508/47
RECEIVED
BY | DATE 22/7/47

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ สารยับยั้งไซคลิก เอ เอ็ม พี ฟอสฟอไดเอสเทอเรส จากหัวกวาวเครือดำ

โดย ศ. ดร. โสภณ เริงสำราญ และคณะ

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ สารยับยั้งไซคลิก เอ เอ็ม พี ฟอสฟอไดเอสเทอเรส จากหัวกวาวเครือดำ

โดย ศ. ดร. โสภณ เริงสำราญ และคณะ

R-647002

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ สารยับยั้งไซคลิก เอ เอ็ม พี ฟอสฟอไดเอสเทอเรส จากหัวกวาวเครือดำ

คณะผู้วิจัย		สังกัด
1. ศ. ดร. โสภณ	เริงสำราญ	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. รศ. ดร. อมร	เพชรสม	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. รศ. ดร. วิชัย	เชิดชีวศาสตร์	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนันสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

บทคัดย่อภาษาไทย

สามารถแยกของผสม 1 ชนิดและสารประกอบ 3 ชนิดได้จากหัวกวาวเครือดำ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายและเทคนิคทางโครมาโทกราฟี ทำการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้ โดยอาศัยข้อมูลที่เกี่ยวกับสมบัติทางกายภาพ ปฏิกิยาเคมีและข้อมูลทางสเปคโตรสโคปี ซึ่งของผสมชนิดแรกคือของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β- sitosterol สารชนิดที่สอง ชนิดที่สามและชนิดที่สี่คือ kaempferol, quercetin และ hopeaphenol ตามลำดับ และได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้ง cyclic AMP Phosphodiesterase ซึ่ง kaempferol, quercetin และ hopeaphenol โดยสารประกอบทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้ง cyclic AMP Phosphodiesterase สูง ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 281.83, 80.91 และ 22.75 μg/ml ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ theophylline ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 419.76 μg/ml

Abstract

One mixture and three compounds were isolated from the fresh tubers of *Mucuna collettii* Lace. By extraction, which made use of solvents and chromatographic techniques. These compounds were characterized by mean of physical properties, chemical reaction and spectroscopic data. The first mixture was a mixture of campesterol, stigmasterol and β- sitosterol. The second, the third and the fourth compounds were kaempferol, quercetin and hopeaphenol. The effects of each compound in inhibiting cycling AMP Phosphodiesterase were tested. It was found that kaempferol, quercetin and hopeaphenol all took great effects in inhibiting cyclic AMP Phosphodiesterase. They had IC_{50} value of 281.83, 80.91 and 22.75 μg/ml, respectively. These values were compared to theophylline, which is the standard compound having an IC_{50} value of 419.76 μg/ml

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....i
บทคัดย่อภาษาไทย.....ii
Abstract.....iii
สารบัญตาราง.....iv
สารบัญภาพ.....v
บทนำ.....1
วัตถุประสงค์.....2
วิธีการศึกษา.....3
ผลการทดลอง.....4
สรุปผลการทดลอง.....12
เอกสารอ้างอิง.....13
ภาคผนวก.....14

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเฮกเซนของกวาวเครือดำ.....4
ตารางที่ 2 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทิล อะซีเตตของกวาวเครือดำ.....5
ตารางที่ 3 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทานอลของกวาวเครือดำ.....6

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดหัวกวาวเครือดำด้วยตัวทำละลายต่างๆ 3
ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของ β-sitosterol, campesterol และ stigmasterol.....7
ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของ compound 2.....8
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ compound 3.....9
ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างของ compound 4.....10
ภาพที่ 6 The IR spectrum of mixture 1.....15
ภาพที่ 7 The ^{1}H-NMR spectrum of mixture 1.....16
ภาพที่ 8 The ^{13}C-NMR spectrum of mixture 1.....17
ภาพที่ 9 The mass spectrum of mixture 1.....18
ภาพที่ 10 The IR spectrum of compound 2.....19
ภาพที่ 11 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 2.....20
ภาพที่ 12 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 2.....21
ภาพที่ 13 The DEPT 135 และ 90 of compound 2.....22
ภาพที่ 14 The mass spectrum of compound 2.....23
ภาพที่ 15 The IR spectrum of compound 3.....24
ภาพที่ 16 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 3.....25
ภาพที่ 17 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 3.....26
ภาพที่ 18 The DEPT 135 และ 90 of compound 3.....27
ภาพที่ 19 The mass spectrum of compound 3.....28
ภาพที่ 20 The IR spectrum of compound 4.....29
ภาพที่ 21 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 4.....30
ภาพที่ 22 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 4.....31
ภาพที่ 23 The DEPT 135 และ 90 of compound 4.....32

บทนำ

ตั้งแต่อดีต พืชสมุนไพรนั้นถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ อย่างกว้างขวาง และในปัจจุบันแนวโน้มของการนำพืชสมุนไพรหรือสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้เป็นยาในการรักษาโรคนั้นก็มีมากขึ้น เนื่องจากความหลากหลายทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและผลข้างเคียงในการรักษาที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับยาแผนปัจจุบันที่ได้จากการสังเคราะห์ นอกจากนั้นการวิจัยพืชสมุนไพรในปัจจุบัน มีการพัฒนาและดำเนินไปอย่างเป็นระบบ ซึ่งนำมาสู่สารออกฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อไป

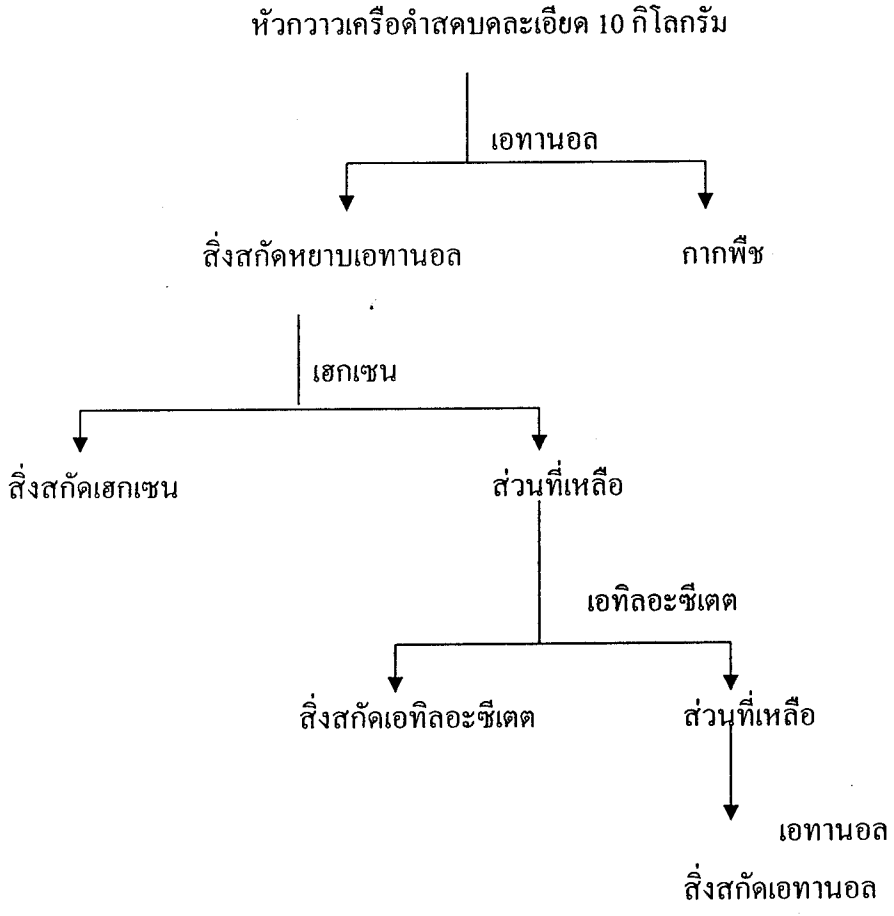
ในช่วงหลายปีที่ผ่านมานั้น มีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่ได้รับความสนใจ หนึ่งในจำนวนนั้นก็คือ กวาวเครือดำ ซึ่งทุกส่วนของกวาวเครือดำนั้นนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ เช่น เมล็ดนำมารักษาโรคผิวหนัง เปลือกของลำต้นนำมาบรรเทาอาการปวดฟัน และ ลำต้นและหัวนั้นนำมาใช้เป็นยาบำรุงกำลัง[1]

กวาวเครือดำมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Mucuna collettii* Lace. อยู่ในวงศ์ Papilionaceae [1, 2] ในประเทศไทยนั้นมีชื่อเรียกกันอยู่หลายชื่อตามแต่ละท้องถิ่น และสามารถพบได้ในป่าทางตอนเหลือและทางภาคตะวันออกของประเทศไทย กวาวเครือดำเป็นไม้เลื้อยที่มีหัวอยู่ใต้ดิน ในหนึ่งกิ่งนั้นจะมีใบ 3 ใบ ดอกมีสีเหลืองอมส้มและมีกลีบดอกสีม่วง มีผลเป็นฝักยาวคล้ายดาบภายในมีเมล็ดซึ่งมีลักษณะแบนๆ อยู่ สามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยเมล็ด หรือหัว

เนื่องจากกวาวเครือดำนั้นเป็นพืชสมุนไพรที่หายาก ดังนั้นจึงยังไม่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาองค์ประกอบทางเคมีจากกวาวเครือดำ ดังนั้นจึงเป็นมูลเหตุจูงใจในการศึกษาวิจัยเพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีจากหัวกวาวเครือดำและฤทธิ์ยับยั้ง cyclic AMP Phosphodiesterase

วิธีการศึกษา

นำหัวกวาวเครือดำสดน้ำหนัก 10 กิโลกรัม บดละเอียด จากนั้นนำไปแช่ด้วยเอทานอลเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองและระเหยเอาตัวทำละลายออก จะได้สิ่งสกัดหยาบเอทานอลซึ่งมีสีแดงเข้ม จากนั้นทำการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ และระเหยเอาตัวทำละลายออกก็จะได้สิ่งสกัดเฮกเซนมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองหนัก 20 กรัมและสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตตมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 15 กรัมตามลำดับ และส่วนที่เหลือจะเป็นสิ่งสกัดเอทานอล



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดหัวกวาวเครือดำด้วยตัวทำละลายต่างๆ

จากนั้นนำสิ่งสกัดหยาบของตัวทำละลายทั้งสามคือ สิ่งสกัดจากเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลไปทำการแยกองค์ประกอบทางเคมี ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีและวิธีอื่นๆ ที่เหมาะสม และทดสอบสมบัติทางกายภาพและพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อหาสูตรโครงสร้างทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไซคลิก เอเอ็มพี ฟอสฟอไดเอสเทอเรส กับสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ไป

ผลการทดลอง

การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเฮกเซนของกวาวเครือดำ

นำสิ่งสกัดเฮกเซนของกวาวเครือดำ 20 กรัม มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็น Stationary phase และใช้เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอลเป็น Mobile phase โดยแต่ละ fraction จะเก็บ fraction ละ 100 ml โดยสารในแต่ละ fraction จะทดสอบด้วย TLC โดย fraction ที่มีองค์ประกอบเหมือนกันจะนำมารวมกัน ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 1 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเฮกเซนของกวาวเครือดำ

Solvent system	Fraction	ลักษณะ
100% Hexane	1-2	-
	3-7	น้ำมันสีเหลือง
20% $CHCl_3$/Hexane	8-10	น้ำมันสีส้ม
	11-15	น้ำมันสีเหลือง
40% $CHCl_3$/Hexane	16-24	น้ำมันสีเหลือง
60% $CHCl_3$/Hexane	25-31	น้ำมันสีเหลือง
80% $CHCl_3$/Hexane	32-40	ของแข็งสีขาวในน้ำมันสี
100% $CHCl_3$	41-45	เหลือง
1% MeOH/$CHCl_3$	46-53	น้ำมันสีน้ำตาลแดง
3% MeOH/$CHCl_3$	54-60	น้ำมันสีน้ำตาล
5% MeOH/$CHCl_3$	61-65	น้ำมันสีเหลือง
		น้ำมันสีเหลือง

