

ผลของกาแฟอีก แอซิด และ กอลลิค แอซิด ต่อการเกิดต้นอ่อนของดองดึง

นางสาวกรวีร์ วงศ์สาคร

นางสาวทิวพร เจริญศิริ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเกษตรศาสตรบัณฑิต

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2538

**EFFECT OF CAFFEIC ACID AND GALLIC ACID IN INDUCTION  
OF *Gloriosa superba* Linn. *IN VITRO* PLANTLETS.**

**MISS KORNRAWEE WONGSAKHON**

**MISS TIWAPORN JAROENSIRI**

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE BACHELOR DEGREE OF PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY, MAHIDOL UNIVERSITY

1995

บทคัดย่อ

ดอกดั่งหัวขวาน (*Gloriosa superba* L.) เป็นพืชในวงศ์ Colchicaceae มีอัลคาลอยด์ที่สำคัญคือ โคลชิซิน (colchicine) ใช้บำบัดโรคเก๊าท์ (gout) การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสาร อีควิฟาลอญัมยับยั้งการเจริญเติบโตคือ คาฟเฟอิก แอซิด (caffeic acid) และกอลลิกแอซิด (gallic acid) ต่อการเกิดต้นอ่อนของดอกดั่งจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร PP (PP solid media) ที่มีฮอร์โมนพืช NAA และ BAP ความเข้มข้นอย่างละ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 5.8 โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรก เติมหาคาฟเฟอิก แอซิด ความเข้มข้นดังนี้ (1) 0.05 (2) 0.20 (3) 0.15 (4) 0.20 (5) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร กลุ่มที่สอง เติมหากอลลิก แอซิด ความเข้มข้นดังนี้ (1) 0.15 (2) 0.20 (3) 0.25 (4) 0.30 (5) 0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบผลการทดลองในพลาสติกและขวดแก้ว ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 7 สัปดาห์ วัดปริมาณการเกิดต้นอ่อนของดอกดั่งโดยชั่งน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อที่ได้ทั้งหมด ผลการทดลองพบว่าคาฟเฟอิก แอซิด ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร และกอลลิก แอซิด ความเข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณการเกิดต้นอ่อนมากที่สุด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพลาสติกให้ปริมาณการเกิดต้นอ่อนมากกว่าขวดแก้ว ตรวจสอบหาสารสำคัญด้วยวิธี TLC จากสารสกัดเนื้อเยื่อหัว พบโคลชิซินและเบต้าลูมิโคลชิซิน ( $\beta$ -lumicolchicine) ผลการวิเคราะห์สารสำคัญในดอกดั่งที่ได้จากแหล่งต่างกัน คือ เนื้อเยื่อหัว เนื้อเยื่อรากเล็ก เนื้อเยื่อรากแผ่ หัวจากธรรมชาติ เมล็ดแก่ และเมล็ดเริ่มงอก โดยใช้เทคนิคต่างๆ ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี HPLC พบว่า หัวจากธรรมชาติมีปริมาณเบต้าลูมิโคล

ชิซีนสูงสุด (0.24 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง) ตรวจสอบหาสารสำคัญด้วยวิธี TLC พบสาร โคลชิซีนและเบต้าลูมิโคลชิซีนใน 4 ตัวอย่าง แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อรากเล็กและเนื้อเยื่อรากแผ่ ตรวจสอบอัลคาลอยด์ด้วยน้ำยาดกตะกอนและการเกิดสีต่อ Dragendorff's spray reagent พบว่าทุกตัวมีอัลคาลอยด์ การทดลองนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องเพื่อหาสารชีวภาพที่ช่วยปริมาณการ เกิดต้นอ่อนของดองดึงสูงสุดโดยอาศัยเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อสามารถผลิตหัวต้นพันธุ์ได้ ตลอดทั้งปี เนื่องจากโดยธรรมชาติดองดึงสามารถเจริญเติบโตได้เฉพาะฤดูฝนเท่านั้น จึงขอเสนอแนะว่าควรมีการทดลองต่อไปอีกเพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการเร่งให้เกิดต้นอ่อนของดองดึง

## ABSTRACT

*Gloriosa superba* L. is a member of the family Colchicaceae. The main alkaloid is colchicine which have been used to cure acute gout. This work has been to study the effect of caffeic acid and gallic acid, which were abiotic elicitors of growth inhibitors group, to the induction of *Gloriosa superba* L. *in vitro* plantlets. The plant was *in vitro* cultivated on PP solid media supplemented with NAA and BAP at concentration each of 2.0 mg/l, at pH 5.8. First group we were studied the effect of caffeic acid at five concentrations, (1) 0.05 (2) 0.10 (3) 0.15 (4) 0.20 (5) 0.25 mg/l. Second group we were studied the effect of gallic acid at five concentrations, (1) 0.15 (2) 0.20 (3) 0.25 (4) 0.30 (5) 0.35 mg/l. The comparison study was done by maintain the cultures in 2 types of container, such as flask and bottle. The duration of maintainance of cultures was 7 weeks. The growth of *Gloriosa* plantlet was measured by weighting of total fresh weight. The result showed that 0.10 mg/l of caffeic acid and 0.20 mg/l of gallic acid stimulated the maximum of differentiated plantlets. The growth of G

loriosa cultures in flasks were better than in bottles. It was found colchicine and  $\beta$ -lumicolchicine in extracts of corm cultures by TLC. Assays of the alkaloids of *Gloriosa* from different sources, such as corm cultures, small root cultures, enlarge root cultures, natural corms, mature seeds and germinated seeds. Quantitative column chromatography showed that natural corms produced the highest amount of  $\beta$ -lumicolchicine (0.24% on dry weight). Colchicine and  $\beta$ -lumicolchicine were not present in small root cultures and enlarge root cultures by TLC. All samples could be detected alkaloids by using precipitating reagent and Dragendorff's spray reagent. This project was the continuous study to find suitable abiotic elicitors which induced to produce a large amount of *Gloriosa superba* L. *in vitro* plantlets, to be used for propagating tubers all year round, because this plant normally propagate only in rainy season. We suggest that the study should be continued to find the best condition for the induction of *Gloriosa superba* L. *in vitro* plantlets.

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลงด้วยดี ผู้ทำการวิจัยขอแสดงความขอบพระคุณอย่างสูงต่อ ผศ.พรนิกา ชุมศรี อาจารย์ที่ปรึกษา นางสาวสิริพรรณ ลิ้มศิริชัยกุล นางสาวสุรางค์ อิงค์ประเสริฐ นักศึกษาปริญญาโท ผู้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณ นางสาวพองศรี สว่างสุขสกุล เจ้าหน้าที่โครงการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อปรับปรุงสมุนไพร ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆระหว่างที่ทำการวิจัย รวมทั้งนักศึกษาปริญญาโทท่านอื่นๆ และผู้ที่มีส่วนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ทุกท่าน ผู้ทำการวิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย