนไซม์อะไมเลสจากตับอ่อนให้กลายเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharides) และน้ำตาลโมเลกุลคู่ ก่อนจะถูกเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสไฮโดรไลซิสอีกครั้งให้กลายเป็นกลูโคส ส่วนน้ำตาลซูโครสจะถูกไฮโดรไลซิสเพียงครั้งเดียวโดยเอนไซม์ซูเครสซึ่งเป็นแอลฟา-กลูโคซิเดสแบบหนึ่ง เพื่อเปลี่ยนเป็นกลูโคสและฟรุกโทส จากนั้นกลูโคสที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบ หมุนเวียนเลือดและไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายผ่านการทำงานของอินซูลิน แต่สำหรับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จะไม่สามารถนำกลูโคสเข้าสู่เนื้อเยื่อเป้าหมายได้เนื่องจากร่างกายสร้างอินซูลินไม่เพียงพอหรือมีภาวะดื้อต่อ อินซูลิน ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกลูโคส จะทำให้ลดการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดและเป็นผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ (14)



รูปที่ 2 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (15)

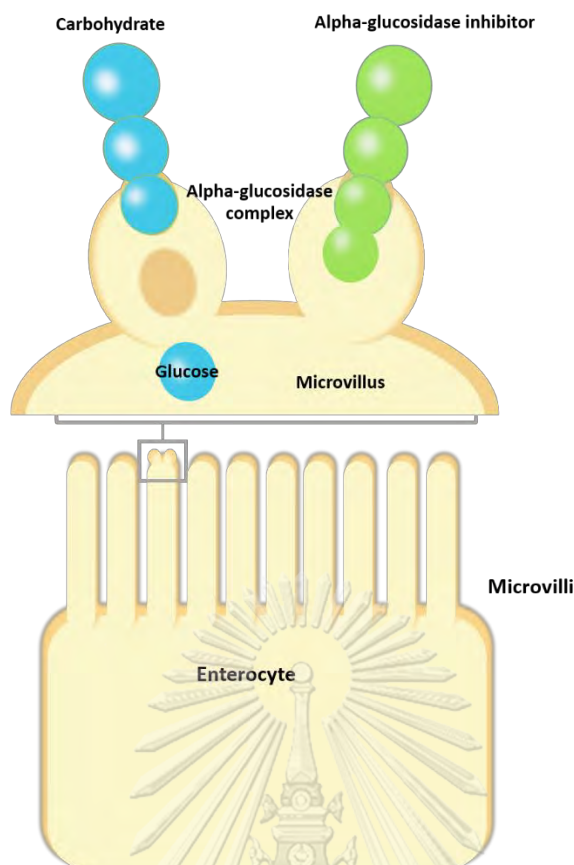
สารยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำหน้าที่ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสแบบแข่งขันโดยจะเข้าไปแย่งจับกับตัวรับของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสแทนที่คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ (รูปที่ 3) (16) ทำให้คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่เหล่านี้ถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสได้น้อยลง นั้นหมายความว่าสารที่ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสจะช่วยชะลอการดูดซึมของกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดเพียงพอที่จะให้เนื้อเยื่อเป้าหมายตอบสนองต่ออินซูลินเพื่อนำกลูโคสเข้าเซลล์ได้ (17) ซึ่งในปัจจุบันสารที่ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสและนำมาใช้เป็นยาด้านเบาหวานที่ได้แก่ acarbose, voglibose และ miglitol

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



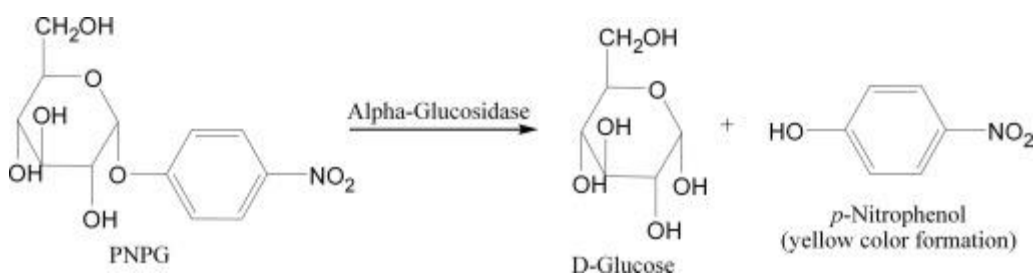
รูปที่ 3 แสดงการทำงานของสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส บนเยื่อของผนังลำไส้เล็ก

2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตรวจวัดจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส กับ p-Nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNP-G) ที่เป็น substrate ได้ p-nitrophenol ออกมา ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง (รูปที่ 4) สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ได้ เมื่อมีสารยับยั้งเอนไซม์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาน้อยลง เป็นผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไป และสามารถคำนวณ%inhibition ได้จากสมการที่ 1 ซึ่งหลักการและขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นไปตามงานวิจัยของ Ahmad Gholamhoseinian และคณะ ในปี 2008 (18)

สมการที่ 1 แสดงการคำนวณ % α -glucosidase inhibitory activity(18)

$$\%inhibition = (OD_{control} - OD_{test}) / OD_{control} \times 100$$



รูปที่ 4 แสดงกลไกทางชีวเคมีของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ p-Nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNP-G) (19)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

2.3 เอื้องจำปา

เอื้องจำปา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw. (รูปที่ 5-6) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในสกุลหวาย (*Dendrobium*) วงศ์ Orchidaceae สามารถพบได้ทั่วไปในป่าดิบแล้งเกือบทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กระจายพันธุ์ในหลายประเทศ อาทิ เนปาล ภูฏาน อินเดีย พม่า และลาว เอื้องจำปามีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชอิงอาศัย (epiphyte) ต้นเป็นลำกลม ยาวประมาณ 1 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1-1.5 เซนติเมตร ลักษณะของใบจะเป็นรูปไข่แกมรี กว้าง 2.5-3 เซนติเมตร และยาว 8-12 เซนติเมตร ปลายแหลมมน แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียว มีใบตลอดต้น ส่วนดอก จะมีลักษณะเป็นช่อดอกสีเหลืองกลีบปากมีขนนุ่มทั้งสองด้านแต่มีสีม่วงดำ ลักษณะพิเศษคือ ขอบกลีบม้วนงอขึ้นเป็นกระพุ่ม มีกลิ่นหอมอ่อนๆคล้ายเครื่องเทศ โดยจะออกดอกบริเวณตามข้อใกล้ยอด แต่ละช่อมีประมาณ 5-12 ดอก ซึ่งเมื่อบานเต็มที่ดอกจะมีขนาดกว้างประมาณ 4 เซนติเมตร บานทนประมาณ 4-5 วัน ฤดูที่ออกดอกมากคือช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน (19,20)



รูปที่ 5 แสดงลักษณะอิงอาศัยของต้นเอื้องจำปา (21)



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
รูปที่ 6 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดอก ลำต้น และใบของเอื้องจำปา
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิตินันท์ของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

พฤษเคมีของเอื้องจำปา

จากการสืบค้นฐานข้อมูลพบว่า เคยมีการนำเอื้องจำปาทั้งต้น มาทำการสกัดแยกสารบริสุทธิ์พบสารสำคัญในกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ moscatilin (22) แต่ยังไม่เคยมีรายงานการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นเอื้องจำปามาก่อน

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

1. งานวิจัยของ Yu Lu และคณะ ในปี 2014 สารสกัดจากลำต้น *Dendrobium loddigesii* พบสารกลุ่ม polyphenols 5 ชนิดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้แก่ crepidatuol และสารใหม่ loddigesiinols G-J (7)
2. งานวิจัยของ Ling Lic, Yegao Chen และคณะ ในปี 2014 พบว่า สารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium devonianum* พบสารใหม่ในกลุ่ม flavonol glycoside และ gigantol มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่า acarbose (9)
3. งานวิจัยของ Boonchoo Sritularak และคณะ ในปี 2016 พบว่า สารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium tortile* พบสารสำคัญ 7 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส โดยพบสาร Dendrofalconerol A ออกฤทธิ์เป็น strong α -glucosidase inhibitory เมื่อเปรียบเทียบกับ acarbose (8)
4. งานวิจัยของ Boonchoo Sritularak และคณะ ในปี 2017 พบว่า สารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium formosum* พบสาร 5-methoxy-7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthrenequinone มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (23)
5. งานวิจัยของ Boonchoo Sritularak และคณะ ในปี 2018 พบว่า สารสกัดจากทั้งต้นของ *Dendrobium infundibulum* พบสารสำคัญ batataasin III และ dendrosinen B ที่ออกฤทธิ์เป็น strong α -glucosidase inhibitory activity (24)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชสมุนไพร อุปรกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ

พืชสมุนไพร

เอื้องจำปา *Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw. ซื้อมาจากตลาดนัดจตุจักร ส่วนที่นำมาใช้ คือ ส่วนเหนือดิน น้ำหนักแห้ง 1.3 กิโลกรัม แห้งสกัดด้วย Methanol ได้เป็นสิ่งสกัดหยาบ น้ำหนัก 109.84 กรัม

อุปกรณ์

1. Round bottom flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
2. Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร 500 มิลลิลิตร และ 1,000 มิลลิลิตร
3. Cylinder ขนาด 10 มิลลิลิตร 100 มิลลิลิตร และ 1,000 มิลลิลิตร
4. Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร 250 มิลลิลิตร 500 มิลลิลิตร และ 1,000 มิลลิลิตร
5. Sintered glass funnel เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 นิ้ว
6. Glass column เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว และ 2 นิ้ว
7. Separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
8. TLC tank
9. Silica gel 60 F254 บนแผ่น aluminium สำหรับ TLC; Merck®
10. Capillary tubes
11. Forceps
12. กระจกชั่ง
13. สำลี
14. ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร
15. Aluminium foil
16. Pasteur pipette
17. ซ้อนตักสาร
18. 96-well microtiterplate
19. Micropipette tip ขนาด 100 ไมโครลิตร 200 ไมโครลิตร และ 1,000 ไมโครลิตร
20. Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารเคมี

1. Methanol
2. น้ำกลั่น
3. Butanol
4. Ethyl acetate
5. Hexane
6. Silica gel 1.09385 (Merck, Kieselgel 60, 230-400 mesh)
7. Silica gel 1.07734 (Merck, Kieselgel 60, 70-320 mesh)
8. Sephadex LH 20
9. Acetone- d_6
10. Monobasic potassium phosphate (KH_2PO_4)
11. Dibasic potassium phosphate (K_2HPO_4)
12. *p*-Nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNP-G) จากบริษัท SIGMA ALDRICH®
Lot # BCBV6233
13. สารละลาย α -glucosidase จากบริษัท SIGMA_ALDRICH® Lot #050M7425
14. Acarbose จากบริษัท SIGMA ALDRICH® Lot #SLBS2172V
15. Sodium carbonate (Na_2CO_3)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (mettler toledo® รุ่น AG135)
2. Rotary evaporator (Buchi rotavapor R-215)
3. Vacuum pump (Buchi V-700)
4. Vacuum controller (Buchi V-850)
5. เครื่องกลั่นสารเคมี
6. เครื่องกลั่นน้ำ (Thermo SCIENTIFIC รุ่น Pacific TII 12 UV)
7. เครื่องฉายแสง UV
8. NMR spectrometer
9. Micropipette ขนาด 2-20 ไมโครลิตร 20-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร
10. Multichannel pipette 20-200 ไมโครลิตร (Transferpette®-8)
11. Microplate reader (Perkin-Elmer Victor3® 1420 multilabel counter)
12. เครื่อง Vortex®
13. pH meter (Cyberbcn 510^{PC})