จาก fraction ที่ 32-40 พบว่ามีของแข็งสีขาวปนอยู่กับน้ำมันสีเหลือง ทำการล้างเอาน้ำมันสีเหลืองออกด้วยเมทานอล จากนั้นตกผลึกซ้ำด้วยเมทานอลร้อนจะได้ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 120 mg (mixture 1)

การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทิลอะซีเตตของกวาวเครือดำ

นำสิ่งสกัดเอทิลอะซีเตตของกวาวเครือดำ 15 กรัม มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็น Stationary phase และใช้เฮกเซน เอทิลอะซีเตต เมทานอลเป็น Mobile phaseโดย แต่ละ fraction จะเก็บ fraction ละ 100 ml โดยสารในแต่ละ fraction จะทดสอบด้วย TLC โดย fraction ที่มีองค์ประกอบเหมือนกันจะนำมารวมกัน ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 2 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทิล อะซีเตตของกวาวเครือดำ

Solvent system	Fraction	ลักษณะ
30% EtOAc/Hexane	1-7	ผลึกสีขาวในน้ำมันสีเหลือง
40% EtOAc/Hexane	8-11	น้ำมันสีส้ม
50% EtOAc/Hexane	12-15	น้ำมันสีส้ม
60% EtOAc/Hexane	16-18	น้ำมันสีแดง
70% EtOAc/Hexane	19-24	น้ำมันสีน้ำตาล
80% EtOAc/Hexane	25-36	น้ำมันสีน้ำตาลแดง
	37-42	น้ำมันสีน้ำตาล
	43-50	น้ำมันสีน้ำตาล
90% EtOAc/Hexane	51-55	น้ำมันสีน้ำตาล
100% EtOAc	56-65	น้ำมันสีน้ำตาล
10% EtOAc/MeOH	61-66	น้ำมันสีน้ำตาล
20% EtOAc/MeOH	67-73	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม

fraction ที่ 1-7 ประกอบด้วยผลึกสีขาวในน้ำมันสีเหลือง ทำการล้างเอาน้ำมันสีเหลืองออกด้วยเมทานอล จากนั้นตกผลึกซ้ำด้วยเมทานอลร้อนจะได้ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 50 mg (mixture 1)

fraction ที่ 43-50 นั้นหลังจากที่ระเหยเอาตัวทำละลายออก แล้วนำไปแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีอีกครั้ง และตกผลึกซ้ำด้วย CH_2Cl_2/MeOH จะได้ของแข็งสีเหลือง 32 mg (compound 2) ส่วน mother liquor นั้นจะนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จากนั้นตกผลึกซ้ำด้วยเมทานอล จะได้ของแข็งสีเหลืองอมเขียวหนัก 50 mg (compound 3)

fraction ที่ 56-65 นั้นหลังจากที่ระเหยเอาตัวทำละลายออก จะนำไปแยกอีกครั้งด้วย HPLC จากนั้นตกผลึกซ้ำด้วย EtOH/$CHCl_3$ จะได้ผลึกแบนสีขาวหนัก 150 mg (compound 4)

การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทานอลของกวาวเครือดำ

นำสิ่งสกัดเอทานอลของกวาวเครือดำ 15 กรัม มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Sephadex LH-20 เป็น Stationary phase และใช้ เอทิลอะซีเตตเป็น Mobile phase โดยแต่ละ fraction จะเก็บ fraction ละ 100 ml โดยสารในแต่ละ fraction จะทดสอบด้วย TLC โดย fraction ที่มีองค์ประกอบเหมือนกันจะนำมารวมกัน ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 3 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทานอลของกวาวเครือดำ

Solvent system	Fraction	ลักษณะ
100% EtOAc	1-5	น้ำมันสีน้ำตาล
	6-10	น้ำมันสีน้ำตาล
	11-20	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
	21-30	น้ำมันสีน้ำตาลแดง

จาก fraction ที่ 1-5 เมื่อนำไประเหยเอาตัวทำละลายออก แล้วนำไปแยกด้วยคอลัมโครมาโทกราฟีอีกครั้งโดยใช้ซิลิกาเจลเป็น Stationary phase และตกผลึกซ้ำด้วย EtOH/$CHCl_3$ จะได้ผลึกแบนสีขาวหนัก 20 mg (compound 4)

สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีของหัวกวาวเครือดำสดได้ 4 ชนิด โดย

mixture 1 : ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 170 mg

compound 2 : ของแข็งสีเหลืองหนัก 32 mg

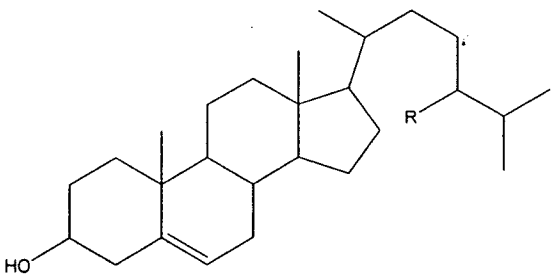
compound 3 : ของแข็งสีเหลืองอมเขียวหนัก 50 mg

compound 4 : ผลึกแบนสีขาวหนัก 170 mg

Mixture 1 :

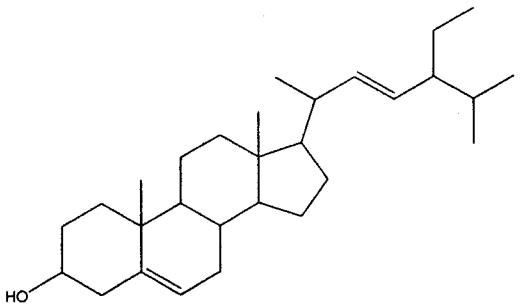
- จุดหลอมเหลว 136-137 °C
- FT-IR spectrum : ν_{max} (KBr) 3443-3341 (OH stretching), 2959, 2937 (C-H stretching), 1641 (C=C stretching) cm^{-1}
- ^{1}H-NMR spectrum : δ ($CDCl_3$) 0.68-1.98, 2.26, 3.50, 5.09, 5.35
- ^{13}C- NMR spectrum : δ ($CDCl_3$) 11.3-57.1, 71.5, 71.9, 121.6, 129.2, 138.2, 140.7
- EIMS spectrum : *m/z* 414 ($C_{29}H_{50}O^{+}$)

จากเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีนั้นพบว่า mixture 1 มีสูตรโมเลกุลอย่างง่ายคือ $C_{29}H_{50}O$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 414 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า mixture 1 นั้นเป็นของผสมของสารประกอบสเตรียรอยด์สามชนิดคือ β-sitosterol, campesterol และ stigmasterol [3] โดยมีสูตรโครงสร้างคือ



R = Et, β-sitosterol

R = Me, campesterol



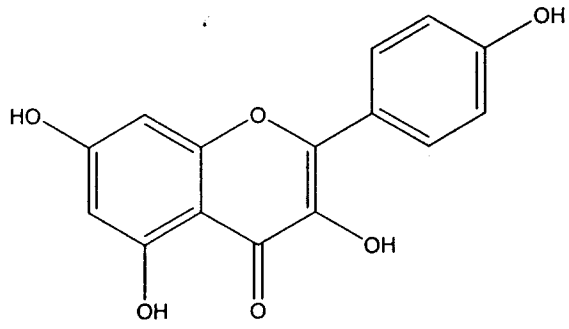
stigmasterol

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของ β-sitosterol, campesterol และ stigmasterol

Compound 2 :

- จุดหลอมเหลว 264-265 °C
- FT-IR spectrum : ν_{max} (KBr) 3400-3000 (OH stretching), 3030 (C-H stretching), 1656(C=O stretching), 1616 (C=C stretching), 1571, 1508, 1383, 1307, 1178 (C-O stretching) cm^{-1}
- ^{1}H- NMR spectrum : δ (CD_3COCD_3) 6.24, 6.51, 7.02, 8.11, 9.13, 9.75, 12.16
- ^{13}C-NMR spectrum : δ (CD_3COCD_3) 94.4, 99.1, 104.1, 116.2, 116.2, 123.2, 130.4, 130.4, 136.6, 146.9, 157.7, 160.1, 162.2, 164.9, 176
- EIMS spectrum : *m/z* 286 ($C_{15}H_{10}O_6^+$)

จากเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีนั้นพบว่า compound 2 มีสูตรโมเลกุลอย่างง่ายคือ $C_{15}H_{10}O_6$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 286 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า compound 2 นั้นเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยมีสูตรโครงสร้างคือ



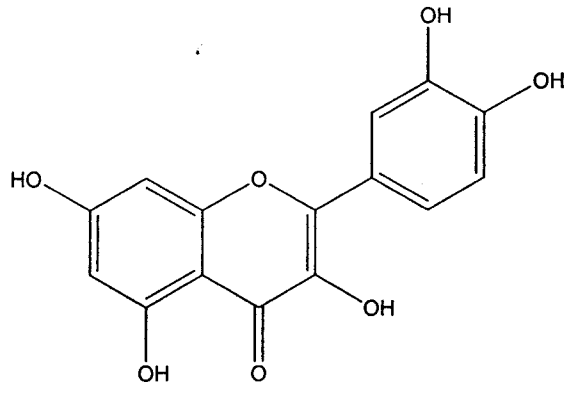
ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของ compound 2

โดยเมื่อเปรียบเทียบสารประกอบที่แยกได้กับงานวิจัยที่ผ่านมานั้นพบว่าสารประกอบนี้คือ 3, 4', 5, 7-tetrahydroxy flavone หรือ Kaempferol [3]

Compound 3 :

- จุดหลอมเหลว 316-317 °C
- FT-IR spectrum : ν_{max} (KBr) 3600-3400 (OH stretching), 3100-2900 (C-H stretching), 1716 (C=O stretching), 1214 (C-O stretching) cm^{-1}
- ^{1}H-NMR spectrum : δ (DMSO) 12.47, 9.4, 7.66, 7.53, 6.87, 6.39, 6.17
- ^{13}C - NMR spectrum : δ (DMSO) 175.8, 164, 160.7, 156.2, 147.7, 146.6, 145.0, 135.8, 121.9, 120.0, 115.6, 115.1, 103.0, 98.2, 93.4
- EIMS spectrum : *m/z* 302 ($C_{15}H_{10}O_7^+$)

จากเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีนั้นพบว่า compound 3 มีสูตรโมเลกุลอย่างง่ายคือ $C_{15}H_{10}O_7$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 302 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า compound 3 นั้นเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยมีสูตรโครงสร้างคือ



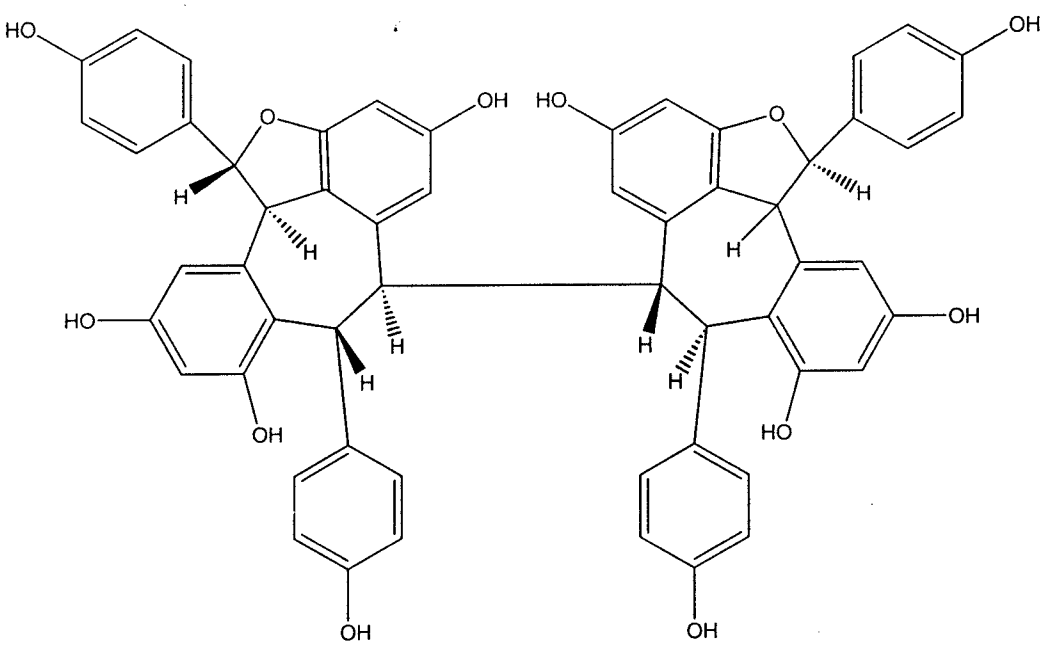
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ compound 3

