

ด.
583-32
ป 141 ก

การหาปริมาณเซนโนไซด์ในใบและฝักมะขามแขก
ในประเทศไทย

27 ก.พ. 2522

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ 11 โทร. 3021676. 3016068

ปริญญาานิพนธ์

ของ

ประทีป ฟูตระกูล

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กันยายน 2521

72827

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

.....ประธาน

.....กรรมการ

กันยายน 2521

ประกาศคุณประการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จจุลวงด้วยกัลยาณูเขียนได้รับคำแนะนำช่วยเหลือจาก
อาจารย์ศศิธร วสุวัต ผู้อำนวยการกองอุตสาหกรรมเภสัช สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์
ประยุกต์แห่งประเทศไทย (สวป.) และผู้ช่วยศาสตราจารย์อาภรณ์ วีรสาร จึงขอกราบ
ขอบพระคุณไว้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณประคองกิริ จันทรมนุญณ์ คุณปราณี นันทกรวี และ
คุณพรสวรรค์ คิษยบุตร แห่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย ที่ให้ความ
ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการกองอุตสาหกรรมเภสัช
ด้วยดีโดยตลอด

ขอขอบคุณ คุณณนท อินทรเทพ ที่ช่วยถ่ายภาพมะขามแขก คุณทองหล่อ วงษ์อินทร์
ที่ช่วยอัดสำเนา คุณสมศักดิ์ ขวัญเมือง และนุชกลิ่น น. ที่ให้กำลังใจแก่ผู้เขียน จนกระทั่ง
ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จจุลวงเป็นรูปเล่ม

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทยที่ได้มอบทีมงานส่วนหนึ่งของ
กองอุตสาหกรรมเภสัชให้มาดำเนินการวิจัย เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิตครั้งนี้

สุดท้าย ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ศศิธร วสุวัต อีกครั้งหนึ่งที่กรุณา
ช่วยเหลือทุนทรัพย์ส่วนตัวเป็นค่าใช้จ่ายส่วนหนึ่งในการวิจัยครั้งนี้ และกรุณาให้กำลังใจแก่
ผู้เขียนตลอดมา

สารบัญ

บท

หน้า

1	บทนำ	1
	คำนำ	1
	จุดมุ่งหมายในการศึกษาค้นคว้า	3
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	3
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
	กําจำกัดความศัพท์เฉพาะ	5
2	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย	7
	ความเข้าใจพื้นฐานเกี่ยวกับมะขามแขก	7
	การศึกษาค้นคว้าในประเทศ	21
	การศึกษาค้นคว้าในต่างประเทศ	21
3	วิธีดำเนินการทดลอง	31
	ตัวอย่าง	31
	ชนิดของตัวอย่าง	31
	วิธีเก็บตัวอย่าง	31
	อุปกรณ์ที่ใช้	32
	สารเคมีที่ใช้	32
	วิธีดำเนินการทดลอง	33
	การหาปริมาณเซโนโพลีโธรอน	33
	การหาปริมาณเซโนโพลีโธรอน A และ B	36
	การเปรียบเทียบปริมาณเซโนโพลีโธรอน	42
4	ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	45
	เปอร์เซ็นต์ความชื้น	45

น้ำหนักของใบและฝักแห้ง	45
ปริมาณเซนโนไซด์รวมของใบและฝัก	48
ปริมาณเซนโนไซด์รวมของฝักมะขามแขกที่ขายและยาลาย	
Purshnia ชนิดเม็ด	51
การเปรียบเทียบปริมาณเซนโนไซด์รวม	56
จุดหลอมเหลวของเซนโนไซด์ A และ B	77
Standard curve ของ sennoside A และ B	77
เปอร์เซ็นต์ TLC recovery ของ sennoside A และ B	82
ปริมาณเซนโนไซด์ A และ B ในใบและฝักมะขามแขก	84
ปริมาณเซนโนไซด์ A และ B ในยาลายPurshnia	95
ปริมาณเซนโนไซด์ A และ B ในฝักมะขามแขกที่ขาย	97
อภิปรายผลการทดลอง	98
5 บทขอ สรุปผล และขอเสนอแนะ	102
บรรณานุกรม	106

บัญชีการวาง

การวาง

หน้า

1	เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างมะขามแขกพันธุ์ <u>C. angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	14
2	ความเข้มข้นของ sennoside ที่ทำ standard curve	37
3	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ของใบและฝักมะขามแขก พันธุ์ <u>C. angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	43
4	น้ำหนักของใบ <u>C. angustifolia</u> 50 ใบรวม	46
5	น้ำหนักของใบ <u>C. acutifolia</u> 50 ใบรวม	46
6	น้ำหนักของฝัก <u>C. angustifolia</u> 100 ฝัก	47
7	น้ำหนักของฝัก <u>C. acutifolia</u> 100 ฝัก	48
8	ปริมาณ sennosides รวม ในใบและฝักมะขามแขก	49
9	ปริมาณ sennosides รวม ของฝักมะขามแขกที่ขาย	51
10	ปริมาณ sennosides รวม ของยาเม็ด Pursemaid	52
11	ปริมาณ sennosides รวม ในใบมะขามแขกพันธุ์ <u>C. angustifolia</u> ...	57
12	ปริมาณ sennosides รวม ในใบมะขามแขกพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	60
13	ปริมาณ sennosides รวม ในฝักมะขามแขกพันธุ์ <u>C. angustifolia</u> ...	63
14	ปริมาณ sennosides รวม ในฝักมะขามแขกพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	66
15	ข้อมูลการหาความเข้มข้นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ในใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ <u>C. angustifolia</u>	69
16	ข้อมูลการหาความเข้มข้นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ในใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	71
17	ข้อมูลการหาความเข้มข้นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ระหว่างใบมะขามแขกพันธุ์ <u>C. acutifolia</u> และพันธุ์ <u>C. angustifolia</u>	73

18	ข้อมูลการหาความเข้มข้นความแตกต่างของเปอรเซนนี sennosides รวม ระหว่างผักมะขามแขกพันธุ์ <u>C. angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	75
19	Absorbency ของ sennoside A และ B ที่ 270 mμ.	78
20	ค่า R _F ของ sennoside A และ B	81
21	เปอร์เซ็นต์ Recovery ของ sennoside A และ B	83
22	เปอรเซนนี sennoside A และ B ในใบและผักมะขามแขก พันธุ์ <u>C. angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	87
23	ปริมาณ sennoside A และ B ในยาอายุ Parsemmid	96
24	ปริมาณ sennoside A และ B ในผักมะขามแขกที่ขาย	97

บัญชีภาพประกอบ

รูป	เนื้อหา	หน้า
1	ต้นมะขามแขก.....	8
2	ใบมะขามแขก.....	10
3	ฝักมะขามแขกอายุ 14 วัน.....	11
4	ฝักมะขามแขกอายุ 21 วัน.....	12
5	ฝักมะขามแขกที่เกษตรกรเก็บขาย.....	13
6	ใบมะขามแขกพันธุ์ <i>C. acutifolia</i> และพันธุ์ <i>C. angustifolia</i>	15
7	ฝักมะขามแขกพันธุ์ <i>C. acutifolia</i> และพันธุ์ <i>C. angustifolia</i>	16
8	ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ <i>C. acutifolia</i> และพันธุ์ <i>C. angustifolia</i> ..	17
9	การหยด sennoside ต่างๆ.....	39
10	การหยด Mixture sennoside A-B และ 50% methanol.....	40
11	ปริมาณ sennosides ในใบมะขามแขกพันธุ์ <i>C. angustifolia</i> และพันธุ์ <i>C. acutifolia</i>	53
12	ปริมาณ sennosides ในฝักมะขามแขกพันธุ์ <i>C. angustifolia</i> และพันธุ์ <i>C. acutifolia</i>	54
13	เปรียบเทียบปริมาณ sennosides ในใบและฝักมะขามแขก พันธุ์ <i>C. angustifolia</i> และพันธุ์ <i>C. acutifolia</i>	55
14	ปริมาณ sennosides รวม ในใบมะขามแขกพันธุ์ <i>C. angustifolia</i> เมื่อมีอายุต่างๆกันใน 50 ใบรวม.....	58
15	ปริมาณ sennosides รวม ในใบมะขามแขกพันธุ์ <i>C. acutifolia</i> เมื่อมีอายุต่างๆกันใน 50 ใบรวม.....	61
16	ปริมาณ sennosides รวม ในฝักมะขามแขกพันธุ์ <i>C. angustifolia</i> เมื่อมีอายุต่างๆกันใน 100 ฝัก.....	64

รูป	หน้า
17	ปริมาณ sennosides รวม ในผักมะขามแขกพันธุ์ <u>C.acutifolia</u> เมื่อมีอายุต่างๆกันใน 100 วัน..... 67
18	สรุปปริมาณ sennosides รวม ในใบ 50 ใบรวมและผัก 100 ผัก ของมะขามแขกพันธุ์ <u>C.angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C.acutifolia</u> เมื่อมีอายุต่างๆกัน..... 68
19	Standard curves of Sennoside A and B 79
20	แถบของ sennoside A และ B ใน TLC plates..... 80
21	แถบของ TLC plates ที่แยกจากสารที่สกัดจากใบและผักมะขามแขก.. 84
22	เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B ในใบและผักมะขามแขก พันธุ์ <u>C.angustifolia</u> และพันธุ์ <u>C.acutifolia</u> เมื่อมีอายุต่างๆกัน..... 94

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อน อยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของทวีปเอเชีย มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 321 ล้านไร่ (514,000 ตารางกิโลเมตร) เป็นพื้นที่ที่ป่าไม้ใช้ทำการเกษตรประมาณ 96 ล้านไร่ หรือประมาณ 30 % ของพื้นที่ทั้งหมดเท่านั้น ที่ป่าไม้ใช้ทำการเกษตรได้ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ต่ำที่สุดของโลก ไม่อาจที่จะขยายให้เพิ่มมากขึ้นไปได้อีกแล้ว (สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน, 1977 : 1) ประชาชนในประเทศไทยส่วนมากเป็นเกษตรกร ประเทศไทยจึงมีการเพาะปลูกและส่งเสริมการเพาะปลูกพืชต่าง ๆ เพื่อใช้อุปโภคและบริโภคภายในประเทศ และส่งเป็นสินค้าออก ประเภทของพืชส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกมีอยู่มากมายหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ยางพารา มันสำปะหลัง สมุนไพรบางชนิด ฯลฯ พืชส่งเสริมให้ปลูกนั้น บางชนิดก็ปลูกเป็นพืชหลัก บางชนิดก็ปลูกเป็นพืชรอง เนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกในประเทศไม่สามารถจะขยายต่อไปได้อีกแล้ว พืชปลูกเป็นพืชรองหรือปลูกหมุนเวียนระหว่างรอการปลูกพืชหลัก จึงมีความจำเป็นต้องได้รับการส่งเสริมให้ปลูก ในจำนวนพืชรองที่ได้รับการส่งเสริมดังกล่าว สมุนไพรมะขามแขก (Senna) เป็นพืชสมุนไพรสำคัญการประกอบยา ไทย - เยอรมัน ฝ่ายพัฒนาฝีมือ กองนิคมสร้างตนเอง กรมประชาสงเคราะห์ กระทรวงมหาดไทย ได้ส่งเสริมให้สมาชิกนิคมสร้างตนเอง พระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี พืชปลูก เพื่อส่งเป็นสินค้าออกขายให้บริษัทผลิตยา ในประเทศเยอรมัน มะขามแขกเป็นพืชรองที่ปลูกหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดแล้ว ไทยได้รับการส่งเสริมให้ปลูกเมื่อปี พ.ศ. 2514 พันธุ์ที่นำเข้าส่งเสริมให้ปลูกได้มาจากอินเดีย มี 2 พันธุ์ คือ มะขามแขกพันธุ์ *Cassia angustifolia* และมะขามแขกพันธุ์ *Cassia acutifolia*