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

**The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.**

3.2 การเตรียมสิ่งสกัดหยาบ

นำสิ่งสกัดหยาบเอื้องจำปา 109.84 กรัม มาทำการสกัดโดยใช้วิธี partition ด้วย ethyl acetate น้ำ และ butanol ตามลำดับ ได้สิ่งสกัดหยาบในชั้นของ ethyl acetate 25.71 กรัม

3.3 การสกัดสารบริสุทธิ์

นำสารสกัดหยาบในชั้นของ ethyl acetate และ butanol ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นนำไปทดสอบด้วยวิธี thin layer chromatography (TLC) เพื่อหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) ที่เหมาะสม และสังเกตการเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC พบว่า ในชั้น ethyl acetate มี TLC band ของสารน่าสนใจจำนวนมาก ในระบบตัวทำละลาย ethyl acetate และ hexane ในขณะที่ชั้น butanol พบ TLC band ของสารที่น้อยกว่า ดังนั้นจึงนำชั้นของ ethyl acetate มาทำการสกัดแยกสารบริสุทธิ์ต่อไป ด้วยวิธี quick column chromatography โดยนำสิ่งสกัดหยาบในชั้นของ ethyl acetate 25.71 กรัม มาผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ silica gel 1.07734 และใช้ระบบตัวทำละลายข้างต้น โดยเริ่มจากการใช้ hexane 100% แล้วค่อยๆ เพิ่มสัดส่วนของ ethyl acetate ขึ้นทีละน้อยจนเป็น ethyl acetate 100% และทำการชะละลายสารที่เหลือทั้งหมดในคอลัมน์ด้วย methanol โดยรับ fraction ละประมาณ 200 มิลลิลิตร แล้วนำแต่ละ fraction ที่รับมาไประเหยแห้ง จากนั้นนำไปทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 3 : 7 โดยที่การปรับอัตราส่วนของตัวทำละลายในคอลัมน์พิจารณาจากการเคลื่อนที่ของสารในคอลัมน์และการเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC ตามที่แสดงในตารางที่ 1

จากการสกัดหยาบด้วยวิธี quick column chromatography ได้ทั้งหมด 40 fractions จากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC band ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้เป็น 8 fractions (A-H) ตามที่แสดงในตารางที่ 2 ตารางที่ 1 แสดง อัตราการส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ในการทำ quick column chromatography

| Fraction | อัตราส่วนตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane |
|----------|--|
| 1-2 | Hexane 100% |
| 3-7 | Ethyl acetate 10% : Hexane 90% |
| 8-11 | Ethyl acetate 20% : Hexane 80% |
| 12-19 | Ethyl acetate 30% : Hexane 70% |
| 20-26 | Ethyl acetate 40% : Hexane 60% |
| 27-28 | Ethyl acetate 50% : Hexane 50% |
| 29-30 | Ethyl acetate 60% : Hexane 40% |
| 31-32 | Ethyl acetate 70% : Hexane 30% |
| 33-34 | Ethyl acetate 80% : Hexane 20% |
| 35-36 | Ethyl acetate 90% : Hexane 10% |
| 37-38 | Ethyl acetate 100% |
| 39-40 | Methanol 100% |

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

ตารางที่ 2 แสดงการรวม fraction จากการสกัดหยาบด้วยวิธี quick column chromatography

| Fraction | น้ำหนักสาร (กรัม) |
|-----------|-------------------|
| A (1-4) | 0.0749 |
| B (5-9) | 2.0029 |
| C (10-13) | 2.6142 |
| D (14-21) | 2.2561 |
| E (22-29) | 1.5398 |
| F (30-34) | 1.5698 |
| G (35-38) | 1.2095 |
| H (39-40) | 13.0642 |

ทำการสกัดสารด้วยวิธี column chromatography โดยการนำ fraction D น้ำหนัก 2.2561 กรัม ผสมกับ silica gel 1.09385 จนเป็นผงแห้ง มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ silica gel 1.07734 และใช้ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane โดยเริ่มจากการใช้ hexane 100% แล้วค่อยๆ เพิ่มสัดส่วนของ ethyl acetate ขึ้นทีละน้อยจนเป็น ethyl acetate 100% โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 37 fractions โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 3 : 7 จากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้เป็น 10 fraction (D1-D10) ตามที่แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction D

| Fraction | น้ำหนักสาร (มิลลิกรัม) |
|------------|------------------------|
| D1 (1-2) | 18.4 |
| D2 (3-5) | 16.4 |
| D3 (6) | 78.0 |
| D4 (7-8) | 947.8 |
| D5 (9-14) | 334.8 |
| D6 (15-20) | 178.1 |
| D7 (21-23) | 209.6 |
| D8 (24-32) | 140.7 |
| D9 (33-36) | 48.0 |
| D10 (37) | 135.8 |

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

นำ fraction D5 น้ำหนัก 334.8 มิลลิกรัม มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ sephadex LH 20 และใช้ระบบตัวทำละลายเป็น methanol 100% ในทุก fraction โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 41 fraction โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 3 : 7 จากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้เป็น 11 fractions (D5.1-D5.11) ตามที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction D5

| Fraction | น้ำหนักสาร (มิลลิกรัม) |
|---------------|------------------------|
| D5.1 (1-9) | 47.97 |
| D5.2 (10-12) | 96.2 |
| D5.3 (13-14) | 93.11 |
| D5.4 (15-19) | 48.93 |
| D5.5 (20-22) | 41.01 |
| D5.6 (23-28) | 3.41 |
| D5.7 (29) | 0.71 |
| D5.8 (30-33) | 5.1 |
| D5.9 (34-37) | 9.42 |
| D5.10 (38-39) | 7.7 |
| D5.11 (40-41) | 3.42 |

สังเกตลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction เพื่อเลือก fraction ที่มีลักษณะของ TLC band เป็น spot เดียว ซึ่งหมายความว่า fraction นั้นอาจเป็นสารที่บริสุทธิ์ โดย fraction ที่มีลักษณะของ TLC band เป็น spot เดียวได้แก่ fraction D5.9 กำหนดให้เป็น สารDM1 ซึ่งจะนำไปพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี NMR spectroscopy ต่อไป

นำ fraction E น้ำหนัก 1.5398 กรัม ผสมกับ silica gel 1.09385 จนเป็นผงแห้ง มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ silica gel 1.07734 และใช้ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane โดยเริ่มจากการใช้ hexane 100% แล้วค่อยๆ เพิ่มสัดส่วนของ ethyl acetate ขึ้นทีละน้อยจนเป็น ethyl acetate 100% โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 33 fraction โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ใน

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สัดส่วน 3 : 7 จากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้เป็น 16 fractions (E1-E16) ตามที่แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction E

| Fraction | น้ำหนักสาร (มิลลิกรัม) |
|-------------|------------------------|
| E1 (1-2) | 4.1 |
| E2 (3) | 1.4 |
| E3 (4) | 6.6 |
| E4 (5) | 2.9 |
| E5 (6) | 5.1 |
| E6 (7-8) | 17.5 |
| E7 (9-11) | 10.0 |
| E8 (12-13) | 21.3 |
| E9 (14-15) | 34.8 |
| E10 (16-17) | 177.9 |
| E11 (18) | 208.2 |
| E12 (19) | 130.6 |
| E13 (20-22) | 221.9 |
| E14 (23-26) | 149.3 |
| E15 (27-30) | 150.9 |
| E16 (31-33) | 367.5 |

นำ fraction E11 น้ำหนัก 208.2 มิลลิกรัม มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ sephadex LH 20 และใช้ระบบตัวทำละลายเป็น methanol 100% ในทุก fraction โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 45 fractions โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้จะนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 1 : 1

นำ fraction E12 น้ำหนัก 130.6 มิลลิกรัม มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ sephadex LH 20 และใช้ระบบตัวทำละลายเป็น methanol 100% ในทุก fraction โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 16 fractions โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้จะนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 1 : 1

บทความและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สังเกตลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction พบว่า fraction E11.22-E11.25 และ E12.6 มี TLC band ใกล้เคียงกัน และมี spot ของสารที่น่าสนใจ แต่ยังไม่ขึ้นเป็น spot เดียว จึงนำมาสารมารวมกันเป็น fraction Ea แล้วนำไปสกัดด้วย column chromatography ที่บรรจุ silica gel 1.07734 และใช้ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ปรับอัตราส่วนตัวทำละลายและรับแต่ละ fraction ตามเดิม ได้ 44 fractions โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้จะนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 1 : 1 จากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้เป็น 12 fractions (Ea1-Ea12) ตามที่แสดงในตารางที่ 6 สังเกตลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction พบว่า Ea3 เป็น spot เดียว ซึ่งหมายความว่า fraction นั้นอาจเป็นสารที่บริสุทธิ์ จึงนำ fraction Ea3 น้ำหนักสาร 8.43 มิลลิกรัม กำหนดให้เป็น สารDM2 ไปพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี NMR spectroscopy ต่อไป

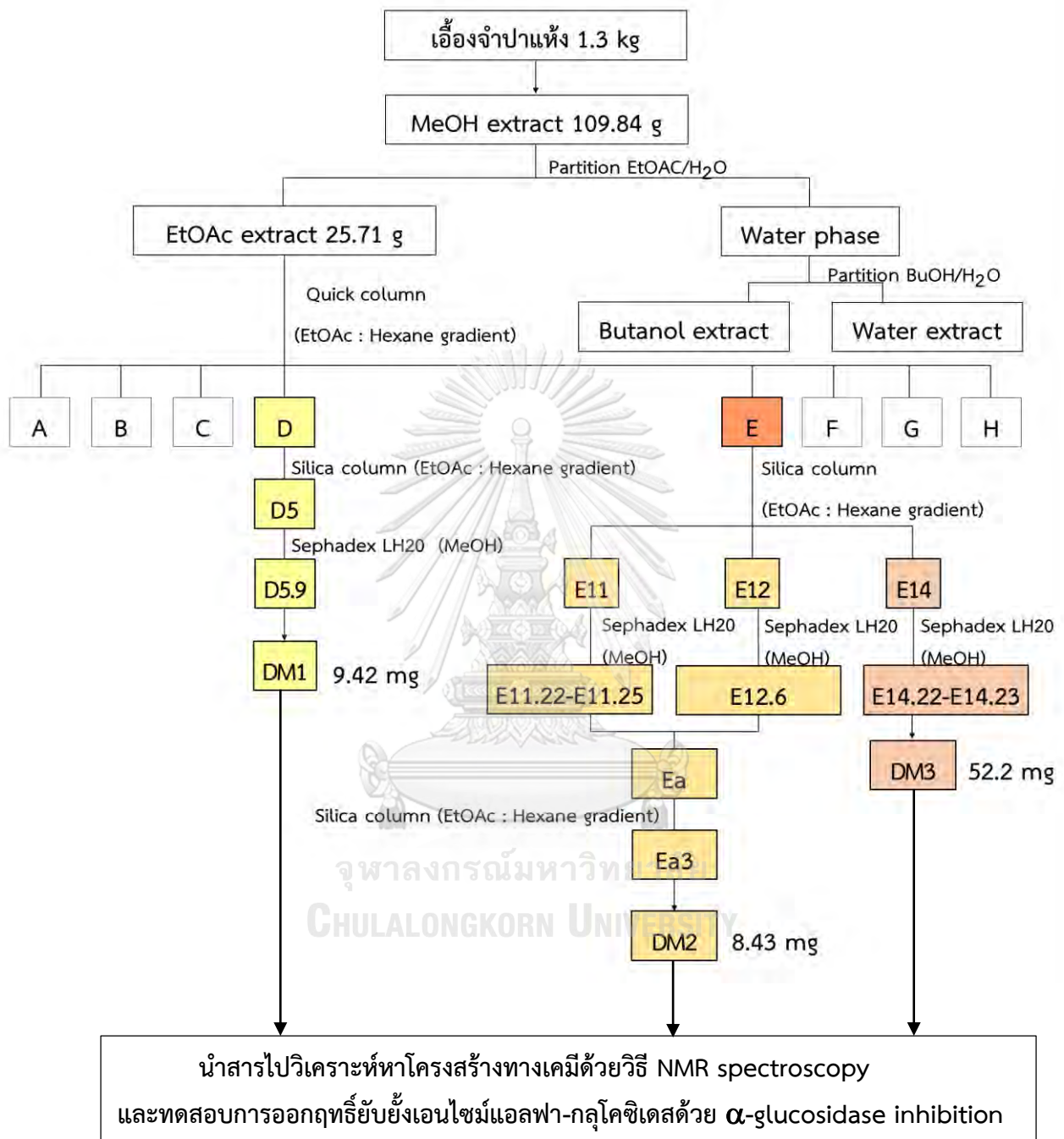
ตารางที่ 6 แสดงการรวม fraction ที่ได้จาก fraction Ea

| Fraction | น้ำหนักสาร (มิลลิกรัม) |
|----------|------------------------|
| Ea1 | 6.52 |
| Ea2 | 25.39 |
| Ea3 | 8.43 |
| Ea4 | 4.82 |
| Ea5 | 1.16 |
| Ea6 | 1.19 |
| Ea7 | 39.674 |
| Ea8 | 0.99 |
| Ea9 | 2.46 |
| Ea10 | 2.86 |
| Ea11 | 0.7 |
| Ea12 | 3.05 |