โดยเมื่อเปรียบเทียบสารประกอบที่แยกได้กับงานวิจัยที่ผ่านมานั้นพบว่าสารประกอบนี้คือ 3, 3',4', 5, 7-pentahydroxy flavone หรือ Quercetin [3]

Compound 4 :

- FT-IR spectrum : ν_{max} (KBr) 3400-3100 (OH stretching), 1618 (C=C stretching), 1449 (C-H stretching), 1250 (C-O stretching) cm^{-1}
- ^{1}H -NMR spectrum : δ (CD_3COCD_3) 8.54, 8.23, 8.02, 7.44, 7.13, 6.90, 6.78, 6.53-6.56, 6.28, 5.80, 5.75, 5.72, 5.16, 4.22, 3.93
- ^{13}C - NMR spectrum : δ (CD_3COCD_3) 159.2, 158.8, 158.4, 157.2, 157.1, 155.6, 142.4, 140.4, 135.2, 131.0, 130.2, 129.3, 121.1, 118.5, 116.0, 115.2, 111.2, 106.3, 101.1, 95.2, 88.2, 49.7, 48.2, 41.1
- EIMS spectrum : *m/z* 906.27 ($C_{56}H_{42}O_{12}^{+}$)

จากเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีนั้นพบว่า compound 4 มีสูตรโมเลกุลอย่างง่ายคือ $C_{56}H_{42}O_{12}$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 906 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า compound 4 นั้นเป็นสารประกอบพอลีฟีนอลโดยมีสูตรโครงสร้างคือ



ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างของ compound 4

โดยเมื่อเปรียบเทียบสารประกอบที่แยกได้กับงานวิจัยที่ผ่านมานั้นพบว่าสารประกอบนี้คือ Hopeaphenol [4-6]

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไซคลิก เอเอ็มพี ฟอสฟอไดเอสเทอเรสกับสารประกอบที่แยกได้

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไซคลิก เอเอ็มพี ฟอสฟอไดเอสเทอเรสของสารประกอบที่แยกได้จากกวาวเครือดำในเบื้องต้นนั้นพบว่ามีเพียง kaempferol, quercetin และ hopeaphenol เท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับ theophylline ซึ่งใช้เป็น positive control ในขณะที่ของผสมของสเตียรอยด์นั้นไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว

และเมื่อทดสอบเพื่อหาค่า IC_{50} ของ kaempferol, quercetin และ hopeaphenol นั้นพบว่ามีค่าเท่ากับ 1.00, 0.26 และ 0.02 μM ตามลำดับ

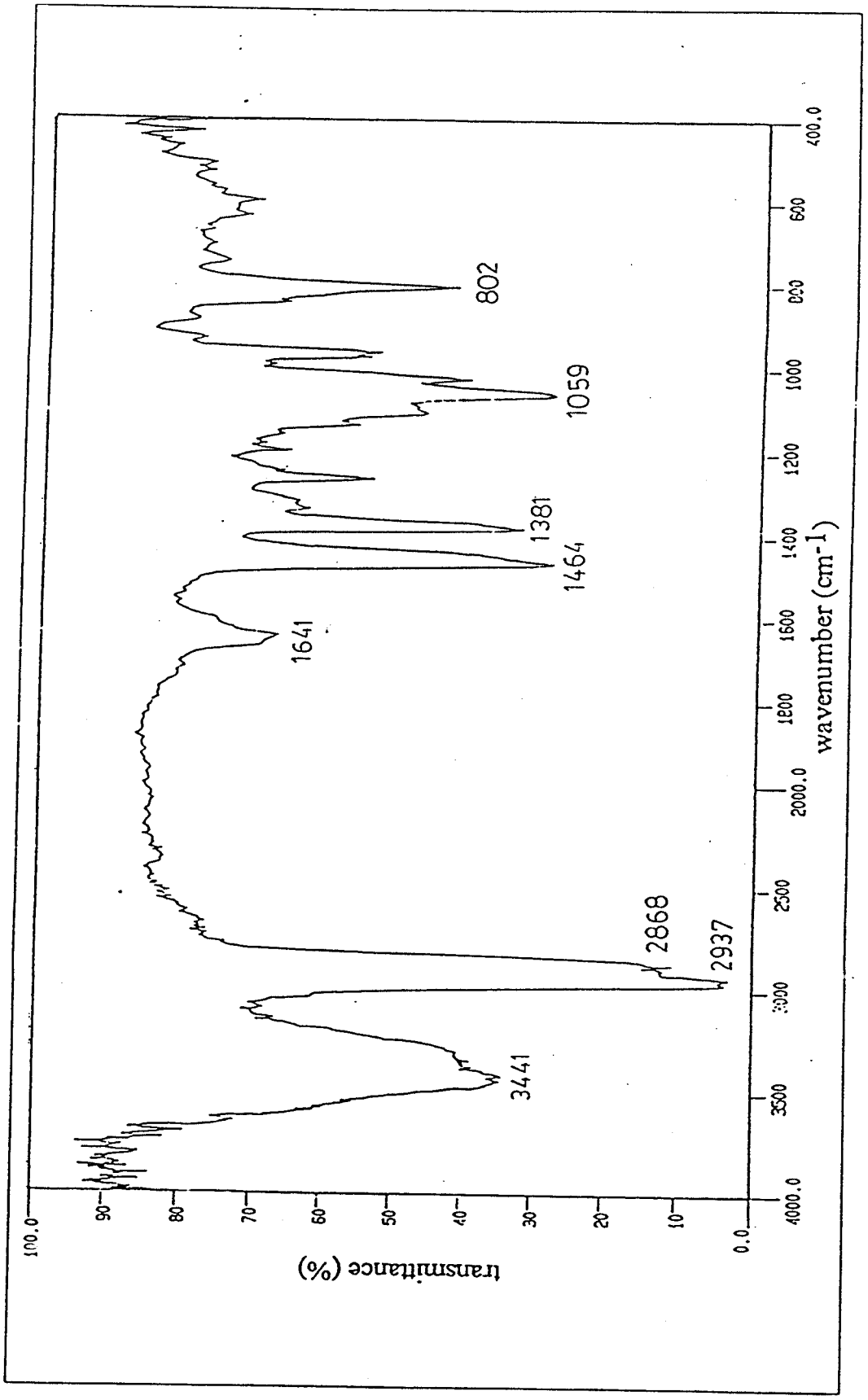
สรุปผลการทดลอง

สามารถแยกของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β - sitosterol และสารประกอบอีกสามชนิดคือ kaempferol, quercetin และ hopeaphenol และได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้ง cyclic AMP Phosphodiesterase พบว่า kaempferol, quercetin และ hopeaphenol มีฤทธิ์ยับยั้ง cyclic AMP Phosphodiesterase สูง ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 281.83, 80.91 และ 22.75 μg/ml ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ theophylline ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 419.76 μg/ml

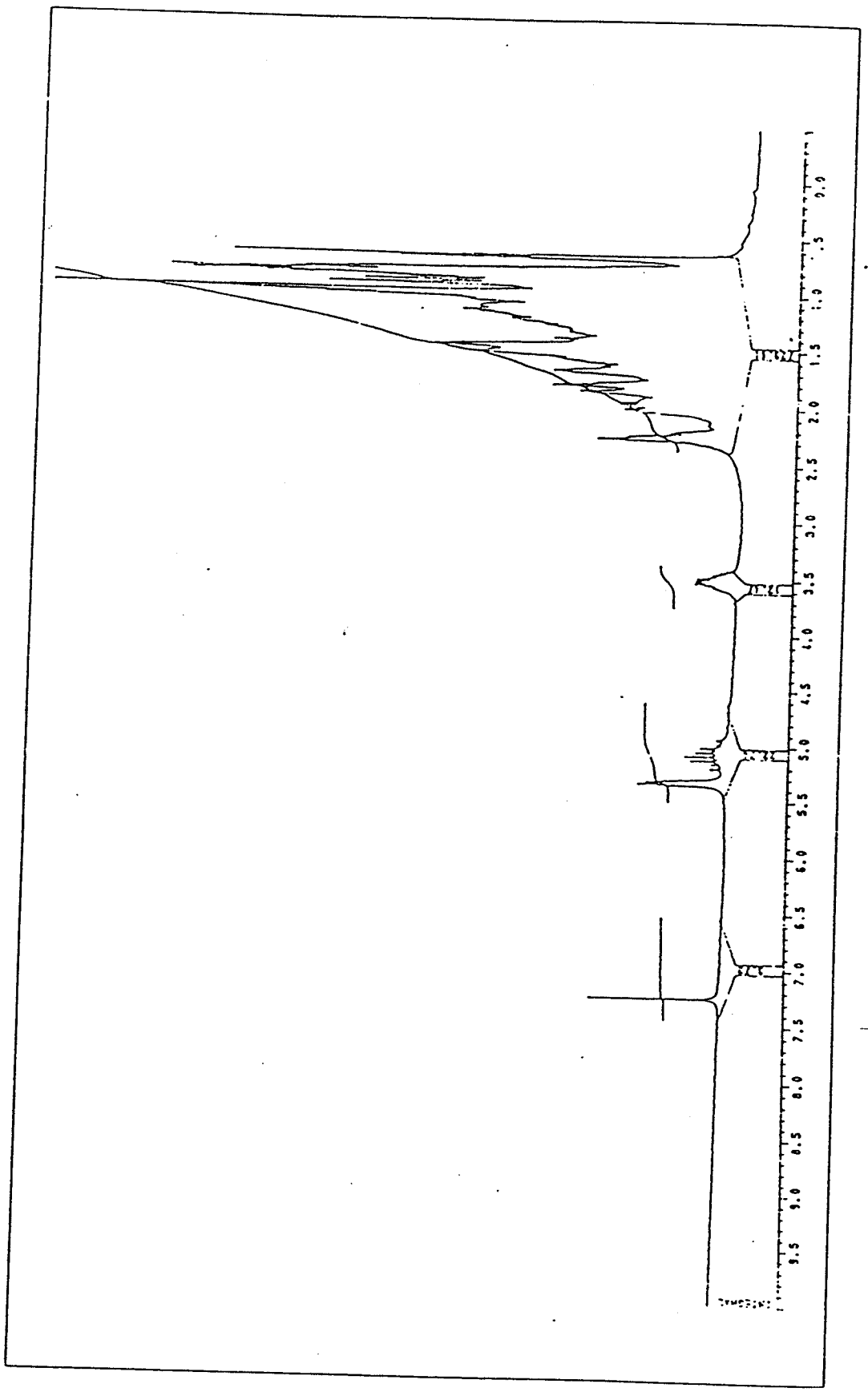
เอกสารอ้างอิง

1. วงสถิตย์ ฉั่วสกุลและคณะ. สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). (2539): 154.
2. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. สำนักพิมพ์แฟนนี่. (2523): 234.
3. Budavari, S., et al., The Merck Index 12th edition, 1996.
4. Dai, J.R., Hallock, Y.F. and et al., HIV-Inhibitory activity and Cytotoxic Oligostilbenes from the Leaves of *Hopea malibato*. J. Nat. Prod. 61(1998):351-353.
5. Sotheeswaran, S., Sultanbawa, M. U. S. and Surendrakumar, S., Polyphenols from Dipterocarp Species. Copalliferrol A and Stemonoporol. J. Chem. Soc. Perkin Trens. I. 1983: 699-702.
6. Coggon, P., King, T.J. and Wallwork, S.C., The Structure of Hopeaphenol. Chemical Communications. 1966: 439-440.

