SIRIPORN RIYAJAN : COMPARISON OF ANTIOXIDANT AND α-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES AMONG THREE DIFFERENT *DERRIS RETICULATA* CRAIB. STEM EXTRACTS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NUANNOI CHUDAPONGSE, Ph.D. 94 PP.

DERRIS RETICULATA CRAIB./PHYTOCHEMICAL SCREENING/ ANTIOXIDANT/CYTOPROTECTIVE/α-GLUCOSIDASE

The aqueous extract of *Derris reticulata Craib.* (Leguminosae) has been shown to exhibit an anti-diabetic activity both in *in vitro* study and in alloxan-induced diabetic rats. It was proposed that the anti-diabetic activity was due to its cytoprotective effect; probably by its antioxidant activity. Moreover, the activity of extract has been shown to inhibit the enzyme α-glucosidase. However, the aqueous extract used in the previous study contained many compounds; it was difficult to identify the active ingredients that are responsible for antioxidant and anti-diabetic actions. Therefore, the main objective of this study was to compare antioxidant and anti-diabetic activities of *D. reticulata* stem extract obtained by sequential extraction method with three different solvents; hexane, chloroform and water. The results from TLC showed that the compositions of the hexane extract were similar to those of the chloroform extract, but quite different from those of the aqueous extract. Phytochemical analysis revealed that all extracts consisted of triterpenoids, tannins and polyphenol whereas cardiac glycoside and anthraquinone were absent. Flavonoids and alkaloids were detected only in the hexane and chloroform extracts while saponin

was present only in the aqueous extract. The antioxidant activities were studied by DPPH, ABTS and FRAP methods. It was found that all three extracts of *D. reticulata* had *in vitro* antioxidant effects with different degrees of potency depending on the method used. The result from cytotoxicity demonstrated that the aqueous extract produced the least toxic effect to HepG2 cells since the highest dose up to 5,000 µg/ml did not cause significant cell damage compared to control. In contrast, at concentrations higher than 60 µg/ml, the hexane and chloroform extracts significantly reduced cell viability ($P<0.05$). It was found that only the aqueous extract with high doses (500 and 5,000 µg/ml) showed significant cytoprotective effects from 50.00 ± 3.48% (alloxan-treated group) to 62.41 ± 3.48% and 69.46 ± 3.77%, respectively. For the effect on α-glucosidase enzyme, the result showed that the chloroform extract produced highest degree of enzyme inhibition followed by the hexane extract. In the case of the aqueous extract, the inhibitory activity was 600 times less than the chloroform extract. Together with the results from TLC, it was suggested that the major constituent detected at the R_f = 0.854 may be responsible for α-glucosidase inhibitory activity of the hexane and chloroform extracts. However, further experiments, such as the isolation and identification of this compound as well as the examination of its antioxidant, α-glucosidase inhibitory and anti-diabetic activities, are needed for verification.

School of Pharmacology Student's Signature _____

Academic Year 2014 Advisor' Signature _____

ศิริพร ริยะจันทร์ : การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา กลูโคซิเดสระหว่างสารสกัดที่แตกต่างกัน 3 ชนิดจากลำต้นชะเอมเหนือ (COMPARISON OF ANTIOXIDANT AND α-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES AMONG THREE DIFFERENT *DERRIS RETICULATA* CRAIB. STEM EXTRACTS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.นวลน้อย จูฑะพงษ์, 94 หน้า.

มีรายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำของต้นชะเอมเหนือ (*Derris reticulata*, วงศ์ Leguminosae) มีฤทธิ์ต้านเบาหวานจากการศึกษาทั้งในหลอดทดลอง และหนูขาวที่ถูกชักนำให้เกิดเบาหวานด้วยสาร alloxan ผลการทดลองชี้แนะว่าฤทธิ์ในการต้านเบาหวานดังกล่าวเป็นผลจากฤทธิ์ปกป้องเซลล์ ซึ่งน่าจะเนื่องมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านเบาหวานผ่านทางกลไกการยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดส อย่างไรก็ตามสารสกัดด้วยน้ำที่ใช้ในการศึกษาก่อนหน้านี้ประกอบด้วยสารมากมายซึ่งยากที่จะหาสารประกอบที่เป็นตัวออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเบาหวาน ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดจากต้นชะเอมเหนือที่ได้จากการสกัดเป็นลำดับขั้นด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์มและน้ำ ผลจากการทำ TLC เผยให้เห็นว่า สารประกอบในสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์มมีความคล้ายคลึงกันแต่ค่อนข้างแตกต่างจากสารสกัดด้วยน้ำ ผลการทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้นได้แสดงให้เห็นว่าทุกสารสกัดมีส่วนประกอบที่เป็น ไตรเทอร์ฟีนอยด์ แทนนิน และโฟลีฟีนอล แต่ไม่พบสารกลุ่มคาร์ดิแอค-ไกลโคไซด์และแอนทราควิโนน สำหรับฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์ถูกพบเฉพาะในสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดถูกตรวจสอบโดยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP ผลการทดสอบชี้ว่า สารสกัดทั้งสามของลำต้นชะเอมเหนือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับวิธีที่ใช้ในการทดสอบ ผลจากการทดสอบความเป็นพิษแสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำมีความเป็นพิษต่อเซลล์ตับน้อยที่สุด เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงถึง 5,000 μg/ml ไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางตรงกันข้ามพบว่าสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์มที่ความเข้มข้นมากกว่า 60 μg/ml ลดการรอดตายของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ และพบต่อไปอีกว่ามีเพียงสารสกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้นสูงที่ 500 และ 5,000 μg/ml เท่านั้นที่มีฤทธิ์ปกป้องเซลล์ได้อย่างมีนัยสำคัญ คือเพิ่มการรอดตายของเซลล์จาก 50.00 ± 3.48% ไปเป็น 62.41 ± 3.48% และ 69.46 ± 3.77% ตามลำดับ สำหรับการศึกษาฤทธิ์ต่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสพบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์สูงที่สุดตามด้วยสารสกัด

เฮกเซน ในส่วนของสารสกัดด้วยน้ำพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ต่ำกว่าสารสกัดคลอโรฟอร์ม ถึง 600 เท่า เมื่อนำผลการทดลองจาก TLC มาพิจารณาร่วมกัน พบว่าเป็นไปได้ที่สารประกอบหลักที่ R_f = 0.854 บนแผ่น TLC อาจจะมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดสของสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม อย่างไรก็ตามสำหรับข้อเสนอแนะนี้ยังต้องมีการทดลองเพิ่มเติม เช่น การแยกสารสกัดให้บริสุทธิ์และระบุชนิดของสารนี้ รวมไปถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดสและฤทธิ์ต้านเบาหวาน เพื่อยืนยันความถูกต้องต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____