นำ fraction E14 น้ำหนัก 149.3 มิลลิกรัม มาผ่าน column chromatography ที่บรรจุ sephadex LH 20 และใช้ระบบตัวทำละลายเป็น methanol 100% ในทุก fraction โดยรับ fraction ละประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดรับ fraction ขนาด 100 มิลลิลิตร ได้เป็น 38 fractions โดยแต่ละ fraction ที่รับมาได้จะนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำแต่ละ fraction ที่แห้งแล้วไปทำการทดสอบด้วยวิธี TLC ด้วยระบบตัวทำละลาย ethyl acetate : hexane ในสัดส่วน 1 : 1 สังเกตลักษณะ TLC band ของแต่ละ fraction เพื่อเลือก fraction ที่มีลักษณะของ TLC band เป็น spot เดียว ซึ่งหมายความว่า **บทความและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) fraction นั้นอาจเป็นสารที่บริสุทธิ์ โดย fraction ที่มีลักษณะของ TLC band เป็น spot เดียวได้แก่ fraction เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

E14.22 และ E14.23 ทำการรวม fraction ได้เป็น สารDM3 น้ำหนักสาร 52.2 มิลลิกรัมแล้วนำไปพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี NMR spectroscopy ต่อไป



แผนภาพที่ 1 แสดงการสกัดสารจากต้นเอื้องจำปา

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.4 การวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี NMR spectroscopy

แบ่ง fraction DM1 DM2 และ DM3 ที่ระเหยแห้งมาแล้วเล็กน้อย นำไปละลายใน Acetone- d_6 สำหรับวิเคราะห์ผลด้วยวิธี NMR spectroscopy แล้วนำ spectrum ที่ได้มาวิเคราะห์หาลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารดังกล่าว และนำไปตรวจสอบเปรียบเทียบกับสารที่เคยมีการรายงานในงานวิจัยจากปริทัศน์วรรณกรรม

3.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

α -glucosidase inhibition assay

เตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ ดังนี้

1. สารละลาย 50 มิลลิโมล Phosphate buffer (pH 6.8) 100 มิลลิลิตร
 โดยการชั่ง 1. KH_2PO_4 0.6805 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร
 2. K_2HPO_4 0.8709 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร
 ผสมสารทั้ง 2 เข้าด้วยกัน เติมน้ำ 80 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH จนได้ pH 6.8 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
2. สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ p-Nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNP-G)
 เตรียมโดยชั่งสาร PNP-G 6.025 มิลลิกรัม ละลายด้วย phosphate buffer 10 มิลลิลิตร
3. สารละลาย α -glucosidase 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร
 เตรียมโดย α -glucosidase 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จำนวน 6 ไมโครลิตร เติมน้ำ phosphate buffer 1.2 มิลลิลิตร
4. สารละลายมาตรฐาน Acarbose ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 เตรียมโดยชั่งสาร 40 มิลลิกรัม ละลายใน DMSO 100 มิลลิลิตร
5. สารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ Sodium carbonate (Na_2CO_3)
 เตรียมโดยชั่งสาร 1.060 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร

เตรียมสารตัวอย่าง

1. ชั่งสารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม ใส่ Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำ DMSO 500 ไมโครลิตร จะได้สารตัวอย่างความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ปิเปตสารตัวอย่างที่เตรียมได้ในข้อ 2 มา 250 ไมโครลิตร เติมน้ำ 250 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่างความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ลำดับการใส่สาร

1. Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร

2. Acarbose/Sample/DMSO 10 ไมโครลิตร

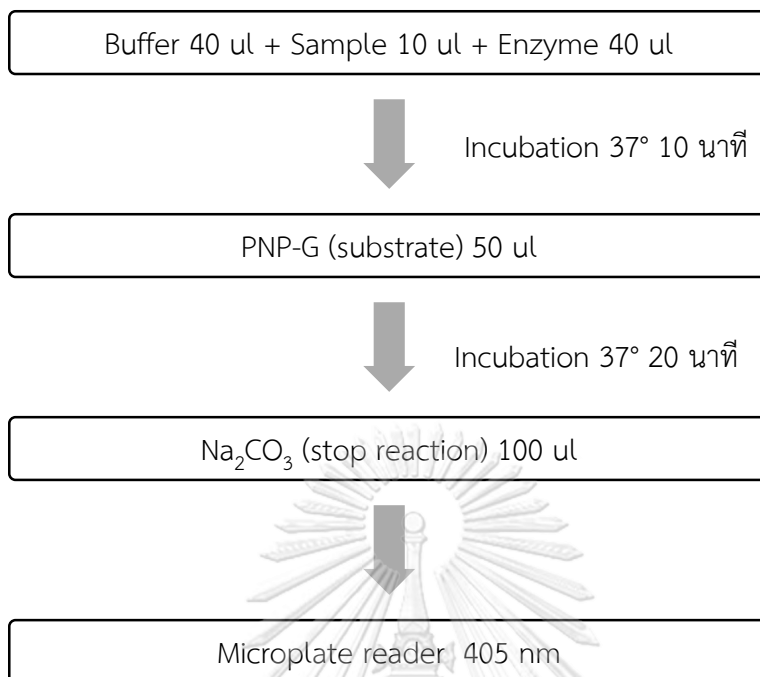
3. Enzyme/Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร

เป็นแฟ้มข้อมูลของนักศึกษาของ โครงการงานปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4. PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร

ขั้นตอนการทำ α -glucosidase inhibition assay

แผนภาพที่ 2 แสดง ขั้นตอนการทำ α -glucosidase inhibition assay

นำ micropipette และ multichannel pipette ดูดสารละลายที่เตรียมไว้ หยดใส่ลงใน 96-well microtiterplate แต่ละหลุม ดังนี้

Microtiterplate ที่ 1 (รูปที่ 7)

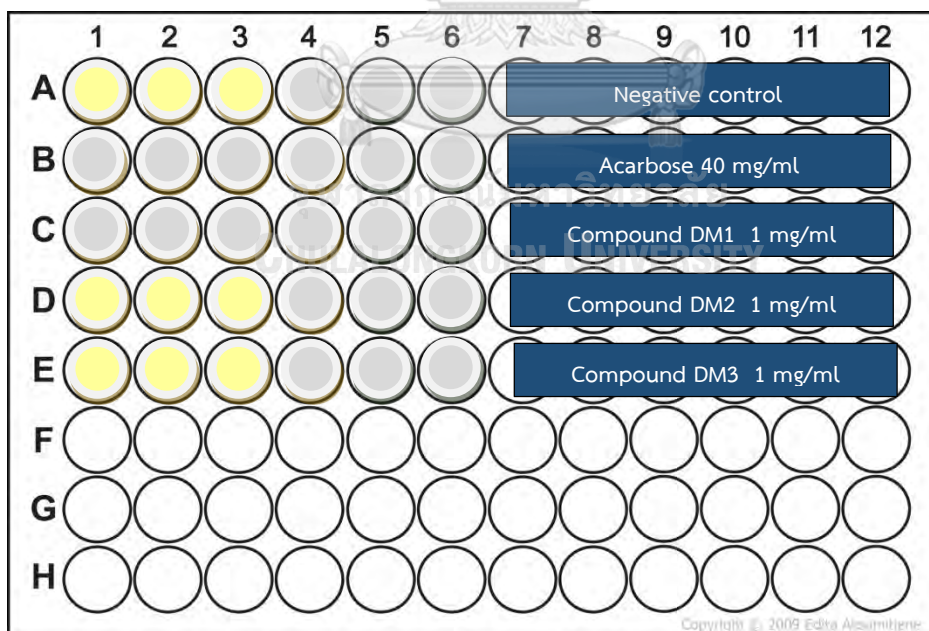
- หลุม A1-A6 เป็น negative control
 - Test : A1-A3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร DMSO 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
 - Blank : A4-A6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร DMSO 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
- หลุม B1-B6 เป็น สารละลายมาตรฐาน Acarbose 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : B1-B3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร Acarbose 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
 - Blank : B4-B6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร Acarbose 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
- หลุม C1-C6 เป็น สารตัวอย่าง DM1 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Test : C1-C3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM1 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนักศึกษาของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- Blank C4-C6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM1 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
- หลุม D1-D6 เป็น สารตัวอย่าง DM2 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : D1-D3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM2 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G(substrate) 50 ไมโครลิตร
 - Blank D4-D6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM2 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
- หลุม E1-E6 เป็น สารตัวอย่าง DM3 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : E1-E3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM3 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G(substrate) 50 ไมโครลิตร
 - Blank : E4-E6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง DM3 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร

เมื่อหยดสารลงใน 96-well microtiterplate ตามที่กำหนดและ Incubation ครบตามขั้นตอนแล้ว ทำการหยุดปฏิกิริยา ด้วยการหยดสารละลาย Na_2CO_3 100 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microtiterplate ทุกหลุม แล้วปิดฝาให้เรียบร้อย จากนั้นนำ microtiterplate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Victor3[®] รุ่น wallac1420 ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร เพื่อดูการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารตัวอย่าง เปรียบเทียบกับ acarbose



รูปที่ 7 แสดง รูปแบบการหยดสารละลายใน microtiterplate ที่ 1

สำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การหาค่า IC₅₀

เตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ ดังนี้

1. สารละลาย 50 มิลลิโมล Phosphate buffer (pH 6.8) 100 มิลลิลิตร
 โดยการชั่ง 1. KH₂PO₄ 0.6805 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร
 2. K₂HPO₄ 0.8709 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร
 ผสมสารทั้ง 2 เข้าด้วยกัน เติมน้ำ 80 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH จนได้ pH 6.8 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
2. สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ p-Nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNP-G)
 เตรียมโดยชั่งสาร PNP-G 9.0375 มิลลิกรัม ละลายด้วย phosphate buffer 15 มิลลิลิตร
3. สารละลาย α -glucosidase 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร
 เตรียมโดย α -glucosidase 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร เติมน้ำ phosphate buffer 4 มิลลิลิตร
4. สารละลายมาตรฐาน Acarbose
 เตรียมโดยใช้ความเข้มข้น 40, 20, 10, 5, 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
5. สารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ Sodium carbonate (Na₂CO₃)
 เตรียมโดยชั่งสาร 3.18 กรัม ละลายในน้ำ 30 มิลลิลิตร

