

การตรวจหาปริมาณอัลคาลอยด์ในหัวและเนื้อเยื่อดองคางห้วขวาน

นายกตตชัย เตชะโรจนฤทธิ์
นางสาวปัญญภัทร โสจกล

โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2537

DETERMINATION OF ALKALOID IN MICROCORM AND *IN VITRO* TISSUE CULTURE

MR. KITTICHAJ TACHAROAGANALIT

MISS PUNCHAPAT SOJIKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE BACHELOR DEGREE OF PHARMACY
FACULTY OF PHAMACY, MAHIDOL UNIVERSITY

1994

บทคัดย่อ

ดองดง (*Gloriosa superba* Linn.) เป็นไม้เลื้อยล้มลุก พบอัลคาลอยด์ที่สำคัญคือ โคลชชิน (colchicine) มีประโยชน์ทางการแพทย์ ใช้บำบัดรักษาโรคเกาต์ชนิดเฉียบพลัน จึงนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในสตรอาหาร 3 กลม โดยทุกกลมเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับในภาชนะต่างกันคือ ฟลาส กับขวดแก้ว กลม ก คือ (1) RTY₃ (2) Modified MS-Y₃ [MSY₃] (3) Modified MS-Y₃-Gamborg [MSY₃-G] กลม ข ชนิดฮอร์โมนพืชในสตรอาหาร RTY₃ คือ (1) N₄B₄ (2) N₂I₂B₄ (3) N₂K₂B₄ (4) N₂B₄abscisic acid กลม ค ระดับความเป็นกรด-ด่างของ RTY₃ ดังต่อไปนี้ (1) pH 2.8 (2) pH 3.8 (3) pH 4.8 (4) pH 5.8 วัดการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนักส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ลำต้น หัว และราก ทดสอบอัลคาลอยด์โดยใช้ Dragendroff's reagent ตรวจหาโทรโปโลนอัลคาลอยด์โดยใช้ TLC ตรวจการเกิดสตอ Dragendroff's reagent และวิเคราะห์ปริมาณโคลชชิน โดยใช้ HPLC และ เอทิลพาราเบนเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน จากการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงใน ฟลาส เจริญเติบโตได้ดีกว่าใน ขวดแก้ว เมื่อเปรียบเทียบกับสตรอาหารกลม ก พบว่าลำต้น (68.3 กรัม) และหัว (3.1 กรัม) เจริญได้ในอาหารสตร RTY₃ และส่วนหัวให้ปริมาณโคลชชินสูงสุด 0.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนรากเจริญได้ในสตรอาหาร MSY₃-G ให้น้ำหนัก 40.4 กรัม เมื่อเปรียบเทียบผลของกลม ข พบว่า ส่วนหัวเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในสตรอาหาร RTY₃ (N₂I₂B₄) ให้น้ำหนัก 4.1 กรัม ส่วนลำต้น และรากเจริญได้ในอาหาร RTY₃ (N₄B₄) ให้น้ำหนัก 68.3 และ 12.4 กรัม ตามลำดับ และศึกษาเปรียบเทียบสภาวะความเป็นกรด-ด่างของอาหารสตร RTY₃ ในกลม ค พบว่าที่ pH 2.8 ไม่สามารถเจริญได้ แต่เจริญได้ในสตรอาหาร ซึ่งกระตุ้นด้วย pH 3..8 ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงใน pH 4.8 แต่ส่วนหัวให้ปริมาณโคลชชินสูงสุด 0.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง เมื่อเลี้ยงใน pH 5.8 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดองดงในสตรอาหารทั้ง 3 กลมพบว่า อาหารสตร RTY₃ (N₂I₂B₄) pH 5.8 ให้น้ำหนักหัวและปริมาณโคลชชิน ในผลรวมสูงกว่า RTY₃ (N₄B₄) pH 5.8 ซึ่งให้ปริมาณโคลชชินสูง

สุด

ABSTRACT

Gloriosa superba Linn. is a climbing herbaceous plant. The main alkaloid is colchicine which has the medical value in treatment of acute gout. The plant was *in vitro* cultivated in 3 different conditions of culture media. The comparison study was done by maintain the cultures in 2 types of container, such as flask and bottle. Group A was compared among culture medium formulae. That were (1) RTY₃ (2) MSY₃ (3) MSY₃-G. Group B was studied the effect of phytohormone levels, (1) N₄B₄ (2) N₂I₂B₄ (3) N₂K₂B₄ (4) N₂B₄ABA, in RTY₃ medium. Group C was studied the effect of pH, (1) pH 2.8 (2) pH 3.8 (3) pH 4.8 (4) pH 5.8, in RTY₃. The growth rate of *Gloriosa superba* Linn. was measured by weighing of stem, corm and root. The alkaloid detection was done by using Dragendorff's reagent and separated the tropolone alkaloid by TLC with Dragendorff's spray reagent. The content of colchicine determined by HPLC and used ethyl paraben as internal standard. The result showed that the growth of *Gloriosa superba* Linn. cultured in flasks were better than in bottles. In term of culture medium, stem and corm propagated fastly (68.3 and 3.1 g) and corm produced the highest amount of colchicine (0.4% dw) in RTY₃ where as root showed the highest propagation in MSY₃-G (40.4 g). The result from treatment in group B, part of corm was shown the best growth in RTY₃ plus N₂I₂B₄ (4.1 g) but stem (68.3 g) and root (12.4 g) were best in RTY₃ plus N₄B₄. The result from pH treatments of RTY₃ found at pH 2.8, *Gloriosa superba* Linn. could not survive, but appeared to propagate well if pretreated the culture in medium at pH 3.8 and then transferred to medium at pH 4.8. However, the highest colchicine content in corm was found when cultured in medium at pH 5.8. In conclusion, the *in vitro* culture of *Gloriosa superba* Linn. in RTY₃ (N₂I₂B₄) at pH 5.8, produced the highest yield of corm and colchicine, which in total was better than cultured in RTY₃ (N₄B₄) at pH 5.8.

กตตกรรมประกาศ