

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากเปลือกต้นไข่นา
Anti-alpha-glucosidase agents from *Vitexglabrata* bark

คณะนักวิจัย

ดร. ภาณุพงศ์ พุทธิรักษ์ (หัวหน้าโครงการวิจัย)
ดร.สุรียัน เต็งใหญ่
ดร. ชลทิศ สอนธิเมือง
ผศ.ดร. ชิตชไม โอวาทหารพร

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2558

รหัสโครงการPHA580295S

ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) สารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากเปลือกต้นไข่นา

(ภาษาอังกฤษ) Anti-alpha-glucosidase agents from *Vitexglabrata* bark

คณะนักวิจัยและหน่วยงานต้นสังกัด

หัวหน้าโครงการวิจัย:

ดร. ภาณุพงศ์ พุทธิรักษ์

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ดร. สุรียัน เต็งใหญ่

สำนักวิชาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ดร. ชลทิศ สนธิเมือง

คณะกรรมการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผศ.ดร. ชิตชไม โอวาทพารพร

ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Contents

Contents	Pages
1. Research project details	ii
2. Contents	lii
3. Acknowledgements	vi
4. Abstracts	vii
5. Introduction and objectives	1
6. Literature reviews	4
6.1. Diabetes mellitus	4
6.2. Oral anti-diabetic drugs	5
6.3. α -Glucosidase and α -amylase enzymes	5
6.4. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from medicinal plants	7
6.5. <i>Vitex</i> genus	8
7. Materials and methods	11
7.1. Chemicals and instruments	11
7.2. Plant materials	11
7.3. Crude extract preparation	12
7.4. Extraction and isolation of the stem bark of <i>Vitexglabrata</i>	12
7.5. Chemical characteristics	12
7.6. Biological activity testing	13
7.6.1. α -Glucosidase inhibitory activity	13
7.6.2. α -Amylase inhibitory activity	14
7.7. Statistical analysis	14
8. Results and discussions	15
8.1. Phytochemical study of the stem bark of <i>V. glabrata</i>	15
8.2. Structure elucidation of compounds 1-6	17
8.3. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of 1-6	20
9. Conclusions	23
10. References	24
11. Comments and suggestions	35
12. Appendices	36

Table contents

Table		Pages
1	Oral anti-diabetic drugs for type 2 diabetes mellitus treatment	6
2	Chemical constituents of <i>V. glabrata</i>	9
3	Yield and percentage of α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of crude extracts.	15
4	α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of crude extract and compounds 1-6	21

Figure contents

Figure		Pages
1	Action of insulin on muscle and adipose tissues	5
2	Carbohydrate digestion by α -amylase and α -glucosidase	6
3	Liquid-liquid extractions of <i>V. glabrata</i> crude extract	16
4	Purification process of compound 1-5	16
5	Purification process of compound 6	17

Acknowledgements

First of all, I would like to give very special thanks to my student, Miss Pitchanan Thiantongin, for her high efforts to this research. Furthermore, many thanks go to my colleagues, Dr. Suriyan Thengyai and Dr. Chonlatid Sontimuang, and also our mentor Assist. Prof. Dr. Chitchamai Ovatlarnporn. I am very glad to be working together with all of you.

I also thank the Department of Pharmaceutical Chemistry, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, and Faculty of Pharmaceutical Science, Prince of Songkla University for the laboratory facilities and all very kind staffs.

Finally, the most special thanks to scholarship supports from Prince of Songkla University for all financial support.

Dr. Panupong Puttarak

บทคัดย่อ

เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสจัดเป็นอีกหนึ่งเป้าหมายที่น่าสนใจในการพัฒนายาหรือสารยับยั้ง เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดโดยเฉพาะหลังรับประทานอาหารในผู้ป่วยโรคเบาหวานประเภทที่ 2 งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวของสารสกัดเปลือกต้นไขเฒ่า (*Vitex labrata*) รวมถึงศึกษาพหุคุณเคมีเพื่อติดตามสารออกฤทธิ์จากเปลือกต้นไขเฒ่า สารสกัดเอทานอลของเปลือกต้นไขเฒ่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสอยู่ในเกณฑ์ที่ดี มีค่า IC_{50} 11.22 ± 1.70 และ $14.54 \pm 1.37 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ หลังการแยกสกัดสารจากสารสกัดเปลือกต้นไขเฒ่าดังกล่าว สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 6 ชนิด คือ lupeol (1) α -amyrin (2) β -amyrin (3) butulin (4) betulinic acid (5) และ scopoletin (6) โดยพบว่าสาร 1 สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด (IC_{50} $7.4 \mu\text{M}$) ส่วนสาร 2 ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} $32 \mu\text{M}$ ดังนั้นผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาเป็นข้อมูลสนับสนุนถึงประสิทธิภาพของสมุนไพรชนิดนี้ในการรักษาโรคเบาหวานของหมอพื้นบ้าน และควรมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสาร lupeol เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาจากธรรมชาติที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานประเภทที่ 2 ต่อไป

Abstract

α -Glucosidase and α -amylase enzymes become the attractive targets to develop the drugs or inhibitors that are able to modulate especially the postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes patients. This study aims to identify the α -glucosidase and α -amylase inhibitors from bark of *Vitex glabrata*. The results indicated ethanolic extracts of *Vitex glabrata* exhibited high α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity with IC_{50} of 11.22 ± 1.70 and $14.54 \pm 1.37 \mu\text{g/mL}$, respectively. Furthermore, the chemical constituents of *V. glabrata* stem bark extract were isolated by chromatographic techniques using bioassay guided isolation method to obtain six known compounds as lupeol (1), α -amyrin (2), α -amyrin (3), butulin (4) betulibic acid (5), and scopoletin (6). The best of α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity was found in lupeol with an IC_{50} value of $7.4 \mu\text{M}$ and α -amyrin with an IC_{50} value of $32.33 \mu\text{M}$, respectively. This study is the first report of isolation of compounds from this plant with potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity. This finding supports the use of this plant by Thai traditional doctors for treatment of diabetes. Furthermore lupeol which showed the highest activity are interesting to develop as a new drug for treatment of type 2 diabetes patients.