เตรียมสารตัวอย่าง

1. ชั่งสารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม ใส่ Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำ 50%DMSO 1000 ไมโครลิตร จะได้สารตัวอย่างความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ทำ series dilution ของสารตัวอย่าง เป็น 5 ความเข้มข้น ดังนี้
 - 3.1. ปิเปตสารตัวอย่างที่ได้จากข้อ 2 มา 210 ไมโครลิตร เติมน้ำ 50%DMSO ให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - 3.2. ปิเปตสารที่ได้จากข้อ 3.1. มา 700 ไมโครลิตร เติมน้ำ 50%DMSO 280 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - 3.3. ปิเปตสารที่ได้จากข้อ 3.2. มา 700 ไมโครลิตร เติมน้ำ 50%DMSO 250 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - 3.4. ปิเปตสารที่ได้จากข้อ 3.3. มา 700 ไมโครลิตร เติมน้ำ 50%DMSO 260 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - 3.5. ปิเปตสารที่ได้จากข้อ 3.4. มา 700 ไมโครลิตร เติมน้ำ 50%DMSO 230 ไมโครลิตร ได้เป็นสารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ลำดับการใส่สารและขั้นตอนการทำ α -glucosidase inhibition assay เหมือนกับที่กล่าวมาแล้วข้างต้น
 ตามแผนภาพที่ 2

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

นำ micropipette และ multichannel pipette ดูดสารละลายที่เตรียมไว้ หยดใส่ลงใน 96-well microtiterplate แต่ละหลุม ดังนี้

Microtiterplate ที่ 2-4 (รูปที่ 8)

- หลุม A1-A6 เป็น negative control
 - Test : A1-A3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร DMSO 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
 - Blank : A4-A6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร DMSO 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร
 - หลุม B1-B6 เป็น สารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : B1-B3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 15.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : B4-B6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 15.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - หลุม C1-C6 เป็น สารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : C1-C3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 10.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : C4-C6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 10.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - หลุม D1-D6 เป็น สารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : D1-D3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 7.86 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank D4-D6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 7.86 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - หลุม E1-E6 เป็น สารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : E1-E3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 5.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

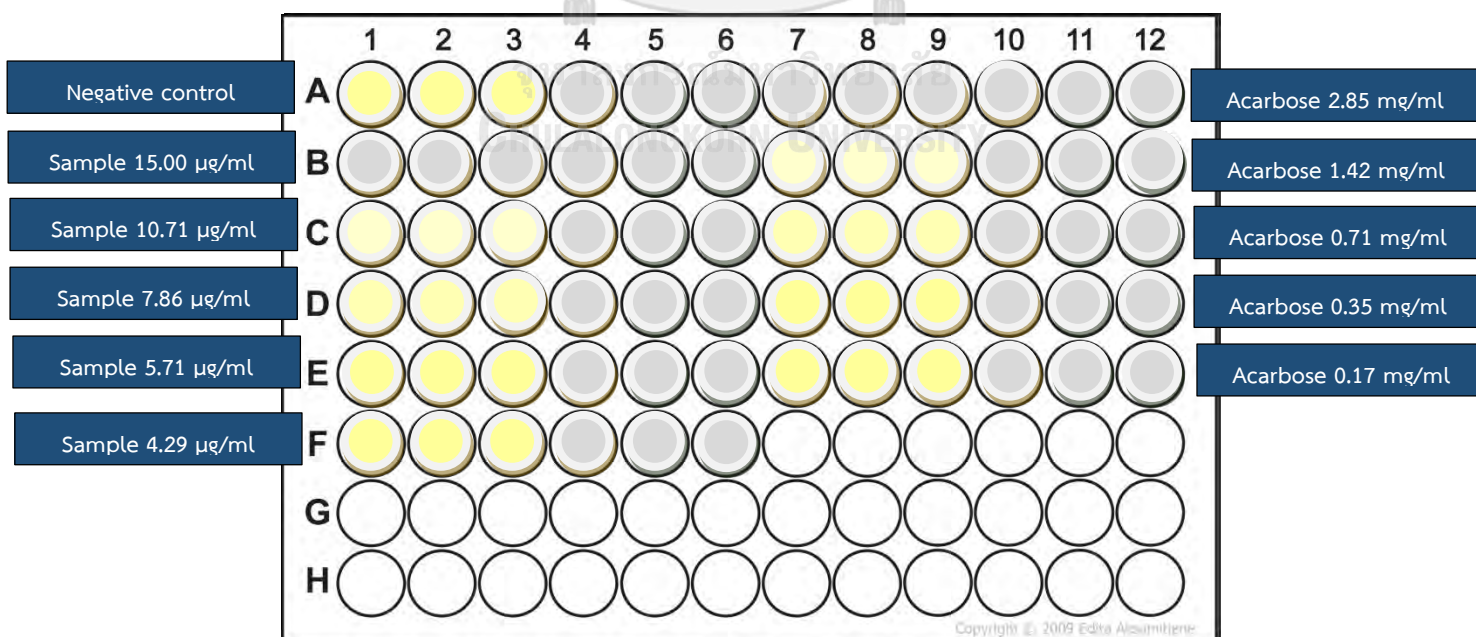
- Blank : E4-E6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 5.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- กลุ่ม F1-F6 เป็น สารตัวอย่าง ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : F1-F3 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 4.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : F4-F6 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้สารตัวอย่างความเข้มข้นสุดท้าย 4.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- กลุ่ม A7-A12 เป็น สารละลายมาตรฐาน acarbose ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : A7-A9 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 2.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : A10-A12 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 2.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- กลุ่ม B7-B12 เป็น สารละลายมาตรฐาน acarbose ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : B7-B9 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : B10-B12 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- กลุ่ม C7-C12 เป็น สารละลายมาตรฐาน acarbose ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : C7-C9 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : C10-C12 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

**The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.**

- หลุม D7-D12 เป็น สารละลายมาตรฐาน acarbose ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : D7-D9 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็น สารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : D10-D12 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- หลุม E7-E12 เป็น สารละลายมาตรฐาน acarbose ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Test : E7-E9 ประกอบด้วย Phosphate buffer 40 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร Enzyme 40 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็น สารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 - Blank : E10-E12 ประกอบด้วย Phosphate buffer 80 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร และ PNP-G (substrate) 50 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นสุดท้าย 0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อหยดสารลงใน 96-well microtiterplate ตามที่กำหนดและ Incubation ครบตามขั้นตอนแล้ว ทำการหยุดปฏิกิริยา ด้วยการหยดสารละลาย Na_2CO_3 100 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microtiterplate ทุกหลุม แล้วปิดฝาให้เรียบร้อย จากนั้นนำ microtiterplate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Victor3[®] รุ่น wallac1420 ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ทำเช่นเดิมตามขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้นอีก 2 รอบ เพื่อนำค่า IC_{50} ที่ได้ทั้งหมดมาใช้ในการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า IC_{50}



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
สำหรับหาค่า IC_{50} การออกฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

วิธีการคำนวณหา % inhibition และค่า IC₅₀ ของสารที่ทดสอบด้วย α -glucosidase inhibition assay

สามารถคำนวณหา % inhibition ของสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(I_0 - b_0) - (I_1 - b_1)}{(I_0 - b_0)} \times 100$$

กำหนดให้ I_0 คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของสารที่เป็น test ของ negative control

I_1 คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของสารที่เป็น test ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นใดความเข้มข้นหนึ่ง

b_0 คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของสารที่เป็น blank ของ negative control

b_1 คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของสารที่เป็น blank ของ สารตัวอย่างที่ความเข้มข้นใดความเข้มข้นหนึ่ง

จากการคำนวณด้วยสูตรข้างต้น ในสารตัวอย่าง 1 ชนิดจะได้ผลลัพธ์เป็น % inhibition 5 ค่า จาก 5 ความเข้มข้น จากนั้นนำ % inhibition ดังกล่าวไปสร้างกราฟโดยกำหนดให้ แกน X เป็นค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง และแกน Y เป็นค่า % inhibition จะได้เป็นสมการเส้นตรง ซึ่งสามารถคำนวณหาค่า IC₅₀ ของสารตัวอย่างนั้นๆ จากสมการเส้นตรงนี้ได้

บทที่ 4

ผลการวิจัย

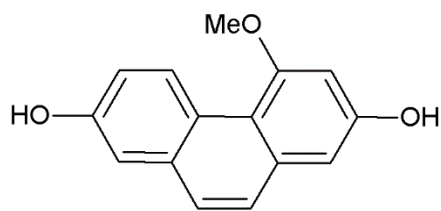
4.1 ผลการสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากต้นเอื้องจำปา

การค้นพบสารธรรมชาติที่ได้จากกระบวนการแยกสกัดตามขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบด้วย สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ DM1, DM2 และ DM3 ซึ่งมี % yield เท่ากับ 7.25×10^{-4} , 6.48×10^{-3} , 4.01×10^{-3} % ตามลำดับ

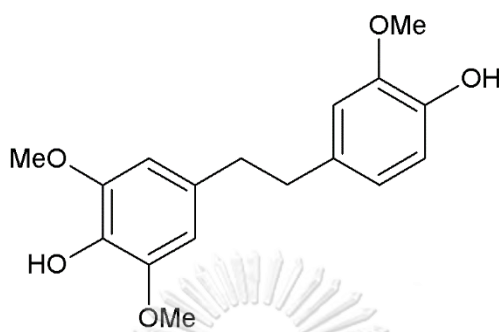
4.2 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค NMR spectroscopy

หลังจากนำ fraction ที่มีสาร DM1, DM2 และ DM3 มาวิเคราะห์ด้วยวิธี TLC พบว่า ในแต่ละ fraction ปรากฏ spot ที่มีการดูดกลืนแสงภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เพียง spot เดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่า แต่ละ fraction ประกอบไปด้วยสารบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว และเพื่อที่จะทราบข้อมูลโครงสร้างของสารบริสุทธิ์เหล่านี้จึงได้นำสารดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR spectroscopy ในรูปแบบ $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ จะได้เป็นสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร DM1, DM2 และ DM3 ดังรูปที่ 9

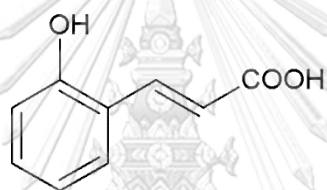
บทคัดย่อและข้อมูลเพิ่มเติมของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นข้อมูลเพิ่มเติมของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด



DM1



DM2



DM3

รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM1 DM2 และ DM3

จากการนำสูตรโครงสร้างไปสืบค้นในฐานข้อมูล พบว่า สาร DM 1 และ DM 3 มีการรายงานว่าถูกค้นพบในกล้วยไม้ชนิดอื่นมาก่อนแล้ว แต่ยังไม่เคยถูกค้นพบหรือรายงานใน *Dendrobium moschatum* มาก่อน ในขณะที่ DM 2 ได้มีการถูกค้นพบและรายงานในกล้วยไม้หลาย species รวมทั้ง *Dendrobium moschatum* ด้วยเช่นกัน

จากการวิเคราะห์โครงสร้างของสาร DM 1 ด้วยเทคนิค NMR spectroscopy ร่วมกับการเปรียบเทียบผลของ ^1H และ ^{13}C NMR จากสารที่เคยมีการรายงาน (ตารางที่ 7) พบว่าสาร DM1 คือ สาร flavanthrinin