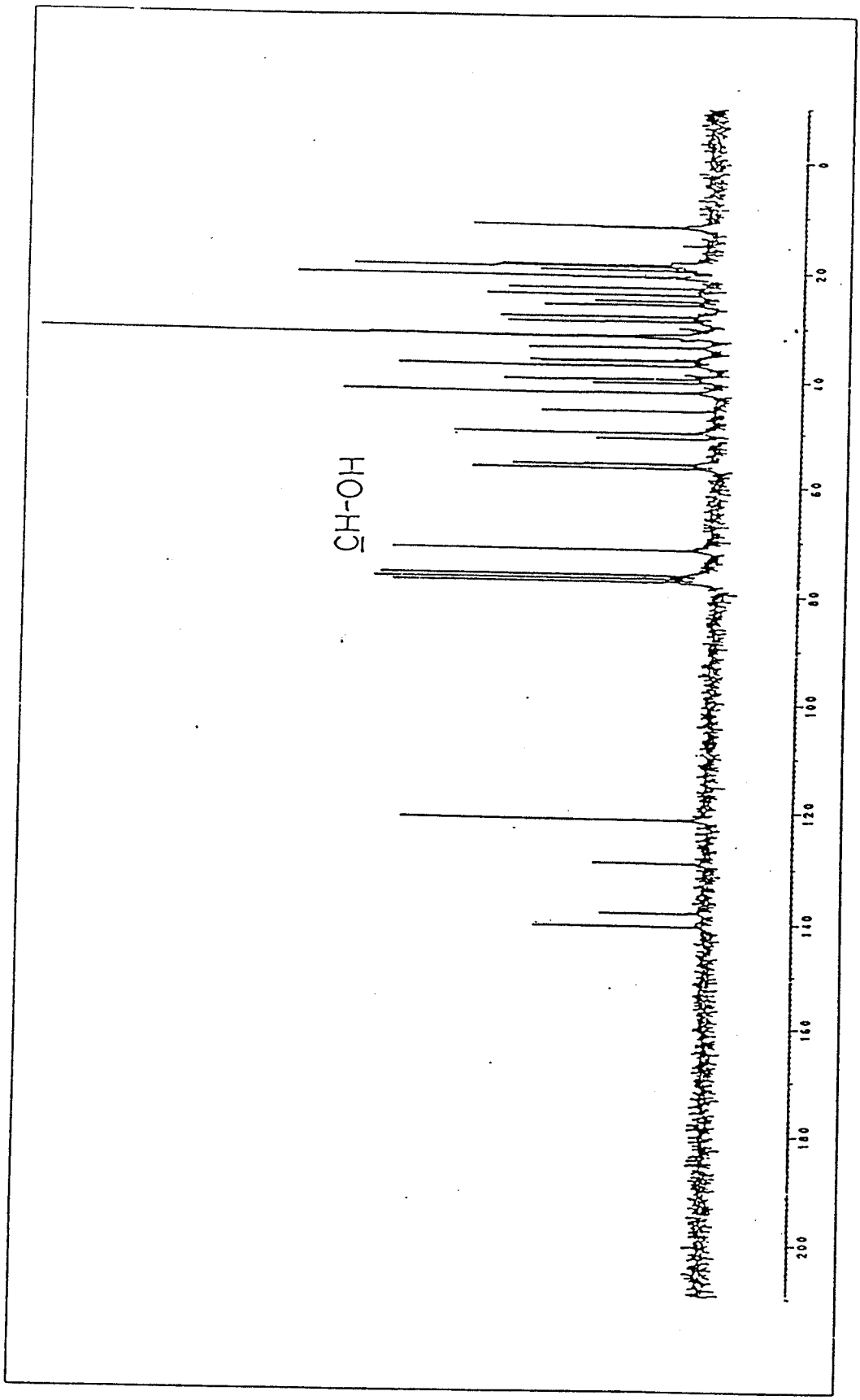
ภาคผนวก



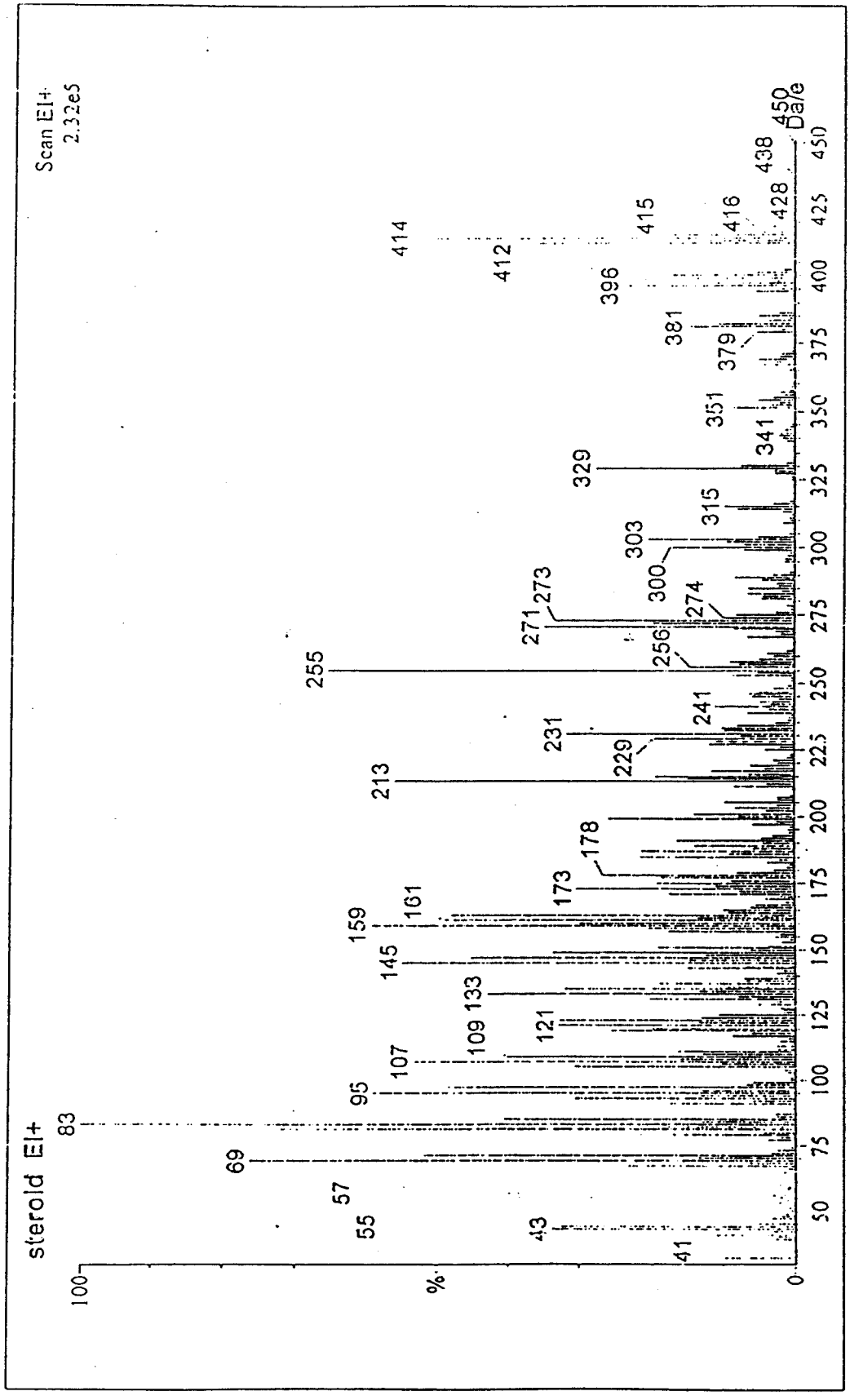
ภาพที่ 6 The IR spectrum of mixture 1



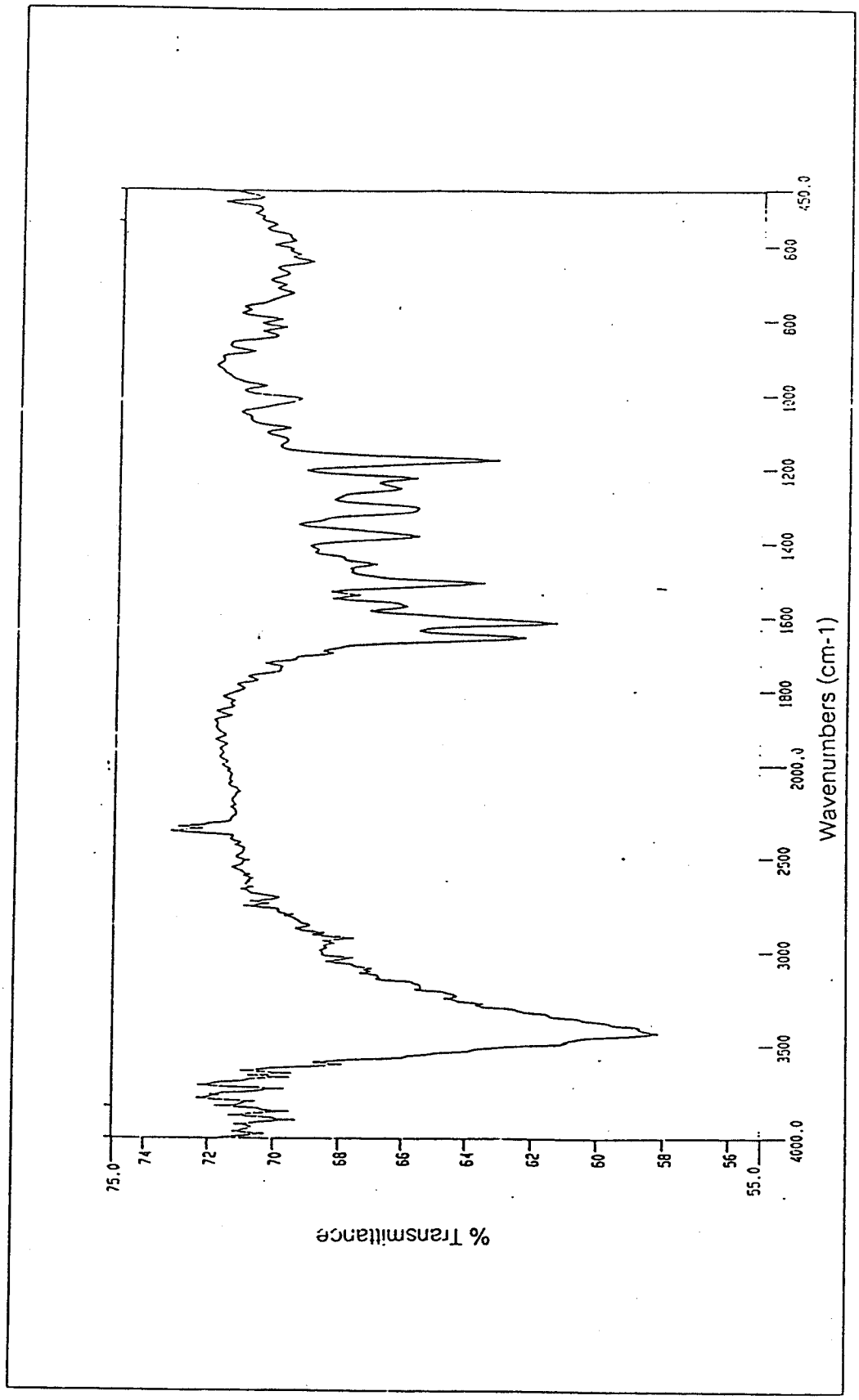
ภาพที่ 7 The ^{1}H-NMR spectrum of mixture 1