มะขามแขกเป็นพืชสมุนไพรที่มีสาร glycosides มีชื่อว่า Sennosides เป็นสาร

แสดงฤทธิ์สำคัญที่ใช้เป็นยาหมาย พบอยู่ในผักและใบเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้มะขามแขกจึงเป็นพืชทางการเกษตรกรรมและวงการแพทย์ ทั้งในและนอกประเทศต้องการ

มะขามแขกฝ่ายพัฒนานิคม กองนิคมสร้างตนเองส่งเสริมให้ปลูกนั้น จะมีการเพาะปลูกกันตั้งแต่ปลายเดือนกรกฎาคม ถึงต้นเดือนสิงหาคมของทุกปี และจะมีการเก็บผักครั้งแรกไถ่ในปลายเดือนพฤศจิกายน จะมีการเก็บผักเรื่อยไปเป็นระยะ ๆ จนถึงเดือนเมษายน (ฝนเริ่มตกลงมา) จึงตัดต้นทิ้งและปลูกพืชหลัก คือข้าวโพดหมุนเวียนต่อไป

มะขามแขกเป็นพืชที่ทำรายได้สูงให้เกษตรกรนิคมสร้างตนเองพรหมพิราม โดยไถ่เก็บผักขายให้แก่วัฒนบริษัทผลิทยาของประเทศเยอรมัน ผักที่เก็บมาจะนำมาตากแดดจนแห้งและขายกิโลกรัมละ 20 บาท มะขามแขกที่ปลูกในเนื้อที่ 1 ไร่ (400 ตารางวา) เก็บผักแห้งได้ประมาณ 150 กิโลกรัม จึงมีรายได้จากการขายผักประมาณไร่ละ 3,000 บาท พืชต่อไปเป็นคาเมลลิดพันธุ์ กายาฉิมชาแมลง กางจางแรงงานคนคานหยา เก็บผัก รวมกันทั้งหมดประมาณ 500 บาท จึงได้กำไรสุทธิประมาณไร่ละ 2,500 บาท รายได้จากการปลูกมะขามแขกอีกส่วนหนึ่งอาจได้จากการขายใบ ซึ่งขณะนี้เริ่มมีการซื้อขายกันแล้ว แต่เป็นการซื้อขายแบบการเหมาแปลง

ราคาซื้อขายมะขามแขกจะถูกหรือแพงขึ้นอยู่กับปริมาณตัวยา sennosides ที่มีอยู่ในผักและใบมะขามแขก โดยถ้ามีตัวยาในผักตั้งแต่ 2.5 - 2.9 % จะได้ราคากิโลกรัมละ 14 บาท เป็นอย่างต่ำ แต่ถ้าในผักมะขามแขกมีตัวยาตั้งแต่ 5.6 - 6.0 % จะได้ราคากิโลกรัมละ 50 - 60 บาท ส่วนใบสามารถขายได้เฉลี่ยกิโลกรัมละ 14 บาท แต่ขณะนี้ยังไม่มีการวิเคราะห์เรื่องปริมาณ sennosides ในผักและใบมะขามแขกที่แน่นอนในประเทศ ทางเยอรมันจึงไถ่ซื้อผักเฉลี่ยกิโลกรัมละ 20 บาท และใบมีการทดลองซื้อแบบเหมาแปลงถึงหลายมา

บริษัทผลิทยา ณ ประเทศเยอรมัน มีความต้องการผักมะขามแขกมากกว่ากำลังผลิตที่เกษตรกรไทยผลิตได้ในขณะนี้ เช่น ปี 2519 มีความต้องการ 250 ตัน แต่เกษตรกรผลิตได้เพียง 70 ตันเศษ ทั้งนี้มะขามแขกจึงเป็นพืชหมุนเวียนรุ่นที่สองที่ควรส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพื่อส่งเสริมเป็นสินค้าออกได้อีกมาก

โดยปกติธรรมชาติของพืชจะมีสารเคมีมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ฤดูกาล อายุ แร่ธาตุอาหารในดิน ความสมบูรณ์ของพืชนั้น ๆ sennosides ซึ่งเป็นสารพิษอยู่มากในฝักและใบมะขามแขก แต่ในสภาพความเป็นจริงปริมาณ sennosides จะมีในฝักและใบมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับเงื่อนไขตามธรรมชาติของพืชดังกล่าว และในการซื้อขายมะขามแขกก็ควรคำนึงถึงปริมาณ sennosides ผู้วิจัยจึงเห็นว่าหากมีการวิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในฝักและใบมะขามแขกเมื่ออายุต่าง ๆ กันทั้ง 2 พันธุ์ที่ปลูกและศึกษาว่าการจะเก็บฝักและใบในสภาพแก่จนมากน้อยเพียงใด จึงจะทำให้ได้ปริมาณ sennosides มากที่สุด ผลจากการวิจัยสามารถที่จะนำไปเป็นข้อมูลในการส่งเสริมให้เกษตรกรเลือกพืชที่จะปลูก เลือกระยะเวลาที่จะเก็บฝัก เก็บใบ ว่าควรจะเก็บฝัก เก็บใบ เมื่อมีอายุเท่าใด ผลจากการนำข้อมูลต่าง ๆ ไปใช้จะทำให้เกษตรกรมีรายได้ดีขึ้น นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มวัตถุดิบ สมุนไพรมะขามแขกที่มีปริมาณ sennosides สูง ให้แก่วงการเภสัชกรรมและวงการแพทย์อีกด้วย

จุดมุ่งหมายของการศึกษาครั้งนี้

1. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในฝักและใบมะขามแขกเมื่อมีอายุต่างกันและพันธุ์ต่างกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ระหว่างฝักและใบมะขามแขก 2 พันธุ์ คือพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia เก็บเมื่อมีอายุในช่วงต่าง ๆ กัน

ความสำคัญของการศึกษาครั้งนี้

1. ผลของการวิเคราะห์จะทำให้ทราบปริมาณ sennosides ซึ่งเป็นสารแสดงฤทธิ์สำคัญในสมุนไพรมะขามแขกที่ปลูกเป็นการค้าและเห็นว่ามีความเหมาะสมอย่างไร
2. เนื่องจากสมุนไพรมะขามแขกไม่ใช่พืชพื้นเมืองในประเทศ ผลงานวิจัยนี้

จะช่วยให้ทราบได้ว่า พันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งทดลองนำมาปลูกในประเทศนั้น พันธุ์ใดเหมาะสมที่จะส่งเสริมให้เกษตรกรปลูก

3. ผลการวิจัยจะช่วยให้ทราบได้ว่า การจะเก็บผักและใบมะขามแขกเมื่อมีอายุเท่าไรจึงจะได้ปริมาณ sennosides มาก

4. ความรู้พื้นฐานและประสบการณ์ ซึ่งได้จากการวิจัยนี้ สามารถนำไปดัดแปลงใช้ในการศึกษาที่อื่น ๆ ต่อไปได้

ขอบเขตของการศึกษาครั้งนี้

1. ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ sennosides ในผักและใบมะขามแขก 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia

2. เปรียบเทียบปริมาณร้อยละของ sennosides ในผักมะขามแขกพันธุ์เดียวกัน เมื่อมีอายุต่างกัน

3. เปรียบเทียบปริมาณร้อยละของ sennosides ในผักมะขามแขกระหว่างพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

4. เปรียบเทียบปริมาณร้อยละของ sennosides ในใบมะขามแขกพันธุ์เดียวกัน เมื่อมีอายุต่างกัน

5. เปรียบเทียบปริมาณร้อยละของ sennosides ในใบมะขามแขกระหว่างพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

6. เปรียบเทียบปริมาณร้อยละของ sennosides ระหว่างใบและผักมะขามแขกพันธุ์เดียวกัน โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

7. การศึกษาก่อนหน้านี้ได้ทำอย่างสมบูรณ์สำหรับมะขามแขกที่เกษตรกรนิยมสร้างตนเอง หรือพบมาก ปลูก

8. การศึกษาว่ากระทำในท่านปริมาณวิเคราะห์ โดยใช้วิธีการทางเคมีและทางฟิสิกส์ที่เหมาะสม

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ยา (Drugs) หมายถึงวัตถุใดก็ตามที่นำมาใช้เพื่อการวินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรคหรือความเจ็บป่วยของมนุษย์หรือสัตว์
2. ยาระบาย (Laxatives) หมายถึงยาที่ไปกระตุ้นให้ลำไส้ใหญ่เพิ่มการเคลื่อนไหว ทำให้อุจจาระไม่แข็งจนเกินไป จึงทำให้เกิดการขับถ่ายสะดวกและเร็วกว่าปกติ
3. สมุนไพร หมายถึงยาที่ได้มาจากพืชพันธุ์ สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังมีคุณสมบัติปรุง หรือแปรสภาพ
4. มะขามแขก (Senna) หมายถึงพืชสมุนไพรไม้พุ่มยืนต้นขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร ที่ใช้กันมากมี 2 พันธุ์ คือพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia
5. sennosides (เซนโนไซด์) หมายถึงสารแสดงฤทธิ์สำคัญในผักและใบมะขามแขกที่ใช้เป็นยาระบาย ที่รู้จักกันมี 4 ชนิด คือ A, B, C และ D
6. การสกัด หมายถึงกระบวนการแยกสารออกจากกัน โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม
7. โครมาโตกราฟี (Chromatography) หมายถึงกระบวนการแยกสารออกจากสารผสม โดยอาศัยหลักการที่สารถูกดูดซับ (adsorb) และละลายใน stationary phase และ moving phase โคโมเพกกัน (Jeffery, P.G. and Kipping, P.J., 1972 : 3)
8. Thin-Layer Chromatography (TLC) หมายถึง ขบวนการ โครมาโตกราฟี ที่ใช้ตัวดูดซับ (adsorbent) บางชนิด เช่น Alumina G., cellulose,

Silica gel G., หรือ Kieselguhr G. ฯลฯ เติบหรือฉาบเป็นผิวบาง ๆ บน Supporter แล้วให้ตัวละลาย (Eluents) ขึ้นเคลื่อนที่ผ่านไป จากคุณสมบัติที่สารต่าง ๆ ถูกดูดซับและแพร่กระจายในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้ไม่เท่ากัน จะทำให้สามารถแยกสารต่าง ๆ ออกจากกันได้ (Dick, J.G., 1973 : 621)

9. ตัวดูดซับ (Adsorbent) หมายถึงสารเคมีต่าง ๆ เช่น Alumina G., Silica gel G., cellulose, Kieselguhr ฯลฯ ซึ่งใช้ในเทคนิคการ Chromatographic technique ทำหน้าที่เป็น Stationary phase เพื่อการดูดเกาะของสารเคมีต่าง ๆ ที่จะนำมาแยกออกจากสารผสม