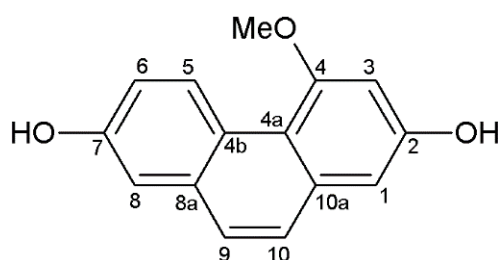
บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 1 ใน Acetone- d_6 และ flavanthrinin ใน Acetone- d_6

| Position | DM 1 | | Flavanthrinin* | |
|----------|----------------------------|------------|----------------------------|------------|
| | δ_H | δ_C | δ_H | δ_C |
| 1 | 7.06 (d, J = 2.4 Hz) | 107.7 | 7.06 (d, J = 2.5 Hz) | 107.7 |
| 2 | - | 156.3 | - | 156.3 |
| 3 | 6.98 (d, J = 2.4 Hz) | 102.5 | 6.98 (d, J = 2.5 Hz) | 102.5 |
| 4 | - | 157.3 | - | 157.3 |
| 4a | - | 114.0 | - | 114.0 |
| 4b | - | 119.9 | - | 119.9 |
| 5 | 7.42 (d, J = 6.6 Hz) | 127.4 | 7.42 (d, J = 7.5 Hz) | 127.4 |
| 6 | 7.09 (dd, J = 6.6, 2.4 Hz) | 116.9 | 7.08 (dd, J = 7.5, 2.5 Hz) | 116.9 |
| 7 | - | 155.2 | - | 155.2 |
| 8 | 7.40 (d, J = 2.4 Hz) | 121.0 | 7.40 (d, J = 2.5 Hz) | 121.0 |
| 8a | - | 134.9 | - | 134.9 |
| 9 | 7.62 (d, J = 8.7 Hz) | 129.7 | 7.62 (d, J = 9 Hz) | 129.7 |
| 10 | 7.49 (d, J = 8.7 Hz) | 126.9 | 7.49 (d, J = 9 Hz) | 126.9 |
| 10a | - | 137.0 | - | 137.0 |
| 4-OMe | 4.15 (s) | 58.5 | 4.15 (s) | 58.5 |

*(Klongkumnuankarn, P., et al., 2014)



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 ฐานที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM1
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

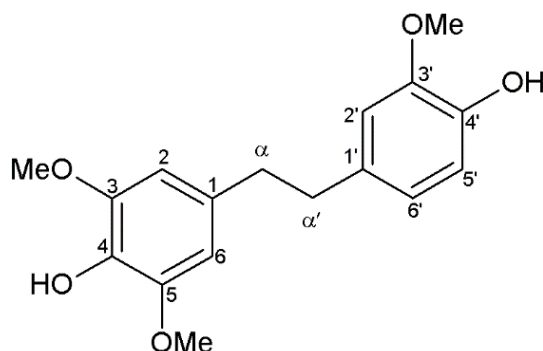
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 2 ใน Acetone- d_6 และ moscatilin ใน Acetone- d_6

| Position | DM 2 | | Moscatilin* | |
|-----------|----------------------------|------------|----------------------------|------------|
| | δ_H | δ_C | δ_H | δ_C |
| 1 | - | 133.1 | - | 133.1 |
| 2 | 6.48 (s) | 106.7 | 6.48 (s) | 106.7 |
| 3 | - | 148.4 | - | 148.3 |
| 4 | - | 134.8 | - | 134.8 |
| 5 | - | 148.4 | - | 148.3 |
| 6 | 6.48 (s) | 106.7 | 6.48 (s) | 106.7 |
| α | 2.78 (m) | 38.9 | 2.78 (m) | 38.8 |
| α' | 2.78 (m) | 38.3 | 2.78 (m) | 38.3 |
| 1' | - | 134.1 | - | 134.1 |
| 2' | 6.78 (d, J = 1.8 Hz) | 112.9 | 6.78 (d, J = 2.0 Hz) | 112.9 |
| 3' | - | 147.9 | - | 147.9 |
| 4' | - | 145.4 | - | 145.3 |
| 5' | 6.71 (d, J = 8.0 Hz) | 115.5 | 6.75 (d, J = 8.0 Hz) | 115.4 |
| 6' | 6.64 (dd, J = 8.0, 1.8 Hz) | 121.5 | 6.64 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz) | 121.6 |
| 3,5-OMe | 3.76 | 56.5 | 3.75 | 56.5 |
| 3'-OMe | 3.78 | 56.1 | 3.76 | 56.1 |

*(Klongkumnuankarn, P., *et al.*, 2014)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
 The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จากการวิเคราะห์โครงสร้างของสาร DM 2 ด้วยเทคนิค NMR spectroscopy ร่วมกับการเปรียบเทียบผลของ ^1H และ ^{13}C NMR จากสารที่เคยมีการรายงาน (ตารางที่ 8) พบว่าสาร DM 2 คือ สาร moscatilin



รูปที่ 11 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM2

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของ DM 3 ใน Acetone- d_6 และ trans-o-coumaric acid ใน DMSO- d_6

| Position | DM 3 | | <i>trans</i> -o-coumaric acid* | |
|----------|----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| | δ_{H} | δ_{C} | δ_{H} | δ_{C} |
| 1 | - | 122.5 | - | 120.9 |
| 2 | - | 157.3 | - | 156.5 |
| 3 | 6.96 (d, J = 7.5 Hz) | 117.0 | 6.93 (d, J = 9.6 Hz) | 116.1 |
| 4 | 7.22 (td, J = 7.5 Hz) | 132.1 | 7.23 (m) | 131.3 |
| 5 | 6.87 (t, 7.5 Hz) | 120.7 | 6.83 (m) | 119.3 |
| 6 | 7.58 (dd, J = 7.5, 1.2 Hz) | 129.5 | 7.58 (d, J = 8.8 Hz) | 128.6 |
| 7 | 8.00 (d, J = 16.1 Hz) | 140.7 | 7.83 (d, J = 16.2 Hz) | 139.5 |
| 8 | 6.59 (d, J = 16.1 Hz) | 119.3 | 6.52 (d, J = 16.2 Hz) | 118.2 |
| 9 | - | 169.0 | 12.21 (s) | 168.0 |
| 2-OH | - | - | 10.18 | - |

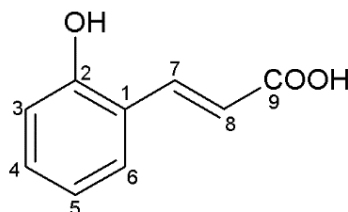
* บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) (Yang, C., et al., 2008)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

จากการวิเคราะห์โครงสร้างของสาร DM 3 ด้วยเทคนิค NMR spectroscopy ร่วมกับการเปรียบเทียบผลของ ^1H และ ^{13}C NMR จากสารที่เคยมีการรายงาน (ตารางที่ 9) พบว่าสาร DM 3 คือ สาร trans-o-coumaric acid



รูปที่ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร DM3

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

เมื่อนำสารบริสุทธิ์ ได้แก่ flavanthrinin moscatilin และ trans-o-coumaric acid ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่า มีเพียงสาร flavanthrinin เท่านั้นที่มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสมากกว่าร้อยละ 50 ดังนั้นจึงนำสาร flavanthrinin ไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 15, 10.71, 7.86, 5.71 และ 4.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส อีกครั้ง ซึ่งผลที่ได้พบว่า ที่ความเข้มข้น 15, 10.71, 7.86, 5.71 และ 4.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับร้อยละ 95.21, 80.03, 58.44, 20.36 และ 13.56 ตามลำดับ ซึ่งจะหาความเข้มข้นของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ร้อยละ 50 ได้เท่ากับ 8.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงสรุปว่าสาร flavanthrinin มีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือเท่ากับ 34.45 ไมโครโมลาร์

เมื่อนำ acarbose ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 2.85, 0.71 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เพื่อใช้เป็น positive control พบว่า ที่ความเข้มข้น 2.85, 0.71 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร acarbose มีค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับร้อยละ 87.00, 62.78 และ 44.09 ตามลำดับ ซึ่งจะหาความเข้มข้นของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ร้อยละ 50 ได้เท่ากับ 342.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงสรุปว่าสาร acarbose มีค่า IC_{50} เท่ากับ 342.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือเท่ากับ 530.74 ไมโครโมลาร์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการนำสารสกัดหยาบในชั้น ethyl acetate ของเอื้องจำปา (*Dendrobium moschatum*) มาทำการสกัดแยกสารบริสุทธิ์ด้วย column chromatography โดยใช้ silica gel column และ sephadex LH-20 column ร่วมด้วยการใช้เทคนิค TLC สามารถสกัดสารบริสุทธิ์ได้ 3 ชนิด จากนั้นนำสารที่ได้ไปพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค ^1H และ ^{13}C NMR spectroscopy พบว่าเป็นสาร flavantrinin moscatilin และ *trans-o-coumaric acid* คิดเป็นร้อยละ เท่ากับ 7.25×10^{-4} , 6.48×10^{-3} , 4.01×10^{-3} ตามลำดับ

จากนั้นนำสารบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยวิธี α -glucosidase inhibition assay ผลการทดสอบพบว่าสาร flavantrinin เพียงสารเดียวเท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 34.45 ไมโครโมลาร์ ส่วน acarbose ซึ่งทำหน้าที่เป็น positive control มีค่า IC_{50} เท่ากับ 530.74 ไมโครโมลาร์ จากผลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า สาร flavantrinin มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สูงกว่า acarbose

สารธรรมชาติที่ถูกสกัดแยกได้นี้มีจำนวนน้อยมากเมื่อเทียบกับน้ำหนักของส่วนที่นำมาสกัด ซึ่งปัญหานี้เป็นปัญหาสำคัญของการจะนำสารธรรมชาติมาพัฒนาเป็นยา เพราะปริมาณที่ถูกค้นพบนี้ไม่เพียงพอต่อการตั้งสูตรตำรับและทดสอบความเป็นพิษหรือการออกฤทธิ์ในสัตว์ทดลองได้ (25) ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับวิธีการเพิ่มการผลิตสารนี้เพื่อหวังว่าจะสามารถนำสารนี้มาใช้ประโยชน์ทางยาต่อไปได้

เมื่อทำการสืบค้นในฐานข้อมูลพบว่า สาร flavantrinin มีการรายงานว่ามีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (antioxidant) (26) และยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity) (27) อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม สาร flavantrinin ยังไม่เคยถูกรายงานว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่พบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสาร flavantrinin