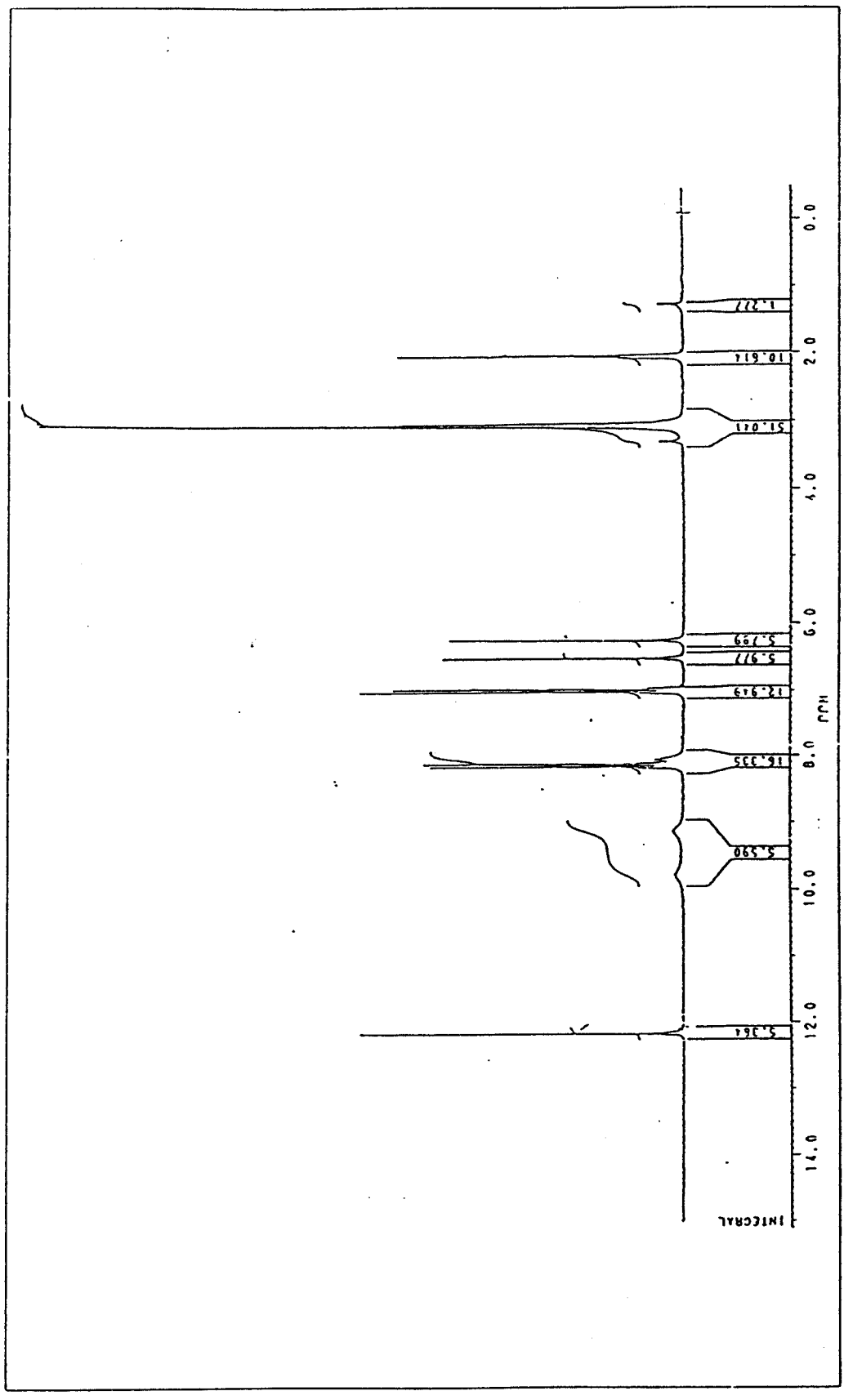
ภาพที่ 8 The ^{13}C-NMR spectrum of mixture 1