10. ตัวละลาย (Eluent) หมายถึงตัวทำละลาย เช่น น้ำ, ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, chloroform, benzene ฯลฯ ซึ่งใช้ในเทคนิคการ Chromatographic technique ทำหน้าที่เป็น moving phase เพื่อละลายพาสารเคมีต่าง ๆ ที่ปนกันอยู่ในสารผสมแยกตัวออกจากกันได้

11. R_f หมายถึงค่าคงที่ ซึ่งแสดงคุณสมบัติเฉพาะตัวของสารเคมีแต่ละชนิดในตัวทำละลายตัวหนึ่งตัวใด ที่ใช้ใน Chromatographic technique โดยจากอัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่หารด้วยระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ ดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

มะขามแขกเป็นพืชสมุนไพรที่ชาวอาหรับและชาวจีนนำเอาใช้และบันทึกไว้ตั้งแต่สมัยโบราณ (ประโชติ เปงวิทยา, 2514 : 42 - 46) ชาวอาหรับเป็นผู้นำมะขามแขกไปใช้เป็นยาในทวีปยุโรป ประมาณ 900 - 1,000 ปีที่ผ่านมา (สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย, 2520 : 77)

มะขามแขกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Cassia acutifolia, Delile และ Cassia angustifolia, Vahl ชื่อภาษาอังกฤษ Senna วงศ์ CAESALPINIACEAE

มะขามแขกที่ใช้เป็นยารายานมี 2 พันธุ์ด้วยกัน คือพันธุ์ Cassia acutifolia ทางการค้าเรียกว่า Alexandrian Senna และพันธุ์ Cassia angustifolia ทางการค้าเรียกว่า Tinnevelly Senna มะขามแขก 2 พันธุ์นี้มักนำเข้ามาจากทางเดียวกัน คือ พันธุ์ Cassia acutifolia (Alexandrian Senna) เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปแอฟริกา เขตตอน ปลูกกันมากในประเทศซูดานแถบเมือง Kordofan และเมือง Senna ส่วนพันธุ์ Cassia angustifolia (Tinnevelly Senna) มีแหล่งกำเนิดที่เมือง Somaliland อาหรับเบย์ แถวอินเดียและจีน แหล่งที่ทำการเพาะปลูกมะขามแขกพันธุ์มากคือในทางตอนใต้ของประเทศอินเดีย คือเมือง Tinnevelly

มะขามแขกพันธุ์ Cassia acutifolia และพันธุ์ Cassia angustifolia มีลักษณะใกล้เคียงกันมาก คือเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร กิ่งภาพ 1



๔
ภาพ 1 สมุนไพรสมุนไพร

มะขามแขกเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ใบเป็นใบรวมหรือใบประกอบ (Compound leaves) ใบรวมมีใบย่อยแยกออกเป็นคู่ ๆ แบบขนนกหรือแบบใบมะขามทั่ว ๆ ไป และตรงปลายใบรวม ใบย่อยจะเป็นคู่คย คือเป็นใบรวมแบบพาริพินเนต (paripinnate) รูปร่างของใบย่อย กลายใบหอก คือหัวแหลมท้ายแหลม แต่ส่วนท้ายหรือปลายใบแหลมมากกว่า (ดูภาพ 2) ส่วนหัวหรือโคนใบสองด้านจะแหลมไม่เท่ากัน ใบมีสีเขียว ขอบใบเรียบ ผิวใบจะมีขนนุ่ม ๆ ปกคลุมอยู่ทั้งด้านบนใบและด้านล่างใบ ใบมีกลิ่นเหม็นเขียว เมื่อใช้เมล็ดปลูกใบที่เกิดครั้งแรก จะมีเพียง 1 คู่ เมื่อต้นโตขึ้นจำนวนใบย่อยจะมีมากขึ้น จนกระทั่งมีอายุประมาณ 3 เดือน ใบรวมจะมีใบย่อยประมาณ 6 คู่ แล้วเพิ่มจำนวนขึ้นไปเรื่อย ๆ จนถึง 9 คู่ และส่วนมาก จะมีใบย่อยประมาณ 7 - 8 คู่ (ดูภาพ 2)

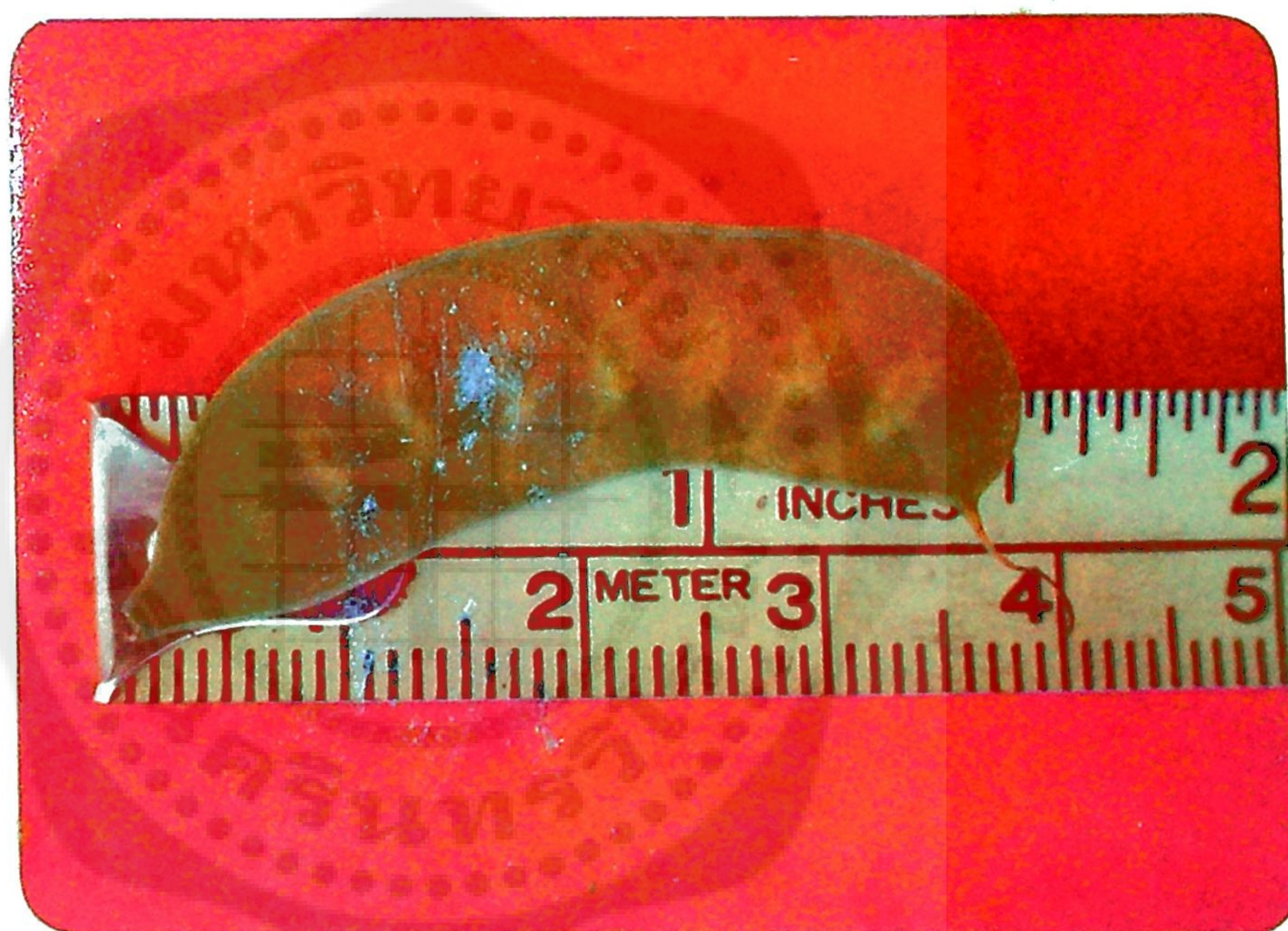
มะขามแขกมีดอกเป็นดอกช่อ สีเหลืองกลายดอกช่อเล็ก ช่อดอกจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อ ต้นมีอายุประมาณ 3 เดือนเศษ (ปลูกปลายเดือนกรกฎาคม ถึงต้นเดือนสิงหาคม จะมีดอก ต้นเดือนพฤศจิกายน) คือใบรวมมีใบย่อยประมาณ 6 คู่ แต่ช่อดอกจะเกิดมากเมื่อใบรวมมี ใบย่อยประมาณ 7 - 8 คู่ มีลักษณะคล้ายไม้กวาดแบบ แบนกว่า ส่วนหัวท้ายกลม ส่วน ท้ายหรือส่วนปลายฝักจะมีกอกเกสรตัวเมีย (Style) เป็นเส้นให้อยู่ (เห็นได้ชัดในฝักอ่อน) (ดูภาพ 3, 4 และ 5)

ฝักสดของมะขามแขกมีสีเขียวอ่อนออกเหลือง โดยส่วนตรงกลางฝักจะมีสีเหลืองมากกว่าตรงขอบฝัก ฝักส่วนมากจะมีเมล็ดประมาณ 6 - 8 เมล็ด เมื่อฝักมีอายุประมาณ 35 วัน จะแก่และกลายเป็นสีดำ

ถึงแม้ว่ามะขามแขกทั้ง 2 พันธุ์ จะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก แต่ลักษณะของใบและฝัก ก็ยังมีความแตกต่างกันบ้าง ดังตาราง 1



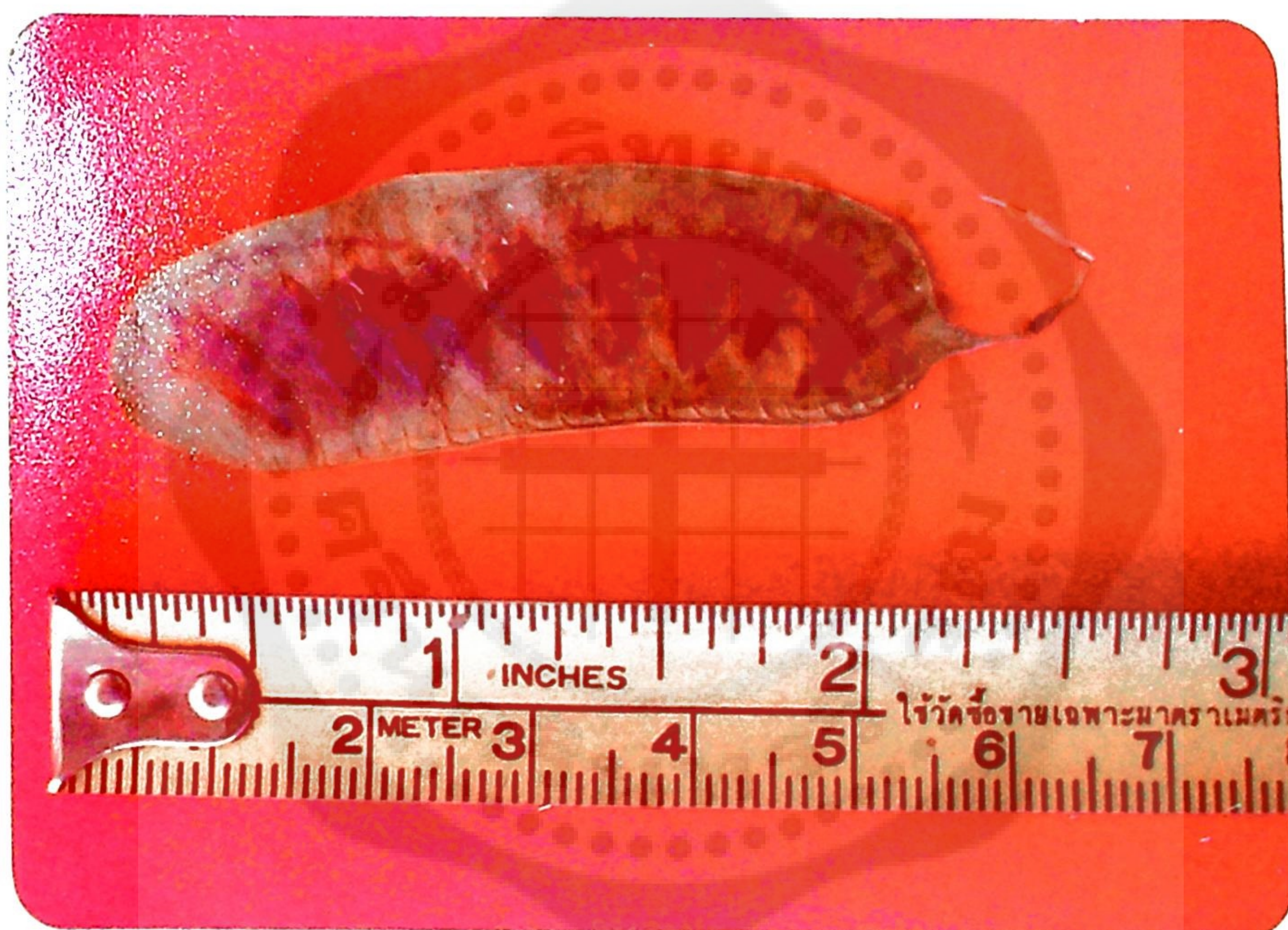
ภาพ 2 ใบมะขามแขก



ภาพ 3 ฟักมะขามแขกอายุ 14 วัน (ก่อนข้างซ้อน)
จะเห็นคอเกสรตัวเมีย (style) เป็นเส้นเหลืองอยู่ถัด



ภาพ 4 ปักมะขามแขกอายุ 21 วัน (ขนาดกลาง)
คอเกรตตัวเป็น (style) เริ่มแหง



ภาพ 5 ปักมะลามาเขกที่เกอกรกรเก็บขาย (ภาคเหนือ)
อายุประมาณ 24 - 25 วัน

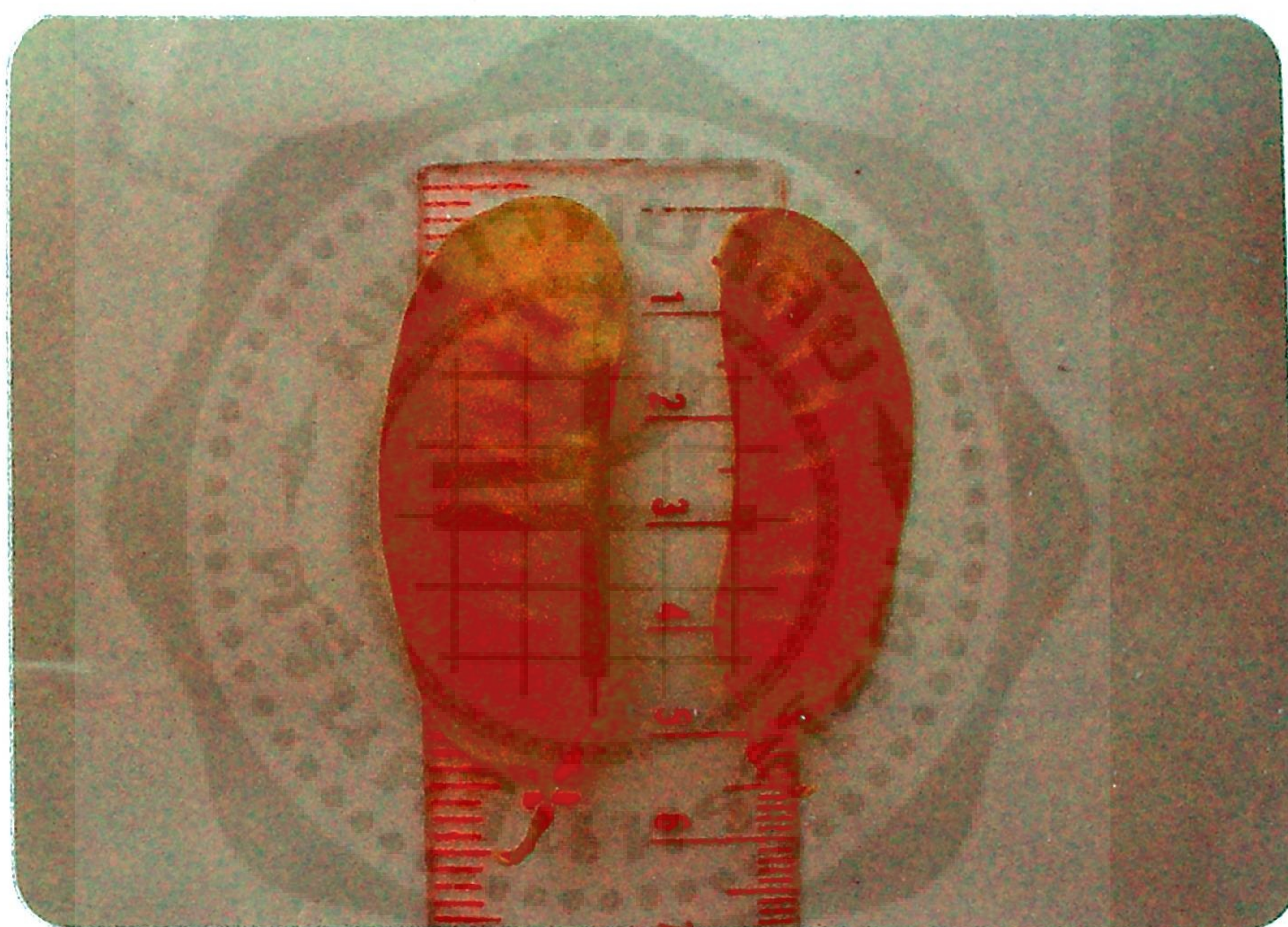
ตาราง 1 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia

พันธุ์ <u>C. angustifolia</u>	พันธุ์ <u>C. acutifolia</u>
1. ใบยาวประมาณ 2.5 - 5.0 เซนติเมตร กว้างน้อยกว่าใบพันธุ์ <u>C. acutifolia</u>	1. ใบยาวประมาณ 2.0 - 4.0 เซนติเมตร กว้างมากกว่าใบพันธุ์ <u>C. angustifolia</u> (กว้างประมาณ 0.5 - 1.5 เซนติเมตร)
2. กว้างใบ (Lamina or blade) ของ ใบย่อย (Leaflets) แคบเรียว	2. กว้างใบตรงหัวหรือฐาน มีลักษณะกว้างกว่า ปลายใบมาก
3. ใบแผ่นมีสีเขียวออกเหลืองอ่อน ๆ บาง เพราะ	3. ใบแผ่นมีสีเขียวออกเหลือง ๆ บาง เพราะ
4. ฝักขนาดกลาง (อายุ 21 วัน) ยาว ประมาณ 5.0 เซนติเมตร กว้าง ประมาณ 1.5 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 2.0 เซนติเมตร เมื่อแผ่นมีสีเขียวช้ำ ตรงกลางเป็นสีน้ำตาลกว้างกว่า	4. ฝักขนาดกลาง (อายุ 21 วัน) ยาว ประมาณ 4.0 - 6.0 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3.0 เซนติเมตร เมื่อแผ่นมีสีเขียวช้ำ ตรงกลางเป็น สีน้ำตาล แคบกว่า
5. ฝักหนากว่า	5. ฝักบางกว่า

ความแตกต่างของมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia
ดูได้จากภาพ 6, 7 และ 8



ภาพ 6 ใบมะขามแฉกพันธุ์ Cassia acutifolia
และพันธุ์ Cassia angustifolia ตามลำดับ



ภาพ 7 ผักมะขามแขกพันธุ์ Cassia acutifolia
และพันธุ์ Cassia angustifolia ตามลำดับ



ภาพ 8 ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ Cassia acutifolia
และพันธุ์ Cassia angustifolia ตามลำดับ

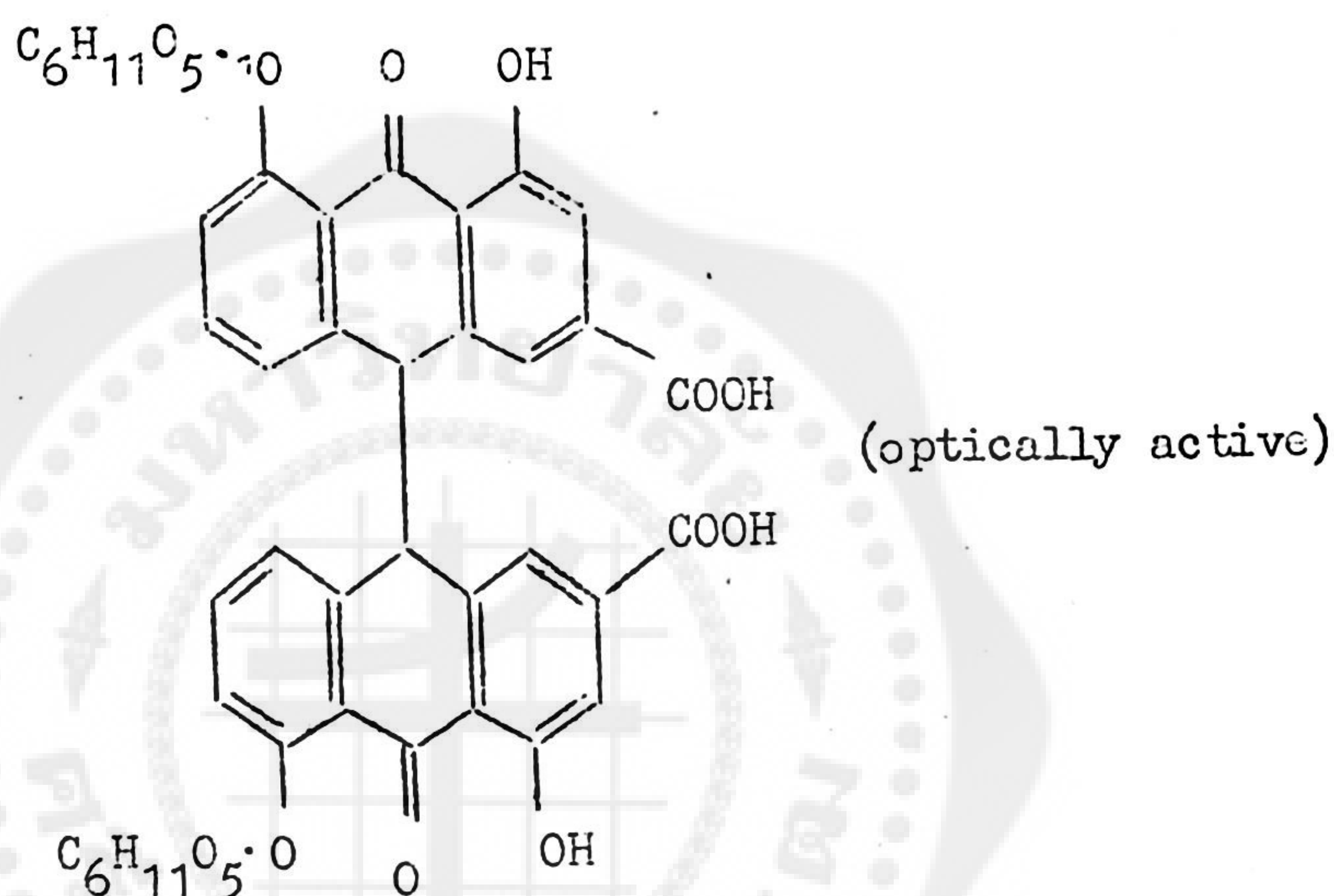
British Pharmacopeia ได้กำหนดวิธีตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพมะขามแขกไว้ว่า ให้ทำตัวอย่างที่ของการตรวจสอบในลักษณะที่เป็นผงหรือชิ้นเล็ก ๆ หนักประมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงในกรรก้นเจือจาง 5 cm³ เติมน้ำเล็กน้อย 2 นาที กรองและกรอง ทำส่วนที่กรองได้ (filtrate) ให้เย็น เติมน้ำ benzene ปริมาณเท่ากัน เขย่าเบา ๆ เป็นเวลา 1 นาที แยกชั้น benzene ออก เติมน้ำแอมโมเนียเจือจาง (dilute ammonia solution) ปริมาณประมาณครึ่งหนึ่งของชั้น benzene ลงไปในชั้น benzene เขย่า และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จะปรากฏสีชมพูหลายถึงสีแดง เขียว ขึ้นในชั้นแอมโมเนีย แสดงว่าตัวอย่างวิเคราะห์นั้นเป็นมะขามแขกจริง และมีปริมาณ sennosides สูงพอจะทำได้ (British Pharmacopeia, 1963 : 718)

