

การแยกหาสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
ในดอกกันภัยมหิดล

นางสาวกมลทิพย์ พรหมศิริ
นางสาวสุวิชญา แสงภู่วงค์
นางสาวอโณทัย หาญเจริญ

\

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2557

THE SEPARATION OF ANTIOXIDANTS FROM
Afgekia Mahidoliae FLOWERS

MISS KAMONTIP PROMSIRI
MISS SUWICHAYA SANGPHUWONG
MISS ANOTHAI HANCHAROEN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2014

โครงการพิเศษ
เรื่องการแยกหาสารออกฤทธิ์ด้านออกซิเดชันจากดอกกันภัยมหิดล

ลายเซ็น

.....
(นางสาวกมลทิพย์ พรหมศิริ)

ลายเซ็น

.....
(นางสาวสุวิษฐา แสงภู่วงค์)

ลายเซ็น

.....
(นางสาวอโณทัย หาญเจริญ)

ลายเซ็น

.....
(อาจารย์ณัฐฉิณี อนันตโชค)
อาจารย์ที่ปรึกษา

บทคัดย่อ

การแยกหาสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากดอกกันภัยมหิดล

กมลทิพย์ พรหมศิริ, สุวิษฎา แสงภูวรงค์, อโณทัย หาญเจริญ

อาจารย์ที่ปรึกษา : ญัฐฐินี อนันตโชค

ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน, กันภัยมหิดล

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และ แยกหาสารสำคัญ ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จากสารสกัดด้วยเมทานอลจากดอกของต้นกันภัยมหิดล (*Afgekia mahidoliae*) ซึ่งเป็นต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยมหิดล โดยขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยเริ่มจากการสกัดดอกของต้นกันภัยมหิดลโดยการหมักด้วย เมทานอล ได้สารสกัดหยาบเมทานอลทั้งหมด 81.8722 กรัม และนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว ด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) และสเปกโทรโฟโตเมตริก (spectrophotometric method) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลของดอกกันภัยมหิดลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และมีค่า IC_{50} เท่ากับ $405.75 \pm 58.76 \mu\text{g/mL}$ จึงนำสารสกัดเมทานอลของดอกกันภัยมหิดลมาแยกด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี และนำส่วนของสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วย TLC จากนั้นนำส่วนของสารสกัดที่มีฤทธิ์ไปแยกต่อด้วยวิธี column chromatography ได้สาร 6 ชนิด ซึ่งสามารถพิสูจน์โครงสร้างได้เป็น stigmasterol ผสมกับ β -sitosterol, daucosterol, kaempferol-3-O- β -glucopyranoside, kaempferol และ 3-O-methyl inositol (pinitol) โดยเปรียบเทียบข้อมูลจากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ (Nuclear Magnetic Resonance) กับข้อมูลที่เคยมีรายงานมาก่อน แต่จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารทั้ง 6 ชนิด ด้วย TLC พบว่ามีสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ 3 ชนิด คือ kaempferol-3-O- β -glucopyranoside, 3-O-methyl inositol และ kaempferol เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิดโดยวิธี DPPH assay เพื่อหาค่า IC_{50} โดยศึกษาเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid พบว่าสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดคือ kaempferol โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $37.79 \pm 5.62 \mu\text{g/mL}$ ส่วน kaempferol-3-O- β -glucopyranoside และ 3-O-methyl inositol นั้นมีฤทธิ์น้อยเนื่องจากที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{g/mL}$ มีค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพียง 18.21 % and 6.52 % ตามลำดับ

Abstract

The Separation of Antioxidants from *Afgekia mahidoliae* Flowers

Kamoltip Promsiri, Suwichaya Sangphuwong, Anothai Hancharoen

Project advisor : Natthinee Anantachoke

Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : Antioxidant activity, *Afgekia mahidoliae*

This research focused on studying the antioxidative effect and isolating the antioxidant compounds from the methanol extract of the flowers of *Afgekia mahidoliae* (Kan phai Mahidol), the symbolic plant of Mahidol University. The dried flowers of *Afgekia mahidoliae* were extracted by maceration with methanol to yield 81.8722 g of the dried crude extract. The antioxidative effect of the crude methanol extract was first evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity with thin layer chromatography (TLC) method. It was found that the methanol extract showed anti-DPPH activity. Furthermore, the IC_{50} value of the crude methanol extract by spectrophotometric method was 405.75 ± 58.76 $\mu\text{g/mL}$. Then methanol extract of *A. mahidoliae* was separated by chromatography technique. The obtained fractions were tested for DPPH radical scavenging activity with TLC. The fractions that had antioxidant effect were further separated by column chromatography to give 6 compounds which were identified to be the mixture of stigmasterol and β -sitosterol, daucosterol, kaempferol 3-O- β -glucopyranoside, kaempferol and 3-O-methyl inositol (pinitol) by comparison of their ^1H - and ^{13}C -NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spectra with the previous reports. The six isolated compounds were then tested for DPPH radical scavenging activity with TLC method. Among those, three compounds, kaempferol-3-O-glucopyranoside, 3-O-methyl inositol and kaempferol, showed antioxidant property against DPPH radicals on the TLC plate. Therefore, kaempferol-3-O-glucopyranoside, 3-O-methyl inositol and kaempferol were tested for DPPH radical scavenging activity by using DPPH assay and gallic acid was used as a reference standard. The results showed that kaempferol exhibited the strongest inhibitory activity with the IC_{50} value of 37.79 ± 5.62 $\mu\text{g/mL}$. Whereas, kaempferol-3-O- β -glucopyranoside and 3-O-methyl inositol showed weak activity with 18.21 and 6.52 % inhibition at the concentration 100 $\mu\text{g/mL}$, respectively.