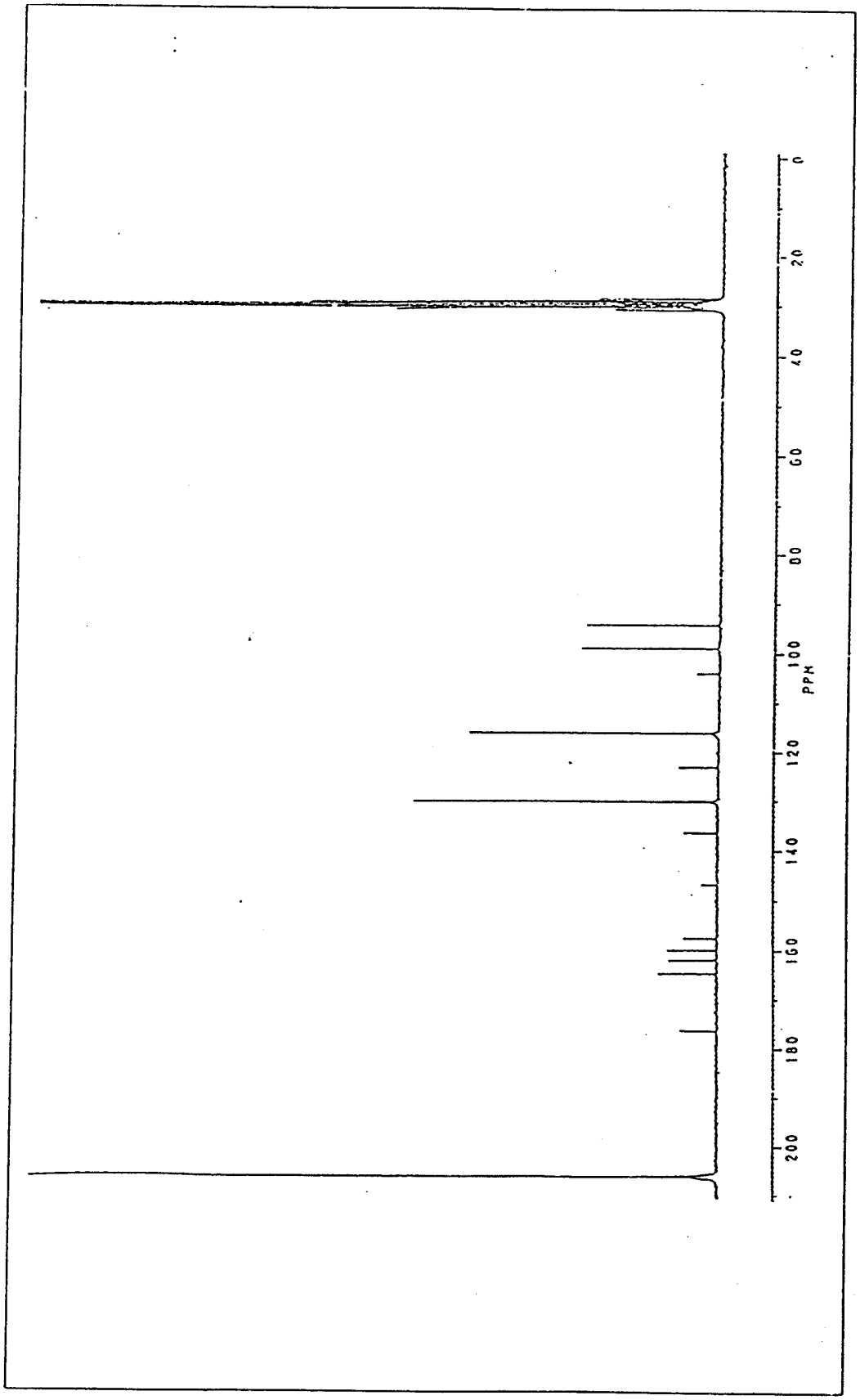
ภาพที่ 9 The mass spectrum of mixture 1



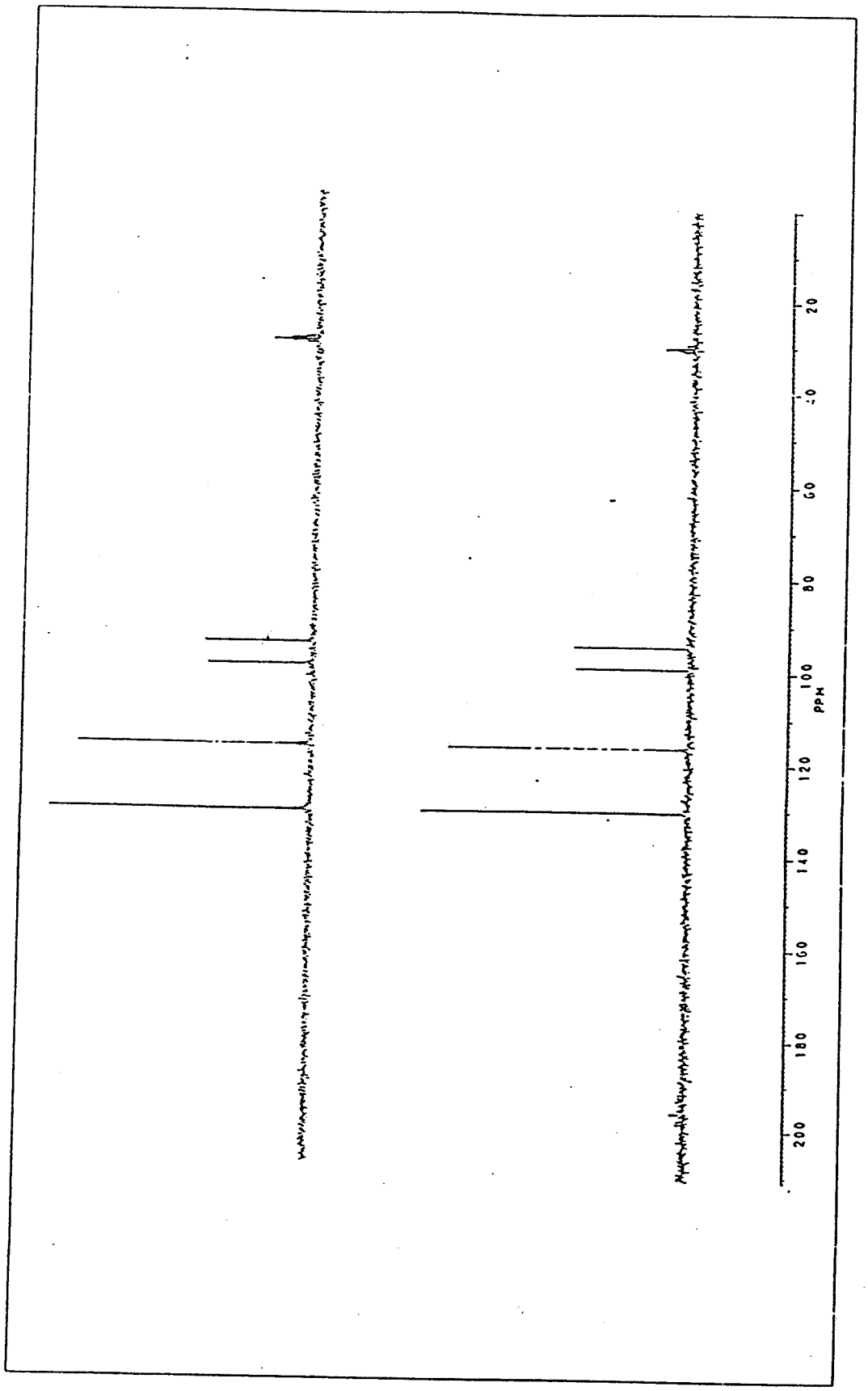
ภาพที่ 10 The IR spectrum of compound 2



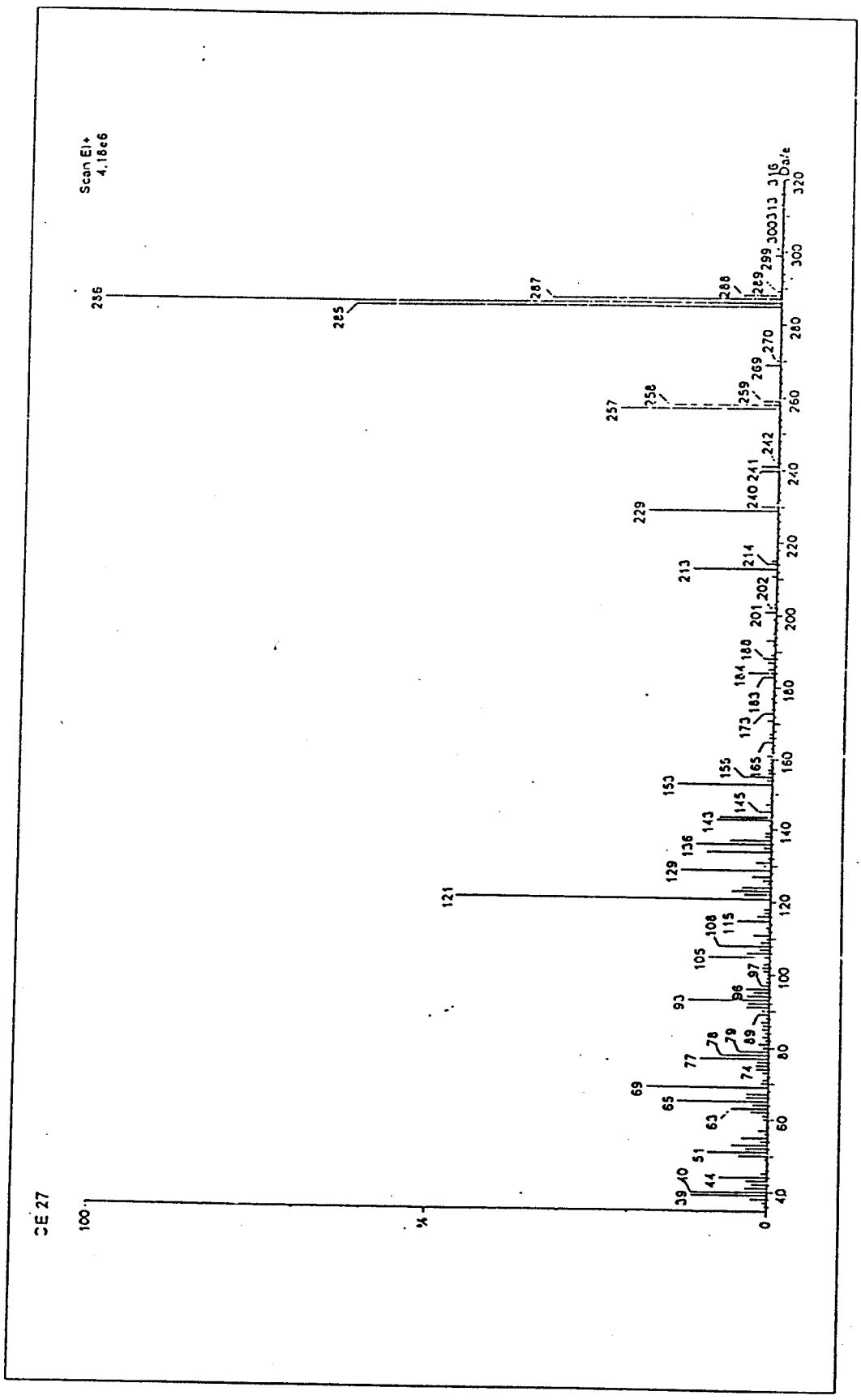
ภาพที่ 11 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 2



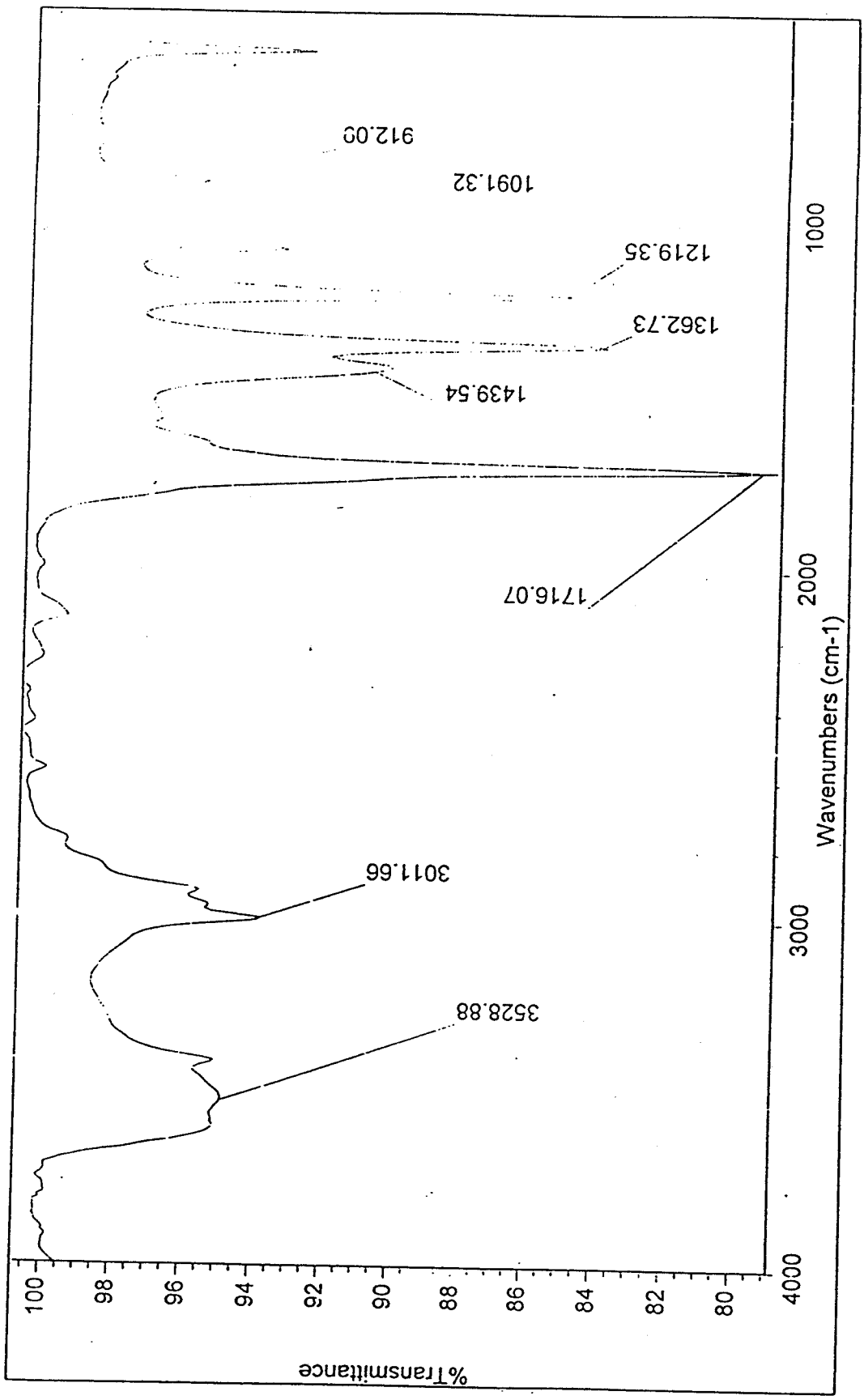
ภาพที่ 12 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 2



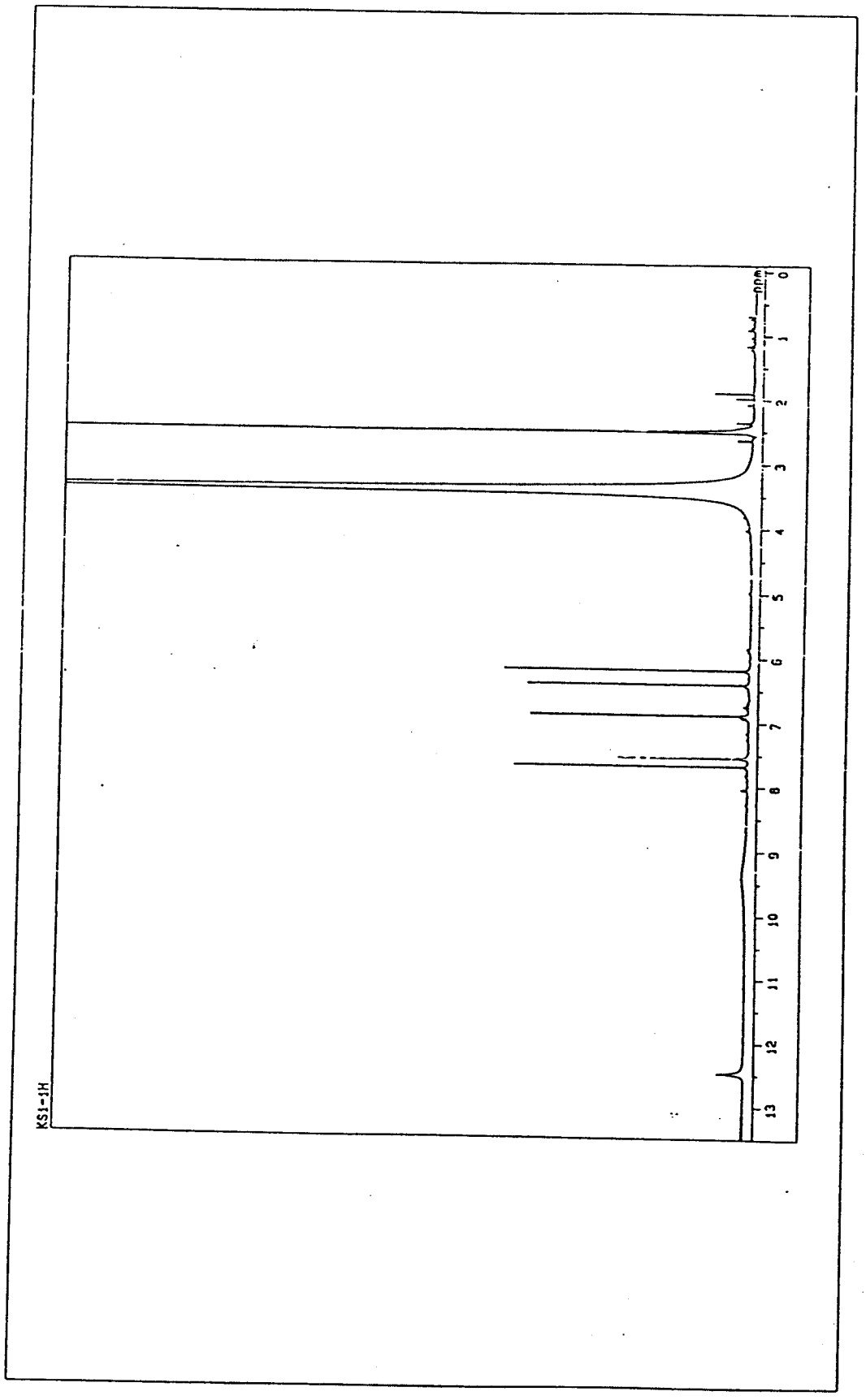
ภาพที่ 13 The DEPT 135 and 90 of compound 2



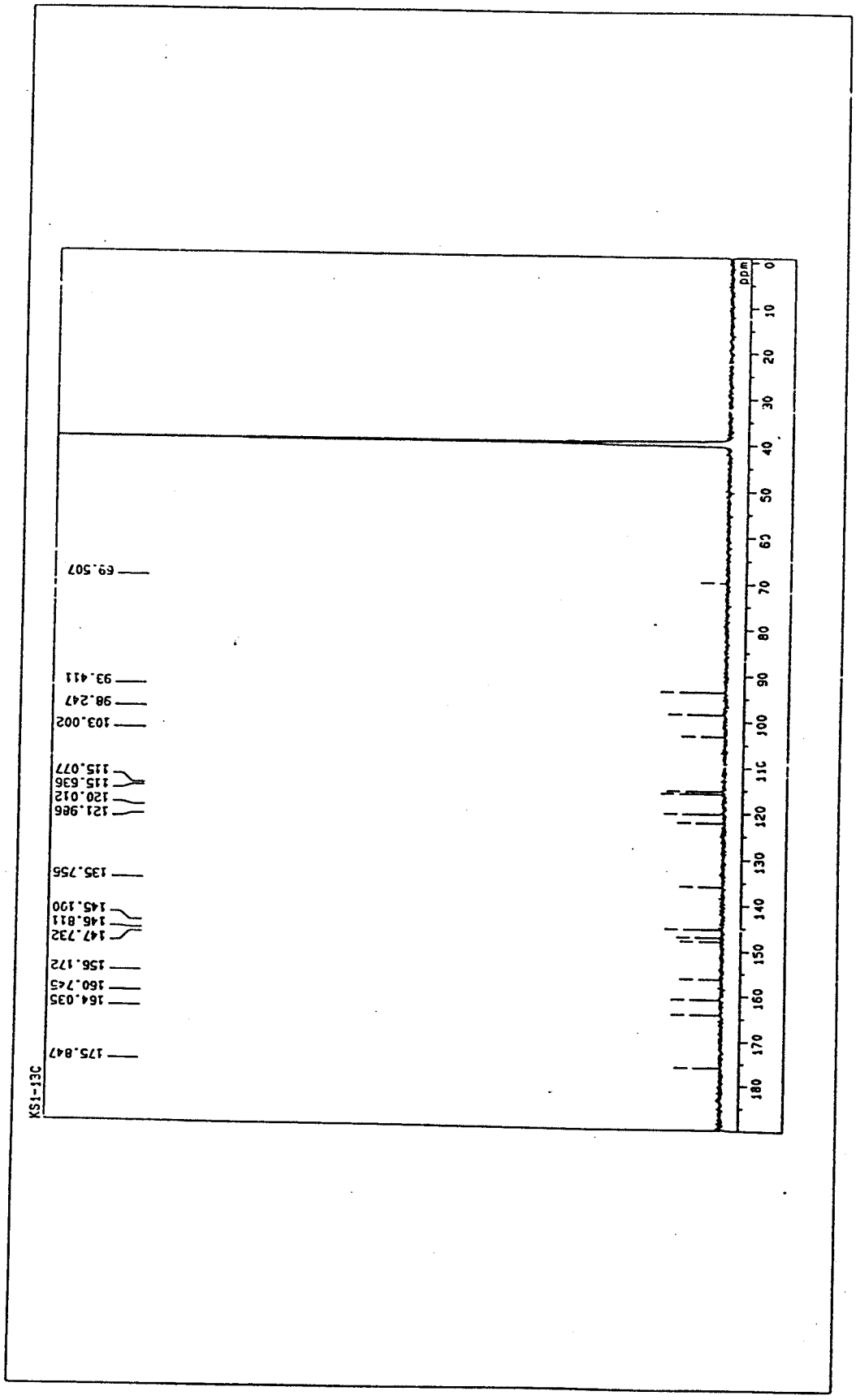
ภาพที่ 14 The mass spectrum of compound 2



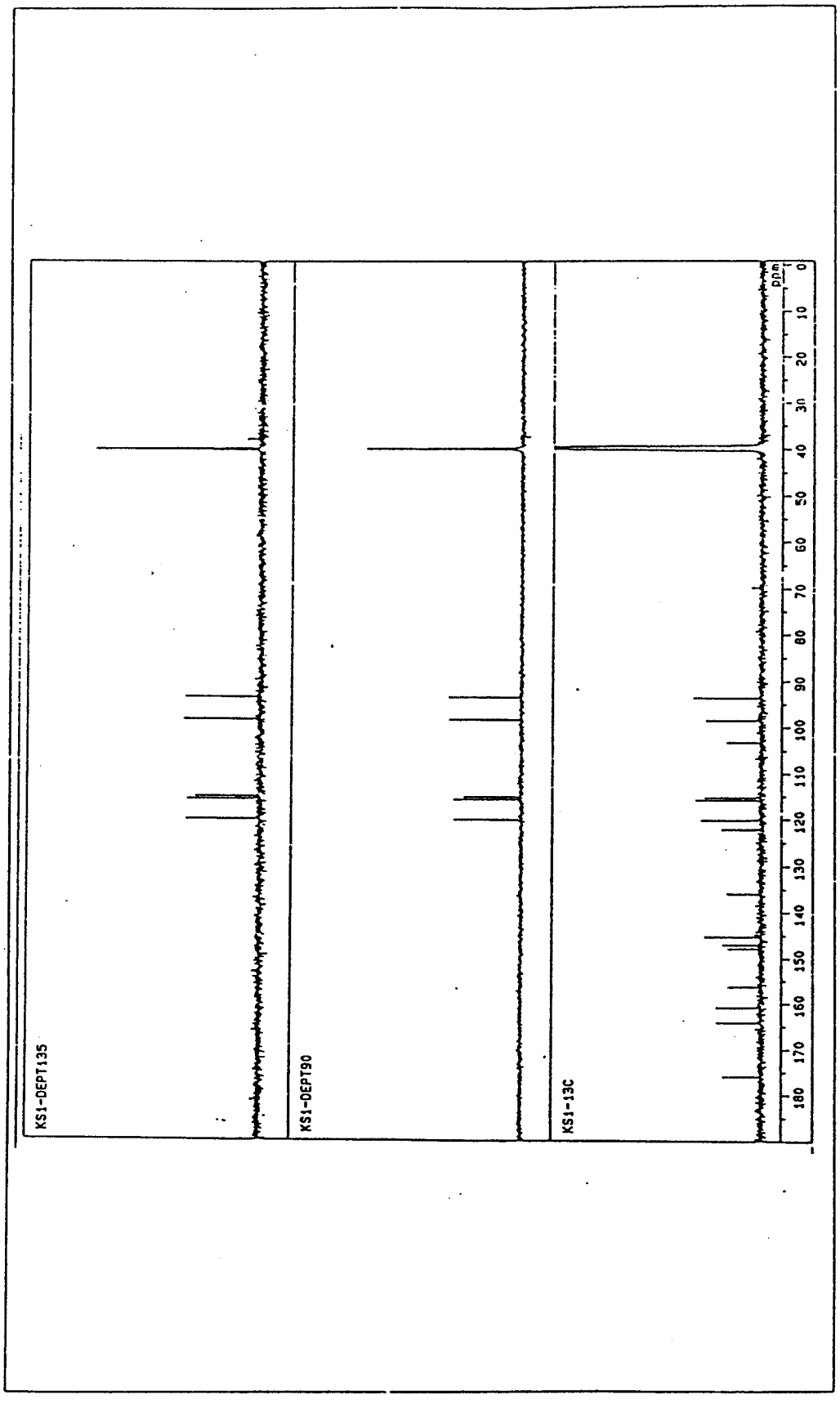
ภาพที่ 15 The IR spectrum of compcund 3



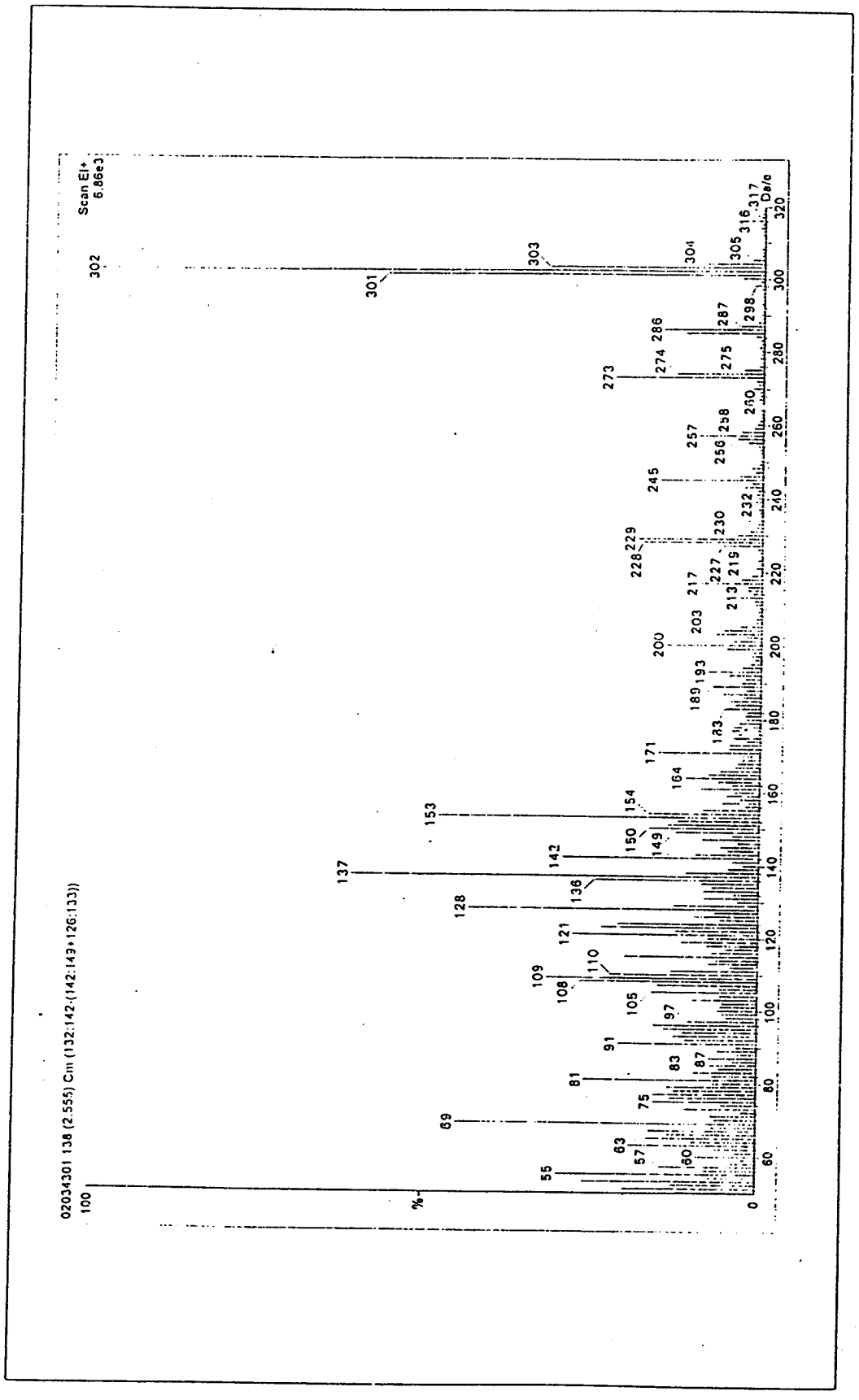
ภาพที่ 16 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 3



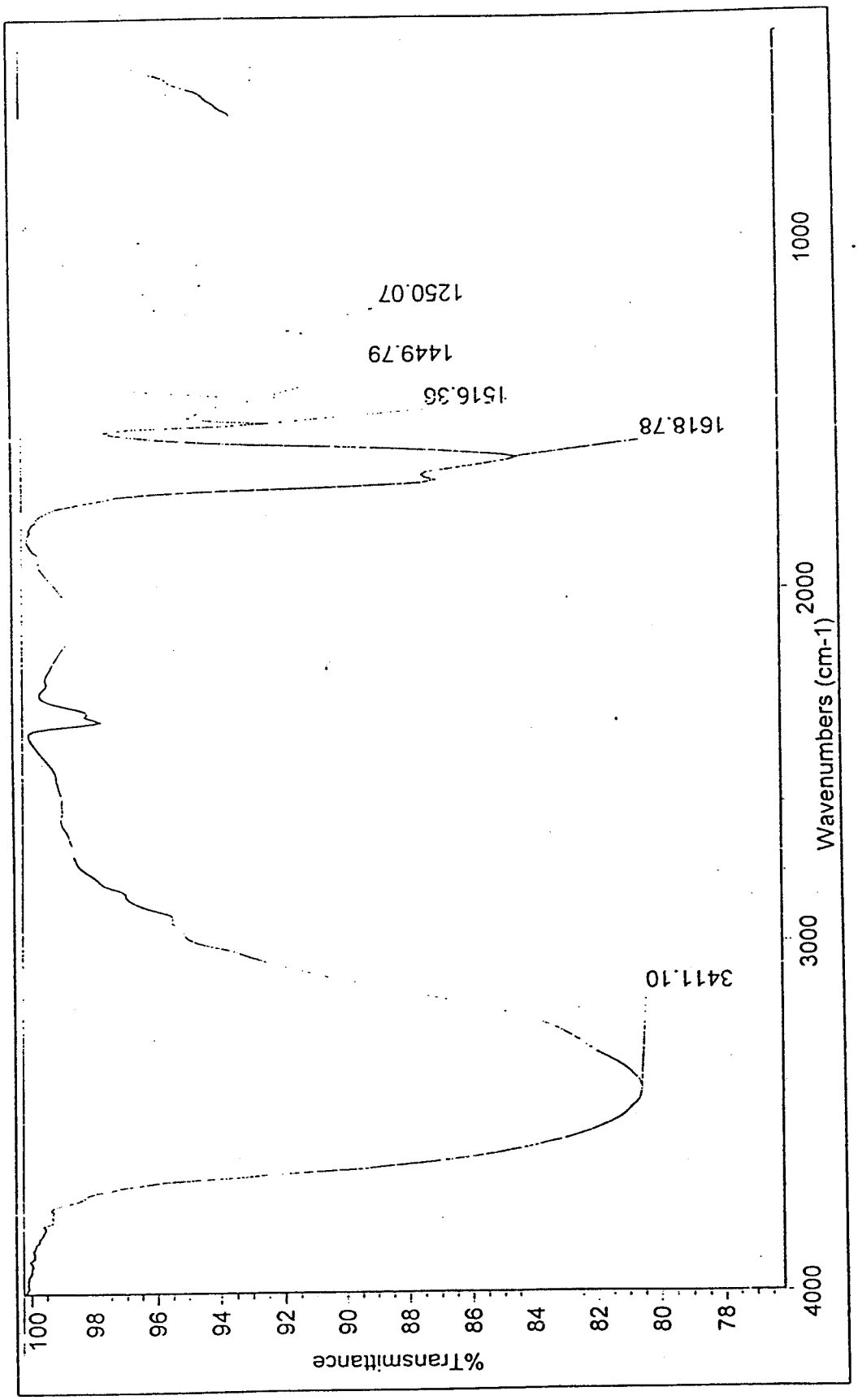
ภาพที่ 17 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 3