สารเคมีที่ออกฤทธิ์สำคัญในการใช้เป็นยาระบาย ซึ่งมีมากในผักและใบมะขามแขกนั้น คือสารพวก anthraquinone glucosides หรือ anthraquinone sennoside A, B, C และ D ใบมะขามแขกใช้เป็นยาถ่ายได้ก็ไม่ใช่ แต่มีข้อเสียคือเมื่อรับประทานแล้วทำให้เกิดอาการปวดท้อง จึงนิยมรับประทานร่วมกับอบเชยหรือกระวานเพื่อบรรเทาอาการปวดท้องลง ส่วนผักมะขามแขกใช้เป็นยาระบายได้เช่นเดียวกับใบ แต่ในผักจะมีปริมาณของน้ำตาลสูงกว่าใบ จึงทำให้บรรเทาอาการปวดท้องลง ขนาดที่ใช้รับประทานเพื่อเป็นยาระบาย 0.5 ถึง 2.0 กรัม การรับประทานอาจนำมะขามแขกมาต้มกับน้ำและดื่มน้ำที่ต้มจนได้

คุณสมบัติของ sennosides A, B, C และ D พอสรุปได้ดังนี้.-

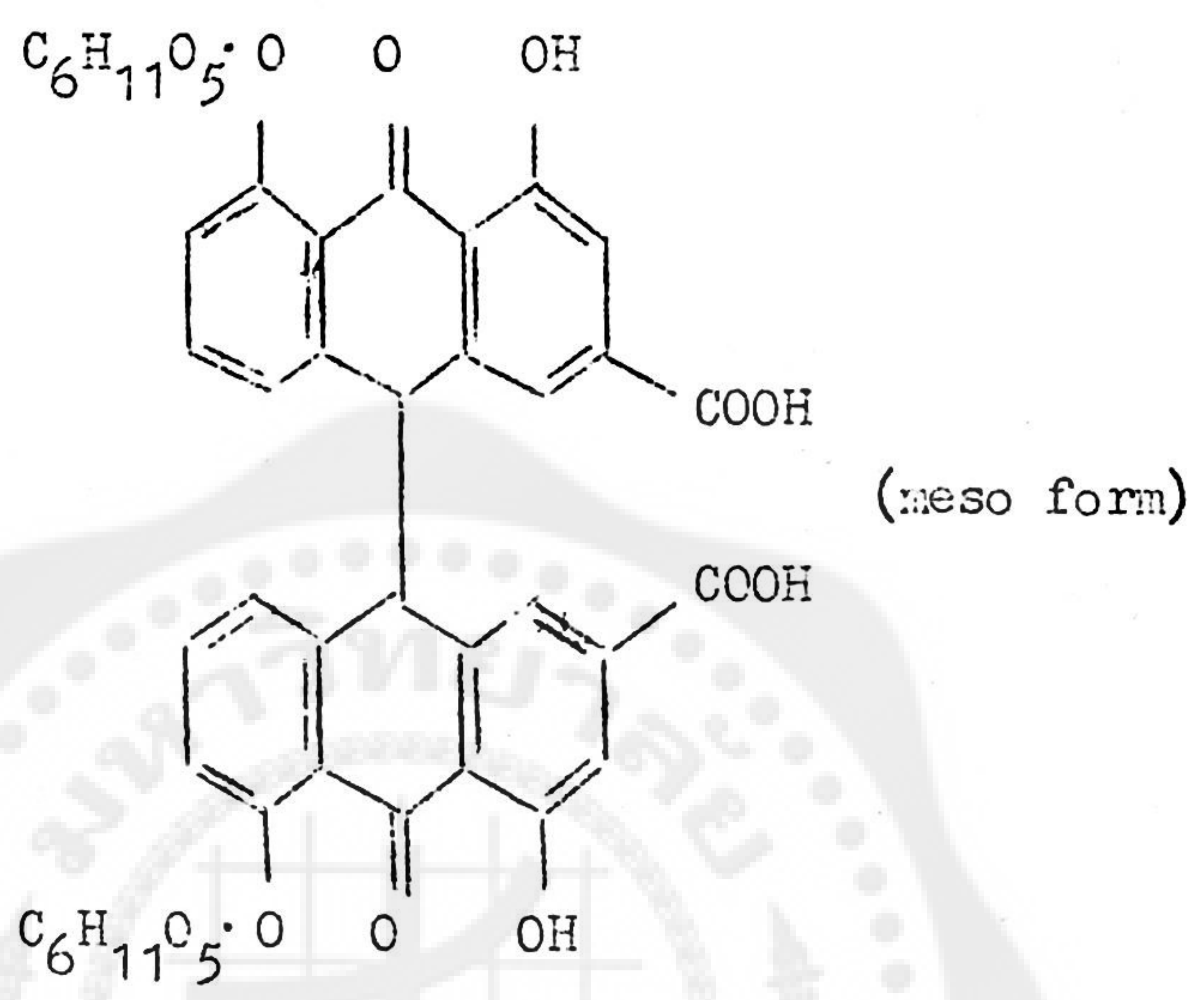
sennoside A เป็นผลึกสีขาว รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าแบน ละลายได้ใน dilute acetone สลายตัวที่อุณหภูมิ 200 - 240°C, $[\alpha]_D^{20} - 147^\circ$ (Conc. = 0.1 % in 70 % acetone), $[\alpha]_D^{20} - 24^\circ$ (Conc. = 0.2 % in 70 % dioxane) ไม่ละลายในน้ำ, benzene, ether, chloroform จะละลายได้เล็กน้อยใน methanol, carbitol, acetone, dioxane การละลายจะเพิ่มขึ้นถ้าทำละลาย น้ำผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำทำละลายอินทรีย์อื่น 30 % w/w (water-miscible organic solvents) ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (aqueous solutions of sodium bicarbonate)

sennoside A มีสูตรโมเลกุล $C_{42}H_{38}O_{20}$ น.บ. โมเลกุล 862.72 C 58.47 %, H 4.44 %, O 37.09 % โครงสร้างประกอบด้วย dextrorotatory aglucon, sennidin A และ D-glucose มีสูตรโครงสร้างดังนี้

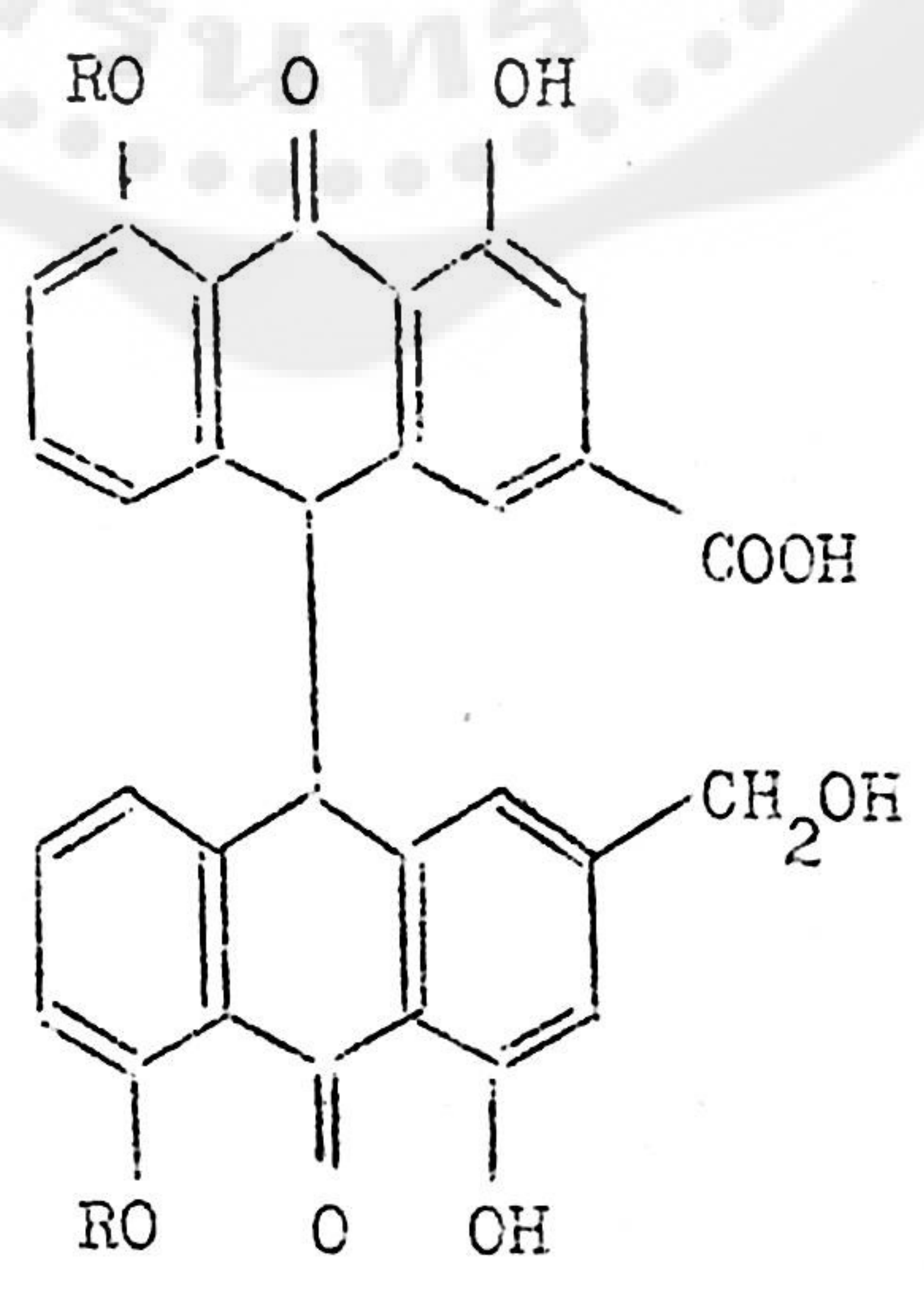


sennoside B เป็นผลึกรูปปริซึมสีเหลืองอ่อน (Light yellow) เมื่อตกผลึกใน dilute acetone และจะเป็นผลึกรูปเข็มละเอียด (Fine needles) เมื่อตกผลึกในน้ำ สลายตัวที่อุณหภูมิ $180 - 186^{\circ}C$ $[\alpha]_D^{20} - 100^{\circ}$ (Conc. = 0.2 % in 70 % acetone), $[\alpha]_D^{20} - 67^{\circ}$ (Conc. = 0.4 % in 70 % dioxane) คุณสมบัติในการละลายเช่นเดียวกับ sennoside A แต่ละลายได้ดีกว่า sennoside A สามารถทำได้วิธีสกัดโดยตกผลึกในน้ำร้อน แต่ต้องป้องกันไม่ให้ถูกอากาศและแสงแดด ซึ่งจะป้องกันการถูก oxidation