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รายการอ้างอิง

1. The International Diabetes Federation (IDF). DIABETES ATLAS [Internet]. 8th ed. 2017. Available from: <http://www.diabetesatlas.org>
2. WHO. Diabetes [Internet]. 2017 [cited 2018 Apr 8]. Available from: <http://www.who.int/diabetes/en/>
3. Barbara G. Wells JTDLS and CVD. Pharmacotherapy handbook, Chapter19 Diabetes Mellitus. 9th ed. McGraw-Hill Education; 2015. 161-175 p.
4. Derosa G, Maffioli P. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. Arch Med Sci AMS. 2012;8(5):899.
5. Nhiem NX, Kiem P Van, Minh C Van, Ban NK, Cuong NX, Tung NH, et al. alpha-Glucosidase inhibition properties of cucurbitane-type triterpene glycosides from the fruits of *Momordica charantia*. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2010 May;58(5):720-4.
6. Ng TB, Liu J, Wong JH, Ye X, Sze SCW, Tong Y, et al. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;93(5):1795-803.
7. Lu Y, Kuang M, Hu G-P, Wu R-B, Wang J, Liu L, et al. Loddigesiinols G-J: α -Glucosidase Inhibitors from *Dendrobium loddigesii*. Molecules. 2014 Jun 23;19(6):8544-55.
8. Limpanit R, Chuanasa T, Likhitwitayawuid K, Jongbunprasert V, Sritularak B. α -Glucosidase Inhibitors from *Dendrobium tortile*. 2016;10(5):609-16.
9. Sun J, Zhang F, Yang M, Zhang J, Chen L, Zhan R, et al. Isolation of α -glucosidase inhibitors including a new flavonol glycoside from *Dendrobium devonianum*. Nat Prod Res. 2014 Nov 2;28(21):1900-5.
10. Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu, Unakalamba. Journal of Physiology and Pathophysiology The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. 2013 [cited 2018 Apr 6];4(4):46-57. Available from: <http://www.academicjournals.org/JPAP>
11. WHO. About diabetes [Internet]. WHO. World Health Organization; 2018 [cited 2018 Apr 8]. Available from: http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/index3.html
12. Jennifer Jiang SD. Diabetes Mellitus [Internet]. PDB-101. 2016. Available from: <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/monitoring/complications>

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

13. Salar U, Taha M, Khan KM, Ismail NH, Imran S, Perveen S, et al. Syntheses of new 3-thiazolyl coumarin derivatives, in vitro α -glucosidase inhibitory activity, and molecular modeling studies. *Eur J Med Chem*. 2016 Oct 21;122:196–204.
14. Puls W. Pharmacology of Glucosidase Inhibitors. In Springer, Berlin, Heidelberg; 1996. p. 497–534.
15. Tiwari S. What is amylase and what does it do? [Internet]. Quora. 2017 [cited 2018 Apr 10]. Available from: <https://www.quora.com/What-is-amylase-and-what-does-it-do>
16. Rosak C, Mertes G. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2012;5:357–67.
17. Dungan KM. Management of Type 2 Diabetes Mellitus. In: *Endocrinology: Adult and Pediatric*. 7th ed. Elsevier; 2016. p. 839–853.e2.
18. Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi-far F, Mirtajaddini M. The Inhibitory Effect of Some Iranian Plants Extracts on the Alpha Glucosidase. *Mashhad Univ Med Sci*. 2008 Jan 1;11(1):1–9.
19. BGO Plant Database TBO. เอื้องจำปา | *Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw. : BGO Plant Database-ฐานข้อมูลพันธุ์ไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ [Internet]. Academic Segment, Research & Development Center, The Botanical Organization, Ministry of Natural Resource and Environment, Thailand. 2011 [cited 2018 Apr 6]. Available from: <http://www.qsbg.org>
20. อบฉันท์ ไทยทอง. กล้ายไม้เมืองไทย. 11th ed. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน; 2006. 211 p.
21. K. Keller. *Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw. [Internet]. Swiss Orchid Foundation at the Herbarium Jany Renz. 2006 [cited 2018 Apr 6]. Available from: <https://orchid.unibas.ch>
22. Majumder PL, Sen RC. Moscatilin, a bibenzyl derivative from the orchid *Dendrobium moscatum*. *Phytochemistry*. 1987 Jan 1;26(7):2121–4.
23. Inthongkaew P, Chatsumpun N, Supasuteekul C, Kitisripanya T, Putalun W, Likhitwitayawuid K, et al. α -Glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities and glucose uptake stimulatory effect of phenolic compounds from *Dendrobium formosum*. *Rev Bras Farmacogn*. 2017 Jul;27(4):480–7.
24. Na Ranong S, Likhitwitayawuid K, Mekboonsonglarp W, Sritularak B. New dihydrophenanthrenes from *Dendrobium infundibulum*. *Nat Prod Res*. 2018 Mar 23;1–7.

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

25. Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig E-M, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnol Adv.* 2015 Dec;33(8):1582–614.
26. Kongkatitham V, Muangnoi C, Kyokong N, Thaweeseest W, Likhitwitayawuid K, Rojsitthisak P, et al. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of new bibenzyl derivatives from *Dendrobium parishii* in hydrogen peroxide and lipopolysaccharide treated RAW264.7 cells. *Phytochem Lett.* 2018 Apr 1;24:31–8.
27. Kovács A, Vasas A, Hohmann J. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry.* 2008 Mar 1;69(5):1084–110.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

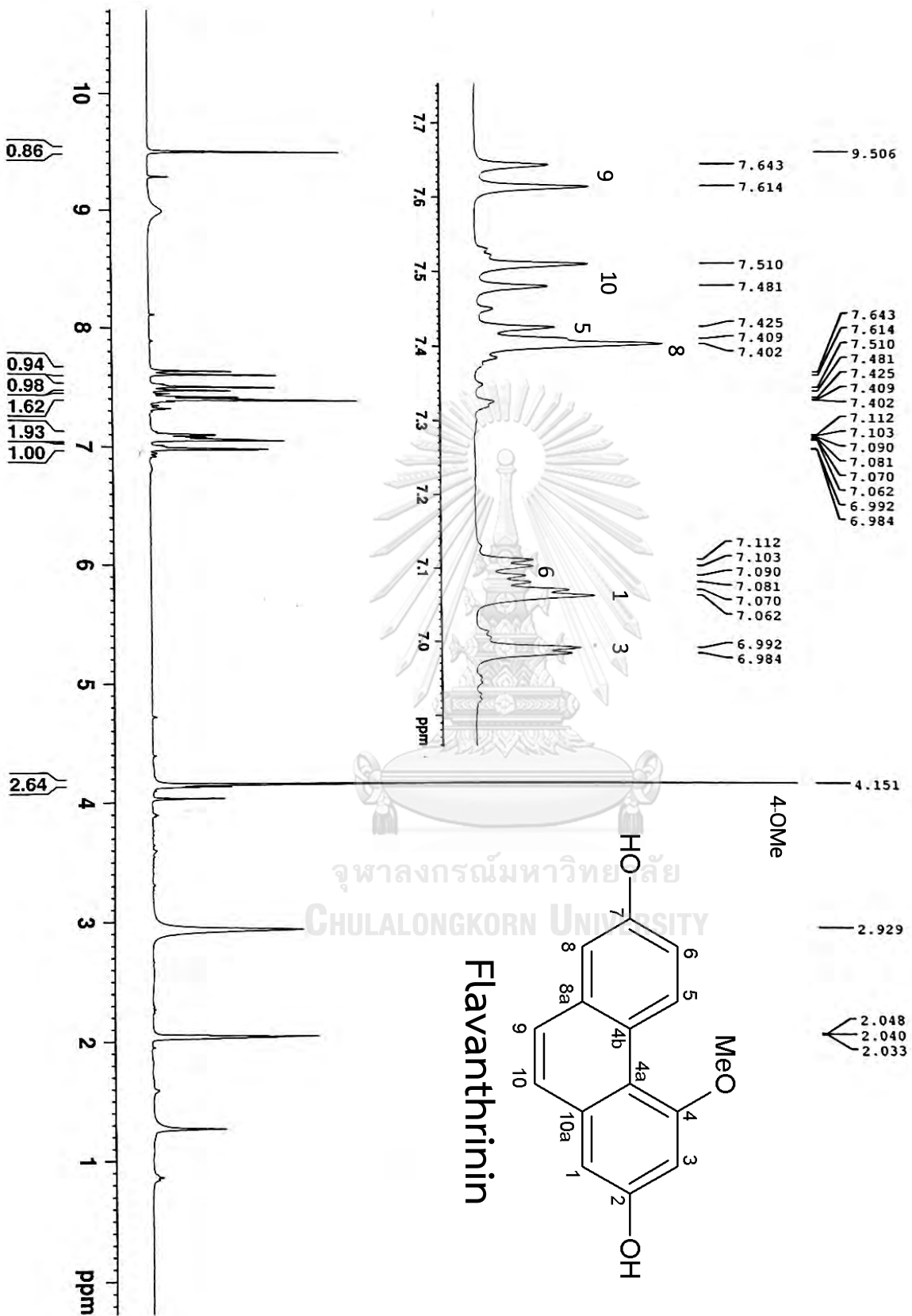
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