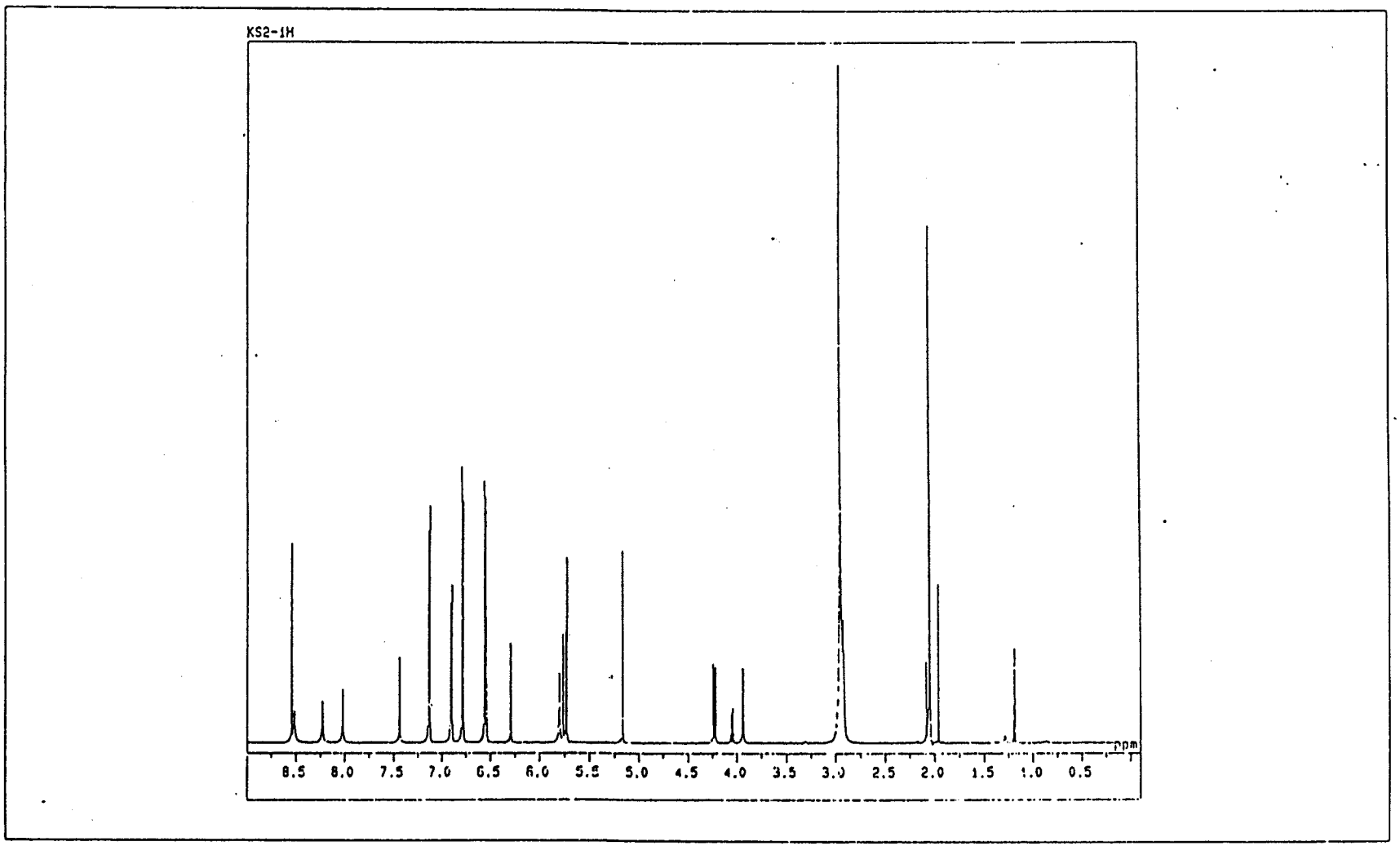
ภาพที่ 18 The DEPT 135 and 90 of compound 3



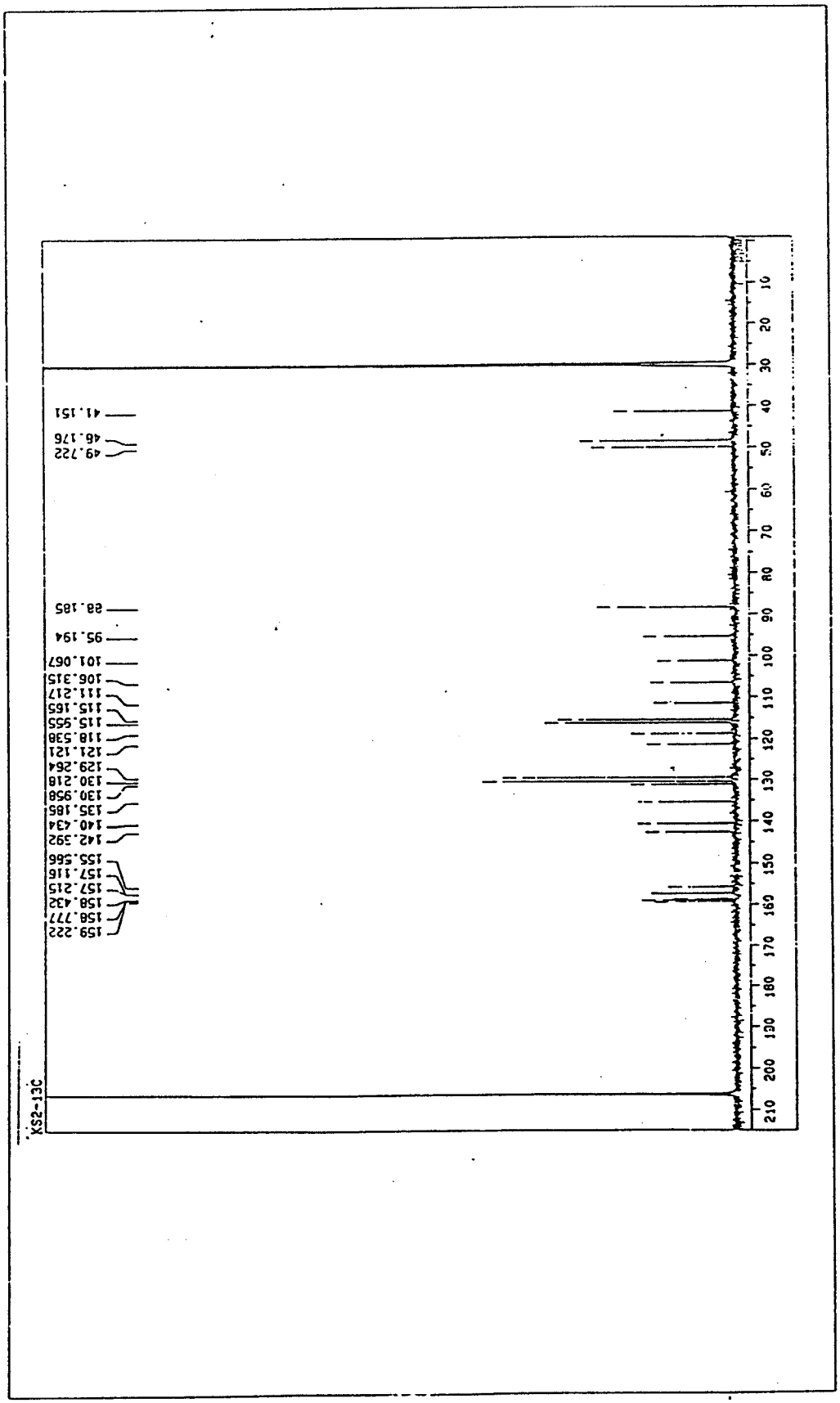
ภาพที่ 19 The mass spectrum of compound 3



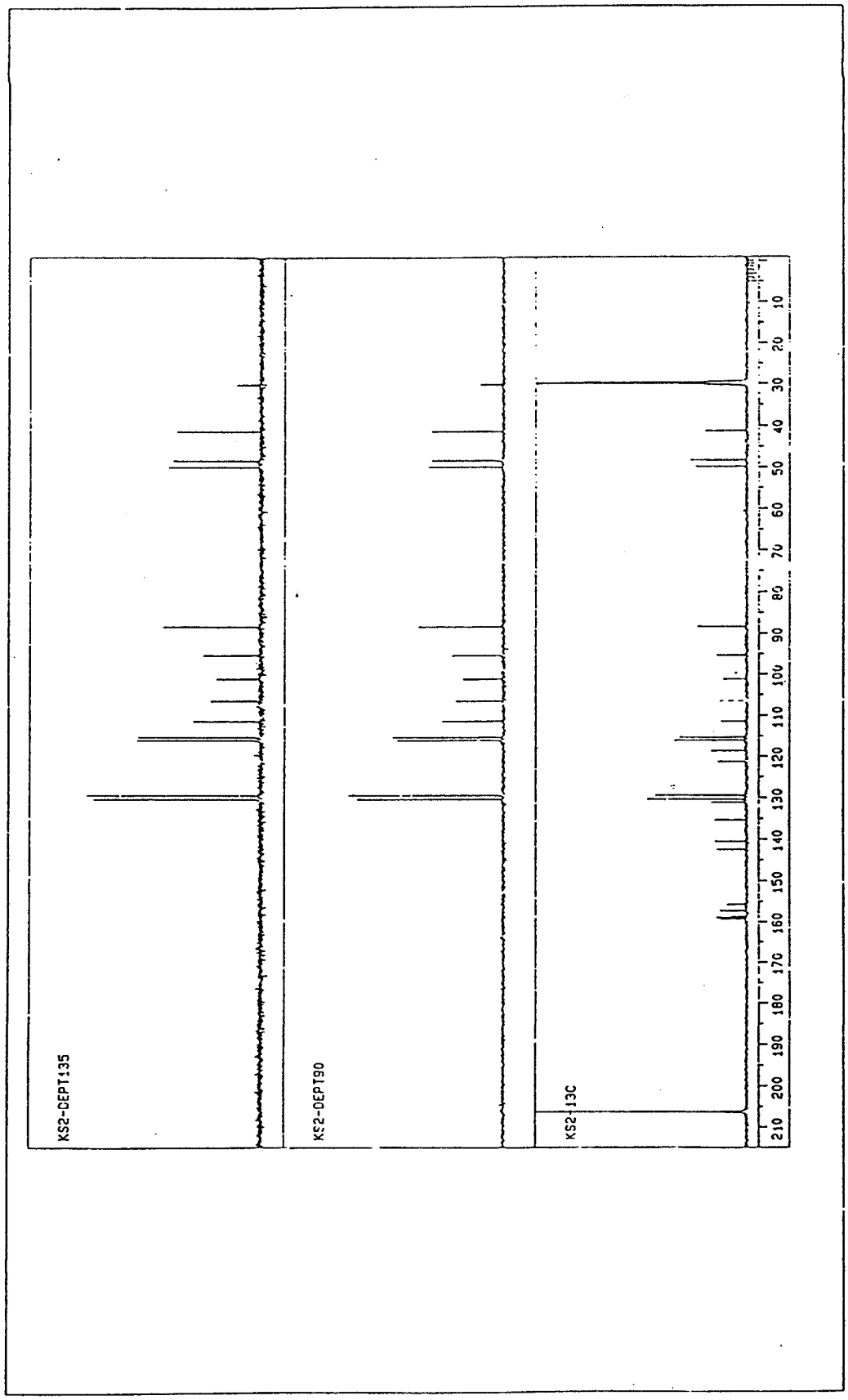
ภาพที่ 20 The IR spectrum of compound 4



ภาพที่ 21 The ^{1}H-NMR spectrum of compound 4



ภาพที่ 22 The ^{13}C-NMR spectrum of compound 4



ภาพที่ 23 The DEPT of compound 4