sennoside B มีสูตรโมเลกุล $C_{42}H_{38}O_{20}$ น.บ. โมเลกุล 862.72, C 58.47 %, H 4.44 %, O 37.09 % เปรียบเทียบกับ sennoside A แต่โครงสร้างประกอบด้วย intramolecularly compensated meso-sennidin B และ D-glucose มีสูตรโครงสร้างดังนี้



sennoside C มีสูตรโมเลกุล $C_{42}H_{40}O_{19}$ และมีสูตรโครงสร้างดังนี้.-



R = D-glucose

sennoside D จากการศึกษาค้นคว้า (ของผู้วิจัย) ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับ
คุณสมบัติ สุนทรโณรงสร้าง และรายละเอียดอื่น ๆ (ในการวิจัยของ Saad M. Khafagy
and others ทำ sennoside D ได้ โดยใช้ standard sennoside D จาก
บริษัท Sandoz A.G., Basel, Switzerland แต่ไม่ได้ให้รายละเอียดต่าง ๆ เกี่ยวกับ
sennoside D ไว้)

ในประเทศไทย ไม่ปรากฏรายงานผลการวิจัยศึกษาค้นคว้าเรื่องราวที่ ๆ ไม่
สรรพคุณทางยา และปริมาณ sennosides ในมะขามแขก เพียงแต่มีการรวบรวมสรรพคุณ
ทางยาไว้ในหนังสือไม้เทศเมืองไทย โดยหมอเส็งยม พงษ์บุรอก พอสรูปไม้ มะขามแขก
(*Cassia acutifolia*) ฟ้าใบและฝักเป็นยาแก้ท้องผูกเรื้อรัง ใต้เป็นกรังคราว
แต่ใบใช้ทองมากกว่าฝัก จึงมักต้องใช้กับยาพวกขับลมในลำไส้ เพาะจะแก้การถ่ายเทและ
คนแบบบาง มีคุณสมบัติเป็นพิษเล็กน้อยที่เป็นโรคผิวหนังทวารหนัก โดยใช้เป็นยาขง
(1 ใน 10) ขนาดใช้ 15 ถึง 60 cm³ หรือ 0.6 ถึง 2.0 กรัม (10 ถึง 30 เกรน)
นอกจากนี้ยังมีคำบรรยายขนาดใช้ใบมะขามแขกเดี่ยวกันกับมะขามเปียก ฝักคูน น้ำตาล
กะทูลพอจรรยับประทานเป็นยาระบายอ่อน ๆ (เส็งยม พงษ์บุรอก, 2514 : 400)

ในทางปร เวทย์มีการค้นคว้าวิจัยเรื่องราวที่ ๆ ไม่ การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณ
sennoside ในมะขามแขก ตั้งแต่สมัยโบราณเรื่อย ๆ มา อาทิเช่น

ปี ค.ศ. 1949 A.F. Sievers, W. Andrew Archer, Rufus H. Moore,
and E.R. Mc.Goran ได้พืชเมืองร้อน 78 ชนิด จากเวเนซุเอลา (Venezuela)
โคลัมเบีย (Columbia) กิอานา (Giuanas) และ เปอร์โตริโก (Puerto Rico)
มาสกัดด้วย alcohol, acetone และ petroleum ether แล้วทดสอบพิษกับแมลง
15 ชนิด ปรากฏว่าพืช 30 ชนิด ซึ่งในจำนวนนี้ *Cassia acutifolia* รวมอยู่ด้วย
มีพิษต่อการฆ่าแมลงน้อยมาก (A.F. Sievers and others, 1949 : 549 - 551)

ปี ค.ศ. 1949 Bernard V. Christensen and Ismail A. Abdel-Latif
ได้ทำการศึกษา spectrophotometry มาศึกษาหาสารในใบ *Cassia acutifolia*
โดยสกัดและวัดการจาก Born traeger's reaction และในปีเดียวกัน โดยคณะเดียวกันนี้

ไตน้ำเอารี fluorometry มาศึกษาหาสารในใบของ Cassia acutifolia ทาย
(Bernard and Ismail, 1949 : 589 - 593, 652 - 655)

ปี ค.ศ. 1949 A. Stoll, B. Becker and W. Kussmaul (เยอรมัน)
ไตแยกและศึกษาคุณสมบัติ sennoside A และ sennoside B จากใบ Cassia
angustifolia (1 Kg.) โดยสกัดด้วยตัวทำละลายผสม ethanolic chloroform
(93 parts CHCl_3 /7 parts EtOH) จากนั้นไตจากการสกัดก็นำมาสกัดด้วย acidic
methanol (1.25 g. oxalic acid/1. MeOH) ทำให้ไขมันบนเครื่องกลั่นแบบ
ลดความดัน (in vacuo) ณ อุณหภูมิ 30°C แล้วนำไปละลายใน methanol ที่มี
triethylamine $[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}]$ กรองผ่านลงใน excess of methanolic HBr.
ซึ่งพบได้ sennoside A จะตกผลึกออกมา กรองแยกออก ของเหลวที่เหลือเติม 10 %
methanolic solution of CaCl_2 จะได้น้ำตกผลึก Ca ของ sennoside B
นำเกลือ Ca ของ sennoside B ไปละลายอย่างช้า ๆ ในน้ำ 100 cm^3 ซึ่งทำให้เป็น
กรดด้วย oxalic acid $[4\text{ g. } (\text{CO}_2\text{H})_2 \text{ in } 40\text{ cm}^3 \text{ MeOH}]$ ซึ่งทดสอบโดย
Congo red หลังจากนั้น 10 นาที เติม methanol 1 ลิตร คนเป็นเวลา 30 นาที กรอง
และทำให้ไขมันที่มีปริมาตรเหลือ 150 cm^3 ทายเครื่องกลั่นแบบลดความดัน (in vacuo)
ณ อุณหภูมิ $25 - 30^\circ\text{C}$ บางส่วนของ anthraquinone จะตกผลึก ซึ่งแยกออกได้โดย
เขย่ากับ CHCl_3 ผลึก sennoside B จะตกเมื่อทิ้งไว้ 1 - 2 วัน ผลึก sen-
noside A (10 g.) ทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยนำไปละลายใน acetone ผสมน้ำ (3 : 2)
 900 cm^3 ที่กำลังเดือด และเติมน้ำอีก 180 cm^3 ทำซ้ำของเหลวเป็นสีเขียวอ่อน ผลึก
sennoside B ทำให้บริสุทธิ์ โดยนำไปละลายใน acetone ผสมน้ำ (3 : 2) $200 -$
 300 cm^3 ที่กำลังเดือด และเติมน้ำลงไปจนอัตราส่วนเป็น 2 : 3

ผลึก sennoside A และ B ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว สามารถตกผลึกซ้ำได้จากตัว
ทำละลายผสม $\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OC}_2\text{H}_5 - \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1) ที่กำลังเดือด (A. Stoll, B.
Becker and W. Kussmaul, 1949: 1892 - 1903)

ปี ค.ศ. 1950 H. Hauptmann and L. Lacerda Nazario แห่งมหาวิทยาลัย

เซาเปาโล บราซิล (Univ., Sao Paulo, Brazil) ได้แยก anthraquinone
 ออกมาจากใบของ Cassia alata โดยสกัดด้วย petroleum ether และ 25 %
 ethanol แล้วตกผลึกในสารละลายอิ่มตัวของ lead acetate [saturated aqueous
 $Pb(OAc)_2$] จะได้ reduced anthraquinone แล้ว oxidised ด้วย $FeCl_3$
 จะได้สาร 1, 8 - dihydroxy-anthraquinone-3-carboxylic acid ซึ่ง
 จะสลายตัวที่อุณหภูมิ $309 - 310^\circ C$ (Hauptmann and Lacerda Nazario, 1950 :
 1492 - 1495)

ปี ค.ศ. 1967 G. Richter and H. Haueustein (เยอรมัน) ได้วิเคราะห์
 คุณภาพ sennosides จากใบมะขามแขกและชาอื่น ๆ โดยศึกษาองค์ประกอบ Kussmaul
 and Becker โดยละลายใบมะขามแขกหรือชาต่าง ๆ ที่ต้องการวิเคราะห์ในน้ำแล้วสกัด
 ด้วย ether และ ethanol นำไปละลายใน aqueous $NaHCO_3$ oxidised ด้วย
 H_2O_2 และวัด absorbance ที่ 510 nm. (G. Richter and H. Haueustein,
 1967 : 1751 - 1756)

ปี ค.ศ. 1968 N.N. Kaji, M.L. Khorana and M.M. Sanghavi แห่ง
 มหาวิทยาลัยบอมเบย์ (Univ. Bombay) ได้สกัดสารต่าง ๆ จากใบ Cassia fistula
 พบว่า sennosides จะมีมากในกุกที่ Cassia fistula กำลังออกดอก และปริมาณ
 sennosides ในใบ Cassia fistula จะลดลงเมื่อเริ่มมีดอก นอกจากนั้นยังพบ sen-
 nosides ในกลีบดอก (Petals) และดอกที่ยังไม่บาน (unopened buds) (Kaji,
 Khorana and M.M. Sanghavi, 1968 : 8 - 11)

ปี ค.ศ. 1968 Lemli, J. and cuveele, J. แห่งมหาวิทยาลัย Leuven,
 Louvain, Belgium ได้ศึกษาเกี่ยวกับ sennoside C และ sennoside D
 โดยนำ sennosides รวมที่อยู่ใน senna [glycosides of aloe-emodin in
 reduced or oxidized dimeric form, glycosides of rhein is reduced
 oxidized dimeric form, and glycosides of aloe-emodin linked with rhein
 as heterodianthrone (sennosides C + D)] มาวิเคราะห์ โดยขั้นตอน 1 วิเคราะห์

หา aloe-emodin ใน sennosides รวม โดย oxidised ด้วย FeCl_3 hydrolysed ด้วยกรด สกัด rhein ออกด้วยสารละลาย NaHCO_3 และวัด absorbance ของสารละลายที่เส้นเบสที่ 500 nm. พบว่า 2 หา aloe-emodin ที่ไม่ form bonded กับ rhein ใน heterodianthrones ผลจากความแตกต่างของ 2 ขั้นตอน จะเห็นเปอร์เซ็นต์ sennosides C + D (Lemli, J. and Cuvcele, J., 1968 : 689 - 692)