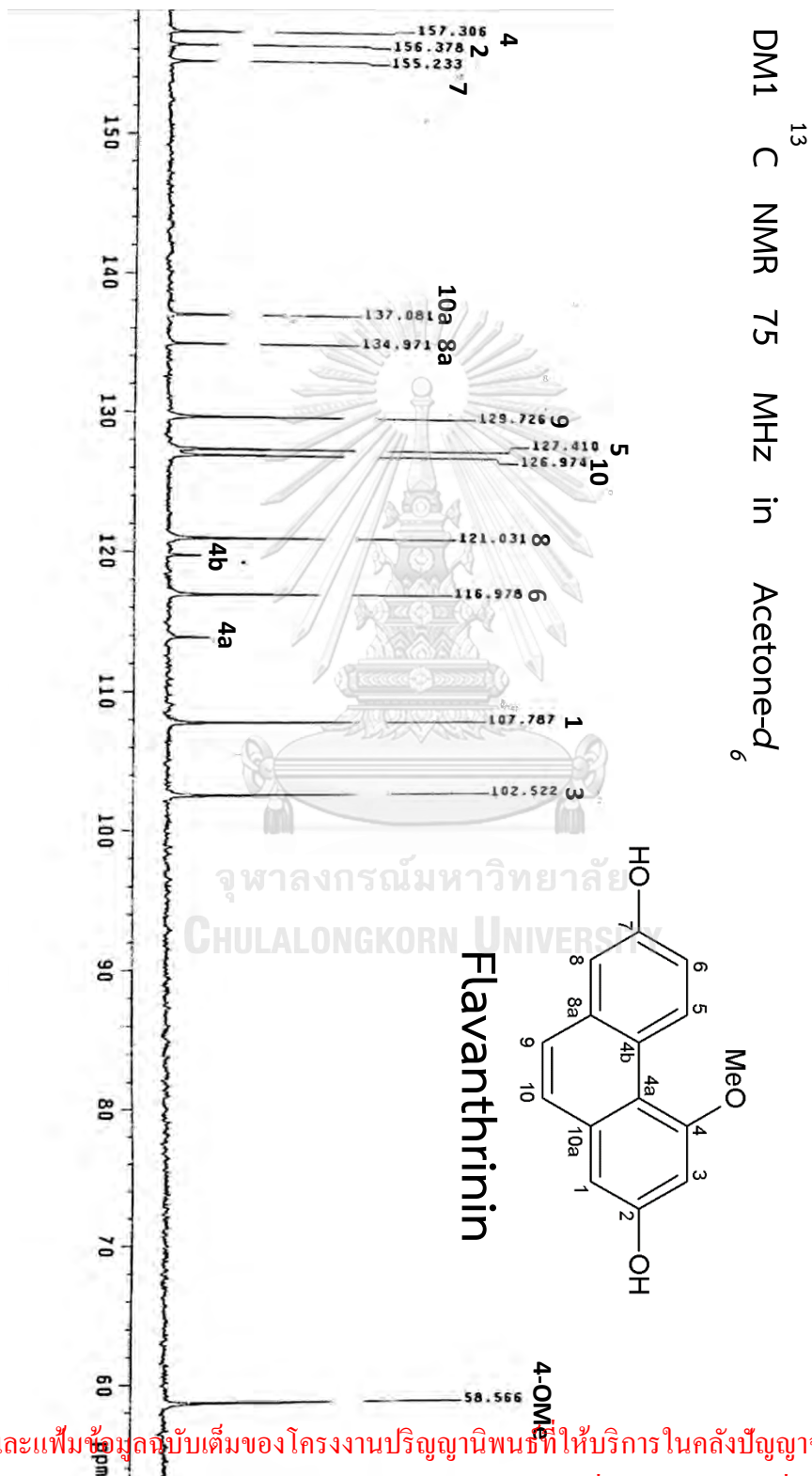
DM1 ¹H NMR 300 MHz in Acetone-d₆



บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

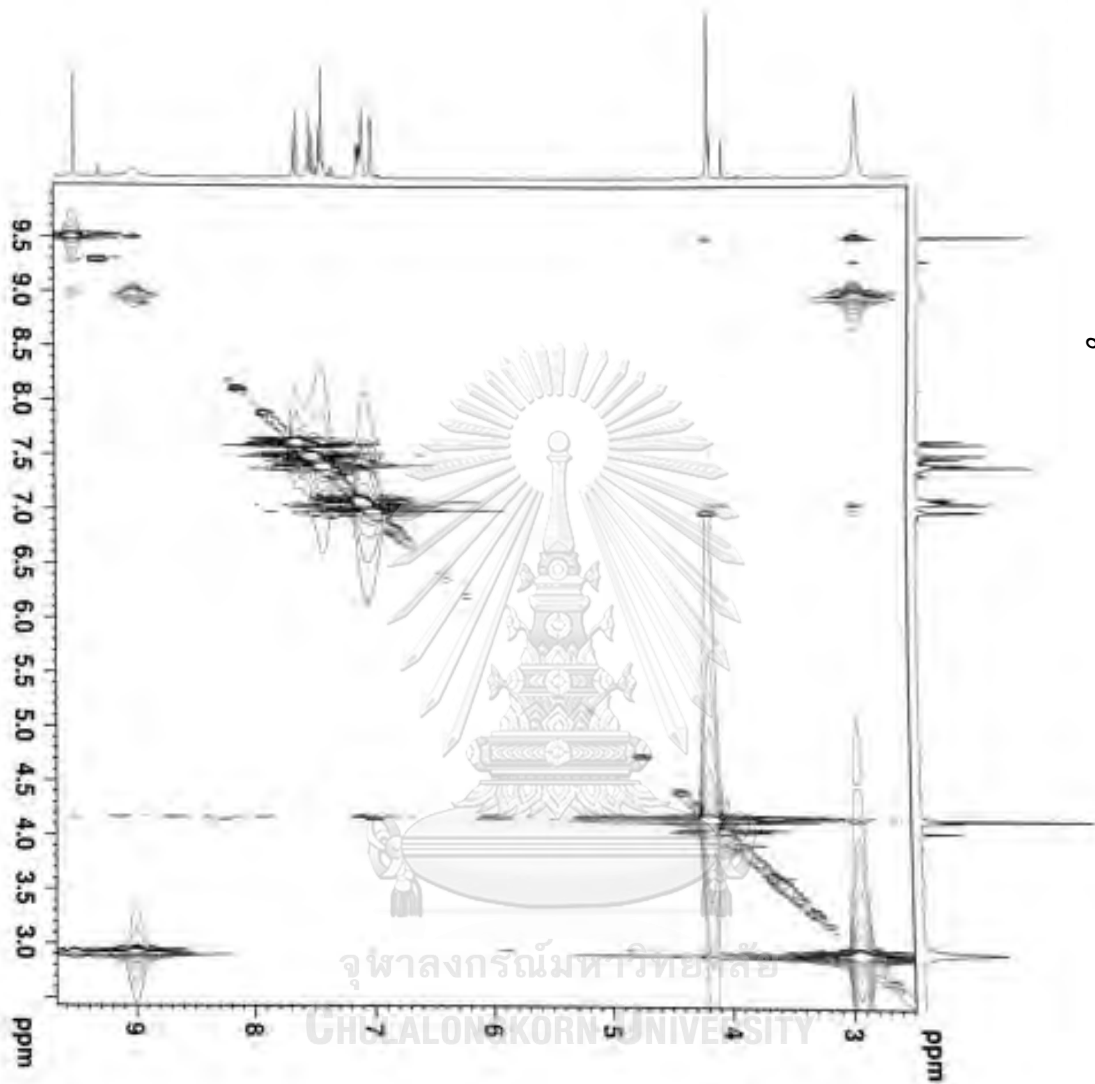
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

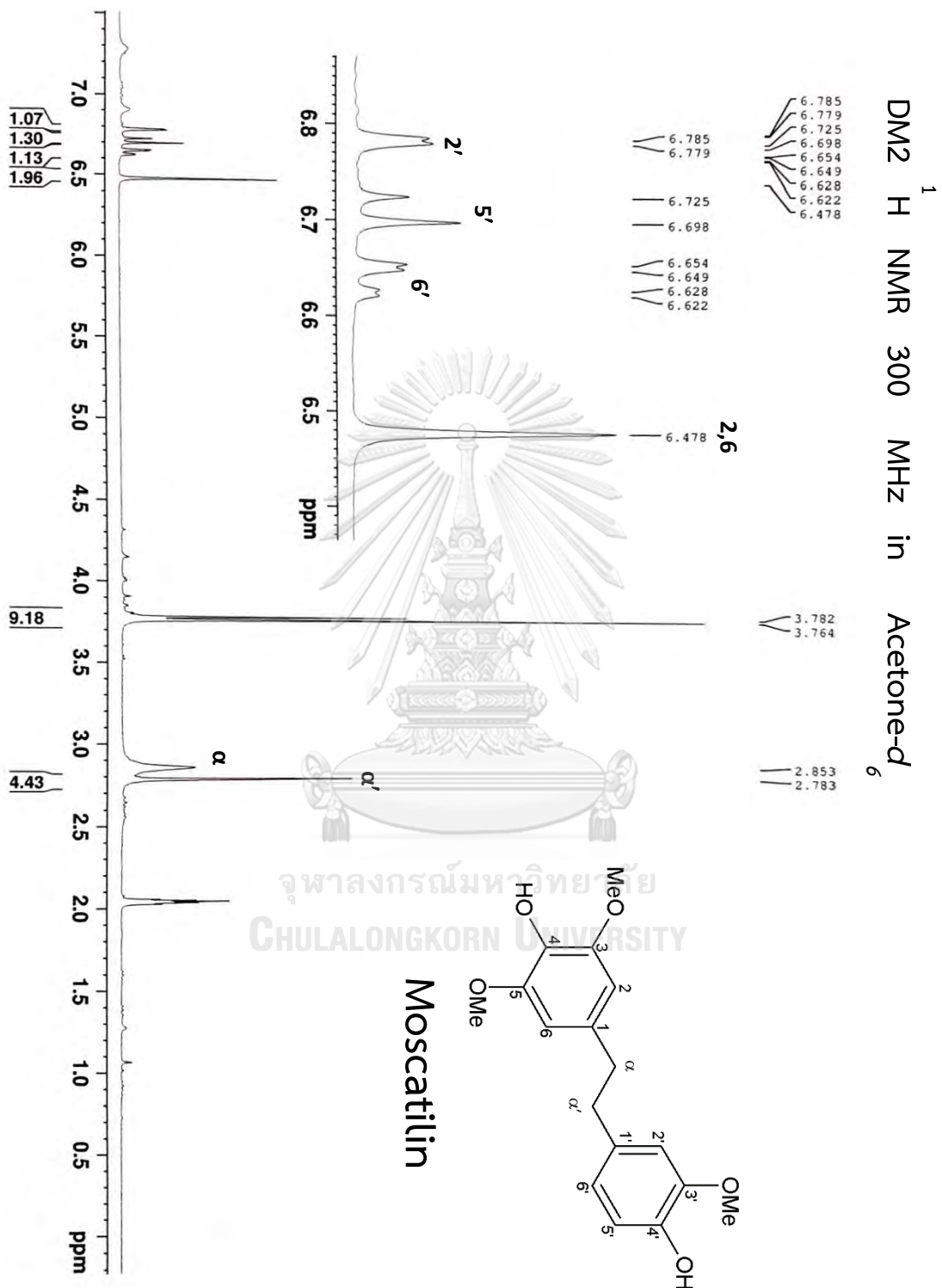
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

DM1-NOSEY in Acetone- d_6 

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

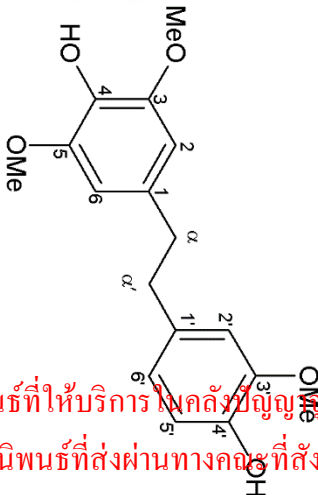
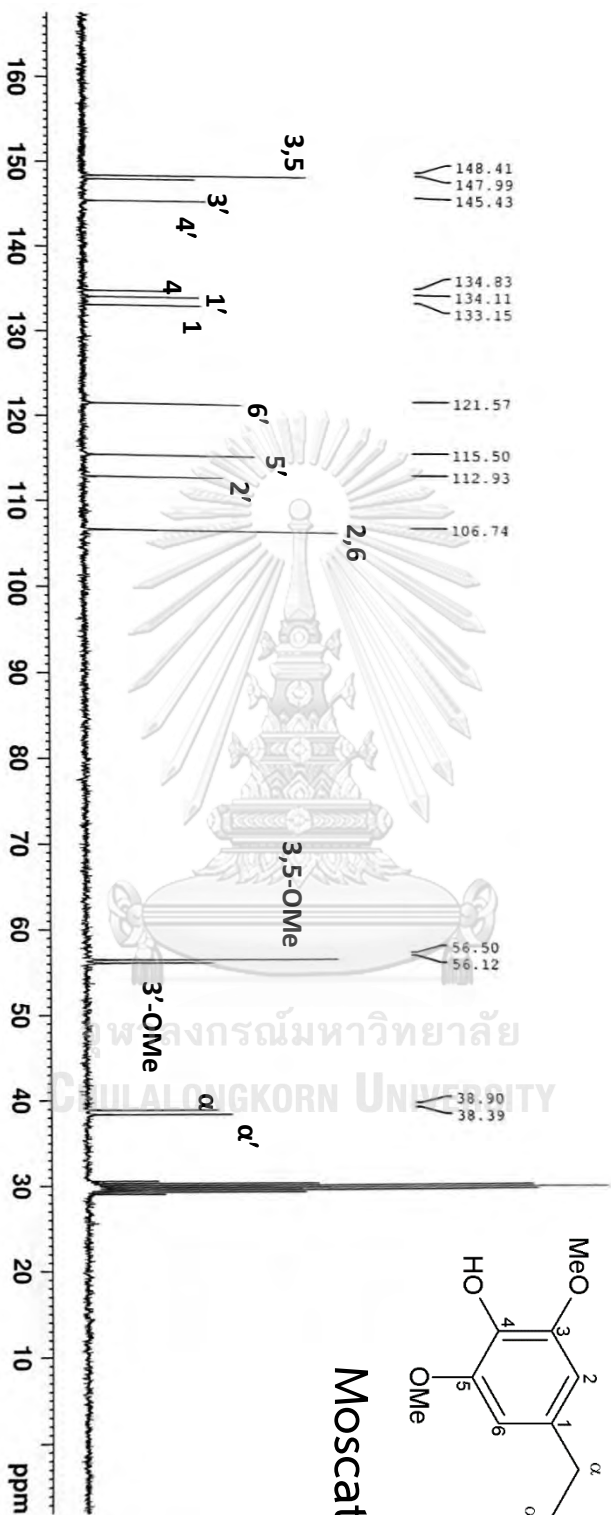


บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

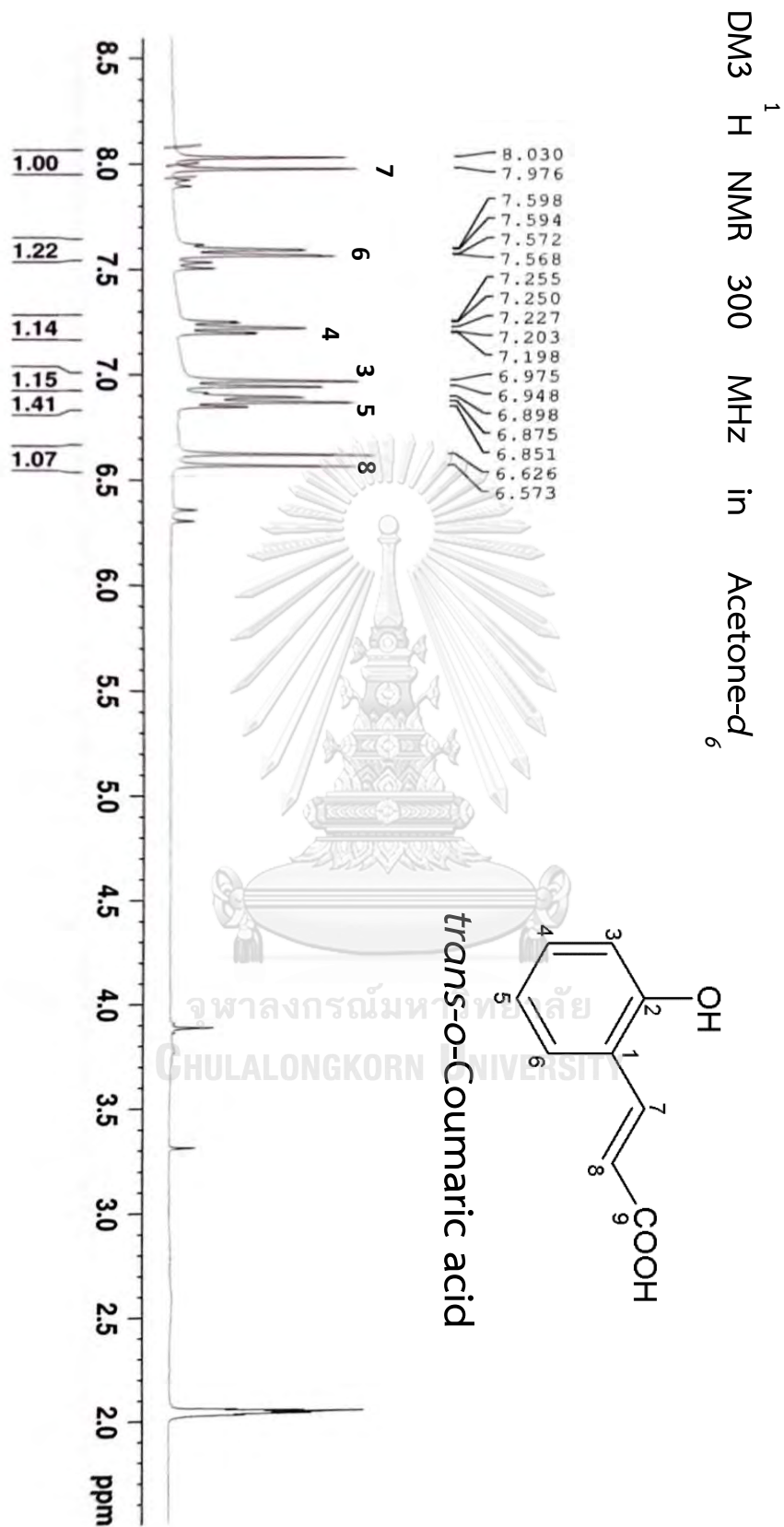
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

DM2 ¹³C NMR 75 MHz in Acetone-d₆



บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการไม่คลังปัญญาฯ (CUIR) เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

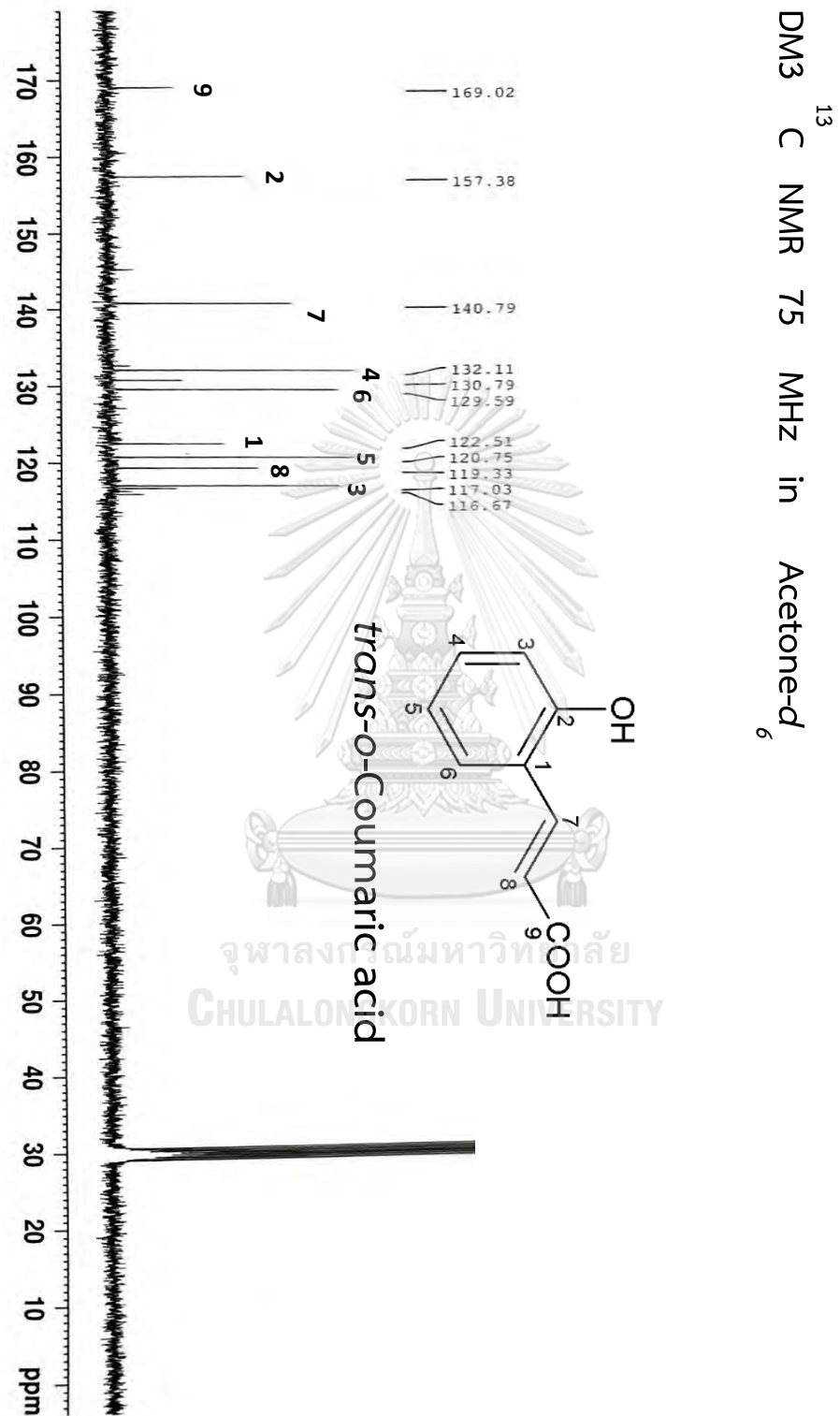
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

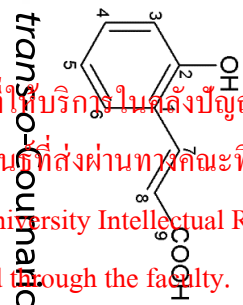
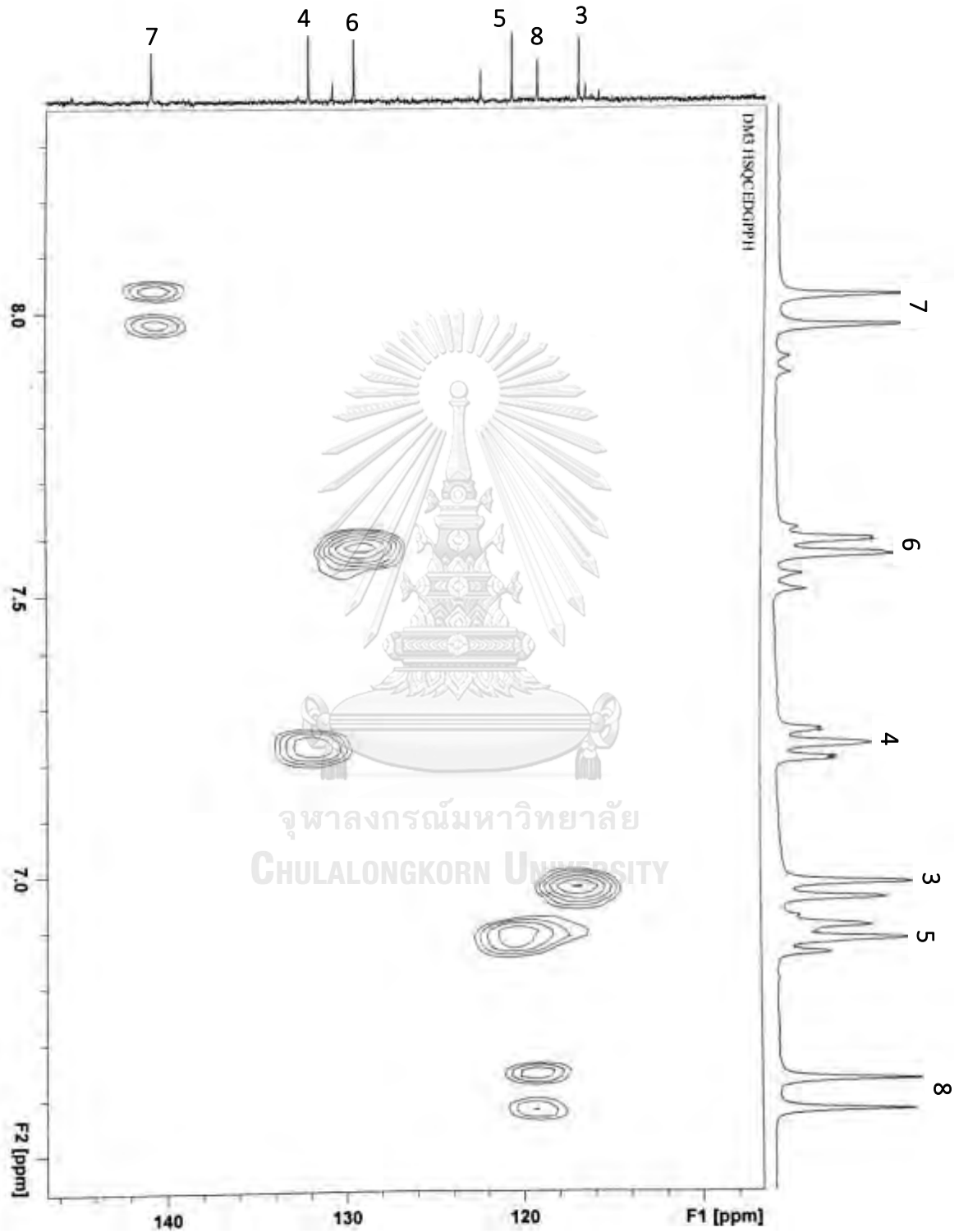
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

DM3 HSQC NMR in Acetone- d_6 

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.