ปี ค.ศ. 1968 Romanova, A.S.; Semakina, N.D. and Ban'kovskii, A.I. (รัสเซีย) ได้แยก anthraglucosides ด้วย column chromatography (C.C.g.) โดยใช้ polyamide เป็น stationary phase ส่วน moving phase หรือ solvents ใช้ toluene, H_2O - acetone-benzene (2 : 1 : 4) และ ethanol นำสารที่แยกได้ไปวิเคราะห์ด้วย paper chromatography และศึกษาคุณสมบัติ พบว่า aloe emodin 8-mono- β -D-glucoside $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ มี mp. 221 - 222°C มีค่า Rf 0.36; rhein 8-mono- β -D-glucoside, $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ มี mp. 260 - 266°C มีค่า Rf 0.85 และ emodin มีค่า Rf 0.90 (Romanova, Semakina and Ban'kovskii, 1969 : 62)

ปี ค.ศ. 1969 Alfthan, Voldemar and Aaltonen, Martti ได้สกัด sennosides จากใบมะขามแขก โดยใช้ CH_3OH เป็นตัวทำละลายและตกผลึกใน CH_3OH ที่มี calcium salicylate หรือ CaCl_2 และ salicylic acid ละลายอยู่ พบว่าผงใบมะขามแขกหนัก 1 กิโลกรัม ตกผลึกได้เกลือ Ca ของ sennosides ซึ่งมีน้ำหนักแห้ง 100.8 กรัม เกลือนี้มีความมี sennosides อยู่ 24% และทดสอบเกลือ sennosides ที่สกัดได้ทางชีววิทยาพบว่า มีฤทธิ์ยาส่งการพักตัว 35% (Alfthan, Voldemar and Aaltonen, Martti, 1970 : 272)

ปี ค.ศ. 1969 Michaud, Jean ได้นำผงใบมะขามแขกสกัดด้วย 1% citric acid ใน CH_3OH filtrated ที่ให้ทำในเขมร และตกผลึกใน ether ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$) จะได้น้ำตาลละลายน้ำได้ ผลนี้มีความมี sennosides A และ B (rhein derivatives) 15 - 20% และ sennosides C และ D (mixed rhein and aloe emodin derivatives) ผลที่สกัดสามารถนำไปใช้เป็นยาถ่ายน้ำท้องของ

อย่างร้ายแรงและเรื้อรังได้ นอกจากนั้นยังสามารถนำไปสมิโซควกับยาแก้ปวดได้
(Michaud, Jean, 1971 : 228)

ปี ค.ศ. 1970 Zwaving, J.H. (Netherlands) ได้เปรียบเทียบปริมาณ
sennosides ในยาน้ำเชื่อมมะขามแขก (Senna syrup) พบว่ายาน้ำเชื่อมมะขามแขก
ที่เตรียมมาจากยาสกัดเหลว (extraction liquid) จากใบมะขามแขกและเติม
 Na_2CO_3 มี sennosides น้อยกว่ายาสกัดที่ไม่มี Na_2CO_3 เพราะว่ในระหว่างการ
เตรียมยาและการเก็บยา ปริมาณ sennosides ในยาน้ำเชื่อมมะขามแขกที่มี Na_2CO_3
จะลดลงเร็วกว่ายาน้ำเชื่อมที่ไม่มี Na_2CO_3 อยู่ด้วย นอกจากนั้นยังพบว่า การสกัด
sennosides โดยวิธีของเหลว (extraction liquid) ที่ไม่มี Na_2CO_3 จะสกัด
sennosides ที่มีอยู่ออกมาได้เพียงประมาณ 50% ของ sennosides ที่มีในใบ
แต่การสกัดโดยวิธี ethanol ผสมน้ำในอัตราส่วน 7:3 (7:3 v/v) จะได้
sennosides ประมาณ 90 % ของ sennosides ที่มีในใบมะขามแขก (Zwaving, J.H.,
1971 : 83 - 89)

ปี ค.ศ. 1969 Romanova, A.S.; Ban'kovskii, A.I.; Semakina, N.D.;
and Meshcheryakov, A.A. (USSR) ได้พบการสกัด anthracene derivatives
จากใบ (leaves) และฝัก (bean glumes) ของมะขามแขกพันธุ์ Cassia acutifolia
พบสารดังกล่าวมีอยู่ในใบ 0.85 % ถึง 3.13 % และในฝักมี 2.26 % ถึง 3.16 %
(Romanova, A.S. and others, 1971 : 109)

ปี ค.ศ. 1970 Semakina, N.D.; Romanova, A.S.; Meshcheryakov,
A.A. and Ban'kovskii, A.I. (USSR) ได้ศึกษาคุณสมบัติของ anthraglycosides
ที่สกัดได้จากใบ (leaves) และฝัก (bean glumes) ของมะขามแขกพันธุ์ Cassia
acutifolia โดยใช้ paper chromatography, column chromatography (on
polyamide) และใช้ UV. IR. ศึกษา emodin และ gluco aloec emodin
(Semakina, N.D. and Others, 1972 : 190)

ปี ค.ศ. 1972 Szabo, Anlal; Bite, Pal; Magyar, Gyorgy and Kovacs

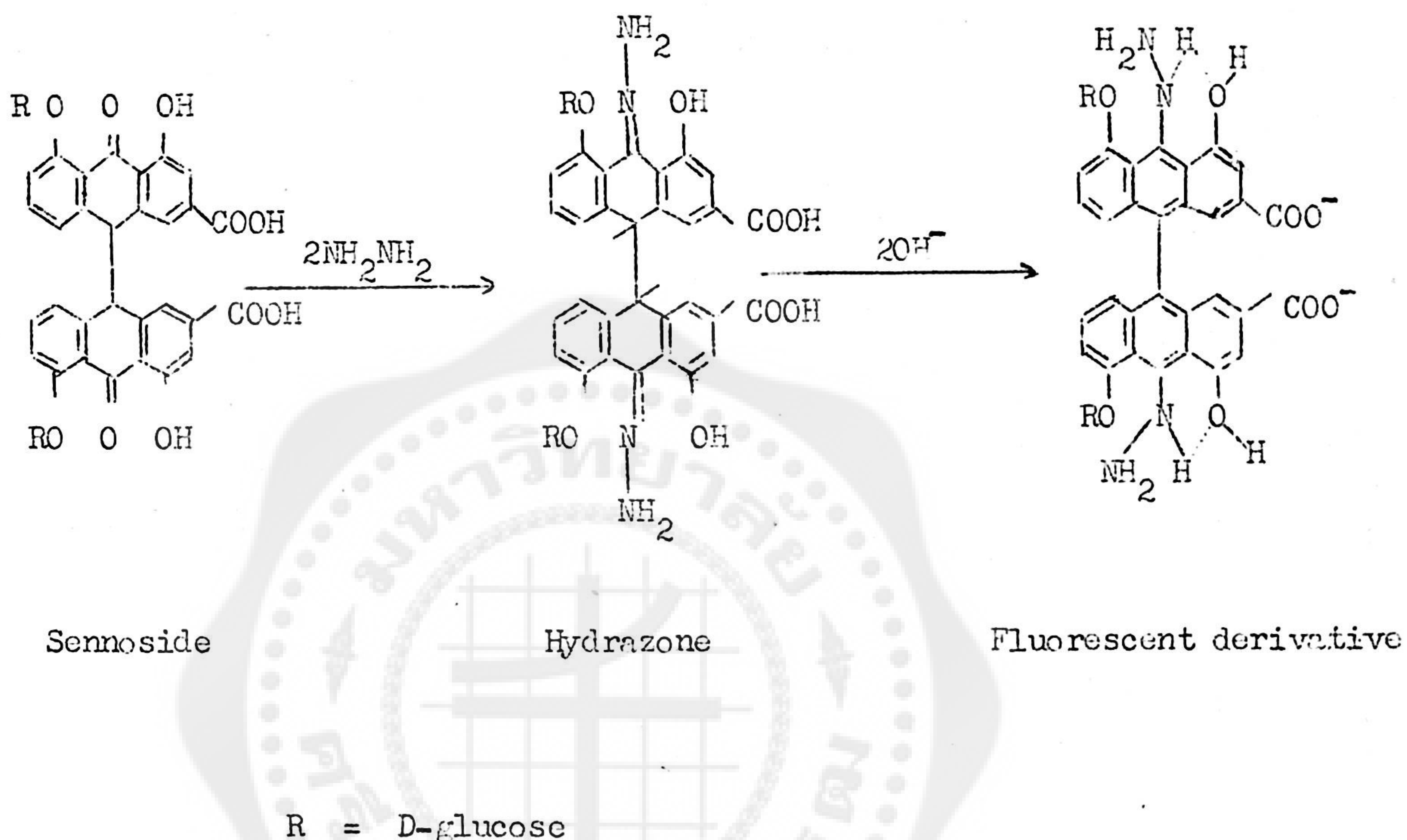
Nagy, Margit (Hungary) ได้ศึกษาหาปริมาณ sennosides ในยาที่พ่นจากมะขามแขก โดยใช้ TLC แยก sennosides ออกมาและตรวจสอบหาปริมาณ sennoside ในยามะขามแขกจาก eluate ด้วย UV. light (Szabo, Anlal and others, 1973, 282)

ปี ค.ศ. 1973 Shafeera, A.P. and Ladygina, E.Ya. (USSR) ได้ทดลองสกัดหาปริมาณ anthracene derivatives จากส่วนต่าง ๆ ของมะขามแขกพันธุ์ Cassia acutifolia พบว่าในใบย่อย (leaflets) มีสารดังกล่าว 1.48 % ก้านใบ (petioles) มี 1.33 % และลำต้น (stem) มี 0.67 % ในการศึกษาดังกล่าวใช้วิธี paper chromatography (Shafeera, A.P. and Ladygina, E. ya., 1973 : 218)

ปี 1972 Saad M. Khafagy; A.N. Girgis; S.E. Khayyal and M.A. Helmi (Egypt) ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของ sennosides ในใบและลำต้นมะขามแขก โดยใช้ 70 % methanol แยกหา sennoside A, B, C และ D ด้วย TLC โดยใช้ Silica gel G. เป็น stationary phase solvent ใช้ isopropanol - ethyl acetate-water (36 : 36 : 28) พบว่าค่า Rf ของ sennoside A, B, C และ D เท่ากับ 0.35, 0.22, 0.67 และ 0.77 ตามลำดับ การหาปริมาณด้วย UV. จาก spectrophotometer ที่ 270 nm. และด้วย visible light จาก spectrophotometer ที่ 430 nm. ปริมาณของ sennosides ในใบและลำต้นที่ตากแดด (sun-drying) พบว่าใบมี sennoside A 0.63 %, B 0.64 %, C 0.60 % และ D 0.58 % sennosides รวมเท่ากับ 2.45 % มีลำต้นมี sennosides A 0.66 % B 0.65 %, C 0.63 % และ D 0.60 % sennosides รวมเท่ากับ 2.54 % ใบที่อบแห้ง (air-oven-drying) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50°C มี sennoside A 0.69 %, B 0.70 %, C 0.70 % และ D 0.67 % sennosides รวมเท่ากับ 2.76 % ใบที่แช่แข็งแห้ง (freeze-drying) มี sennoside A 0.97 %, B 0.95 %, C 0.91 % และ D 0.85 % sennosides รวมเท่ากับ 3.68 % นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารในน้ำเป็นกรดที่ละลายได้เล็กน้อย มี A 0.53 %, B 0.50 %, C 0.46 % และ D 0.32 %

sennosides รวมเท่ากับ 1.81 % ถ้าสกัดด้วย chloroform จะมี sennoside A 0.100 %, B 0.090 %, C 0.103 % และ D 0.09 % sennosides รวมเท่ากับ 0.383 % ถ้าสกัดด้วย 70 % ethanol จะมี sennoside A 0.57 %, B 0.59 %, C 0.55 % และ D 0.49 % sennosides รวมเท่ากับ 2.2 % จากการทดลองสกัดสารรูปโพแทสเซียม sennosides มากกว่าใน 3 - 5 % และวิธีการแยกแยะพบว่ามี sennosides มากกว่าตามแถบ 26 - 55 % (Saad M. Khafagy and others, 1972 : 304 - 309)

ปี ค.ศ. 1972 J.F. Lawrence (Canada) and R.W. Frei (Switzerland) ได้วิเคราะห์หาปริมาณ sennoside A, B และ C ในยานระฆาต Sennokot (Purdue, Frederic Canada Ltd.) โดยสกัดสารจากยานระฆาตด้วย methanol (50 : 50) และมี triethylamine เติมลงไปเล็กน้อย แยก sennoside A, B และ C โดยใช้ TLC ซึ่งใช้แผ่นแยกด้วย Silica gel G. (Macherey Nagel, Duren, G.F.R.) บนแผ่นกระจก นอกจากนั้นยังใช้แผ่น Silica gel ที่เตรียมไว้จากยี่ห้อ (Eastman No.6061) ที่ทำละลายใช้ ammonia solution-ethanol-isopropanol-ethyl acetate (35 : 10 : 20 : 25) แปรจากแผ่นแยกแยก sennosides ได้โดยวัดค่า Rf ของ sennoside A, B และ C เท่ากับ 0.39, 0.19 และ 0.52 ตามลำดับ ส่วนแผ่น Silica gel ที่เตรียมไว้แยก sennoside ได้ใช้ sennoside ที่แยกได้นำไปหาปริมาณ sennoside โดยใช้วิธี fluorescence โดยพบว่ายาน 65 % aqueous hydrazine และเบสอื่น ๆ เช่น ammonia, NaOH, alkylamines และ phenylhydrazine fluorescence จะเกิดขึ้นหลังจากทิ้งไว้ 30 นาที ณ อุณหภูมิ 70°C ปฏิบัติการที่ได้นี้



ผลจากการวิเคราะห์ปรากฏว่ายาแก้ Sennokot 1. เม็ด ซึ่งระบุว่ามี sennosides 8.70 mg. มี sennoside A 4.00 mg. sennoside B 4.13 mg. และ sennoside C 0.71 mg. เพราะฉะนั้นมี sennosides รวม 8.84 mg. (J.F. Lawrence and R.W. Frei, 1973, 223 - 228)

ปี ค.ศ. 1972 Hazama, Naohiko; Sato, Misako; and Taniguchi, Nobuko (Jintan-Dole Co., Ltd. Japan) ได้สกัด sennosides จากใบมะขามแขก (Cassia leaves) โดยใช้ tertiary ammonium salts เป็นตัวทำละลายสกัด และแยก sennosides ออกมาด้วยวิธี column chromatography โดยใช้ anion exchange resins เป็น stationary phase ใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย ถกผลึก sennosides ในสภาพเกลือ Ca ซึ่งจะได้ออก Ca ของ sennoside A และ B เป็นผลึกสีขาว (Hazama, Naohiko; Sato, Misako; and Taniguchi, Nobuko, 1974: 302 - 303)

ปี ค.ศ. 1972 Magyar, Gyorgy; Eite, pal; Szabo, Antal; Moravesik, Inare; Fekete, Marten; Kurti, Mariana and Tarjanyi, Sandor ได้สกัด sennosides จากยารามะขามแขก โดยใช้ตัวทำละลาย MeOH-THF, MeOH-dioxane หรือ THF-dioxane ที่มี H_3PO_4 อยู่ด้วย sennosides ที่สกัดได้ทำให้เข้มข้นแล้วเติม ether (Et_2O) หรือ $(iso-Pr)_2O$ จะได้ sennosides ตกตะกอนออกมาและพบว่ายารามะขามแขก 1 กิโลกรัม ตกตะกอน sennosides ออกมาได้ 100 กรัม ตะกอนดังกล่าวมี sennosides A + B 25 - 30 % ตามที่ออกมา Magyar, Gyorgy และคณะ ได้ตกตะกอน sennosides ที่มีความเข้มข้นของ sennosides มากขึ้นโดยพบว่ายารามะขามแขก 1 กิโลกรัม ตกตะกอน sennosides ได้ 98 กรัม ตะกอนดังกล่าวมี sennosides A + B 33.5 % [Magyar, Gyorgy and others, 1973 : 83457 J, 1975 : 272 (183390 h)]

ปี ค.ศ. 1972 Stephen Chao Yung and N.M. Ferguson ได้สกัดและแยก anthraquinone glycosides จาก Cascara bark และใบมะขามแขก พันธุ์ Cassia angustifolia โดยใช้ตัวทำละลาย chloroform, ethanol แปรจากของจาก Senna 300 กรัม สกัดได้ residue ใน chloroform (free anthraquinone) 22.4 กรัม และเมื่อสกัดด้วย ethanol จะได้ glycoside 5.2 กรัม หรือ 1.73 % ใช้วิธี chromatography ตามวิธีของ T.J. Betts, J.W. Fairbairn and W.K. Mital. [J. Pharm. Pharmacol., 10, 436 (1958)] แยก glucosides โดยใช้กระดาษ Whatman No. 1 solvents ใช้ water-acetone-benzene (2 : 1 : 4) แปรจาก glucosides ของใบ Cassia angustifolia แยกออกได้ 5 ชนิด มีค่า Rf เท่ากับ 0.05, 0.48, 0.65, 0.71 และ 0.75 (Stephen Chao Yung Su and N.M. Ferguson, 1973 : 899 - 901)

ปี ค.ศ. 1974 Brendel, W.D. and Berger, L ได้วิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในใบ มะขามแขก โดยใช้วิธีวิเคราะห์ แปรจากใบมะขามแขกที่มีสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของ sennosides อยู่ประมาณ 3 % (Brendel, W.D. and Berger, L, 1974 : 124 - 127)

ปี ค.ศ. 1974 D.R. Lohar; D.D. Chawan and S.P. Garg. ได้หาปริมาณ sennosides ในใบมะขามแขกพันธุ์ต่าง ๆ ในราชสถานตะวันตก (Western Rajasthan) 7 พันธุ์ พบว่าใบมะขามแขกพันธุ์ต่าง ๆ มี sennosides อยู่ระหว่าง 0.07 - 4.23 % ในจำนวนนั้นเป็น rhein 0.05 - 3.54 % ในจำนวนมะขามแขก 7 พันธุ์นี้ ใบมะขามแขกพันธุ์ Cassia angustifolia (อายุ 3 เดือน) มี sennosides สูงสุด คือ 4.23 % รองลงไปคือพันธุ์ Cassia fistula (จากดอกหอกในเดือนเมษายน ค.ศ. 1974) มี sennosides 1.80 % นอกนั้นยังพบ sennosides ในพันธุ์ต่าง ๆ มีปริมาณแตกต่างกัน คือ Cassia javanica 0.20 %, Cassia siamea (ขี้เหล็กบ้าน, ขี้เหล็กใหญ่) 0.07 %, Cassia tora 0.14 %, Cassia sophera 0.07 % และ Cassia auriculata 0.15 % (D.R. Lahar, D.D. Charvan and S.P. Garg, 1975 : 67)

ปี ค.ศ. 1975 El-Gengaihi, S.; Agiza, A.H. and El Hamidi, A (Egypt) ได้หาปริมาณ anthraquinone glycosides ในผักและใบมะขามแขก พบว่าปริมาณของสารดังกล่าวจะลดลงเมื่อขนาดและอายุของผักและใบมะขามแขกเพิ่มขึ้น การลดปริมาณของสาร anthraquinone glycosides จะเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อผักและใบแก่เต็มที่ (El-Gengaihi, S.; Agiza, A and El Hamidi A., 1975 : 349 - 353)

วิธีดำเนินการทดลอง

1. ตัวอย่าง

1.1 ชนิดของตัวอย่าง

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ใช้น้ำมันสกัด 2 พันธุ์ คือ มะขามแขกพันธุ์ *Cassia angustifolia* และมะขามแขกพันธุ์ *Cassia acutifolia* จากแปลงปลูกของเกษตรกร นิคมพร สุทธิบาท จังหวัดสระบุรี และเกษตรกรอำเภอพัฒนานิคม จังหวัดลพบุรี

1.2 วิธีเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างมะขามแขกทั้ง 2 พันธุ์ โดยสุ่มเก็บจากแปลงปลูกของเกษตรกร 5 แปลง (เพื่อที่จะได้ผลรวมกันประมาณ 8 ไร่) ตัวอย่างที่เก็บประกอบด้วย

1.2.1 ผล (Pods)

ผลแก่ อายุ	35	วัน
ผลก่อนขางแก่ อายุ	28	วัน
ผลขนาดกลาง อายุ	21	วัน
ผลก่อนขางอ่อน อายุ	14	วัน
ผลอ่อน อายุ	7	วัน

1.2.2 ใบ (leaves)

ใบแก่ อายุ	5	เดือน
ใบก่อนขางแก่ อายุ	4	เดือน
ใบขนาดกลาง อายุ	3	เดือน
ใบก่อนขางอ่อน อายุ	2	เดือน
ใบอ่อน อายุ	1	เดือน

1.2.3 ไม้เค็ด

1.2.3.1 ผักที่เกษตรกรเก็บขาย เป็นผักขนาดกลาง

1.2.3.2 ขาถาย Pursenmid ระบุมว่า sennoside

12 mg/tab.

อุปกรณ์ที่ใช้

glass column

glass plate Size 20 x 20 cm² (For TLC)

Desaga, Heidelberg, Germany

oven

electrical balance

Spectrophotometer, Beckman Model D B - G

micro - pipette

micro drying

glass - stoppered centrifuge tube

สารเคมีที่ใช้

sodium hydroxide

sulfuric acid

hydrochloric acid

sodium bicarbonate

hydrogen peroxide

ether

methanol

ethyl acetate

iso - propanol

Parsennid tablet drug (12 mg/tab)

standard semnoside A and B

glass woolของบริษัท Gallenkamp, England.

Sillica gel G ของ E. Merk A G. Darmstadt, Germany.

2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 วิธีการทำให้แห้งและเป็นผงละเอียด

นำฝักและใบมะขามแขกมาตากให้แห้ง โดยตากให้ถูกแดดอ่อนๆ หน้าที่ตาก ต้อง หมั่นกลับเพื่อให้แห้งสม่ำเสมอ ใบมะขามแขกใช้เวลาตาก 2 วัน ฝักมะขามแขกใช้เวลา ตาก 3 วัน นำฝักและใบที่แห้งแล้ว ชั่งหา น.น. และบดให้เป็นผงละเอียดด้วยครกหิน

2.2 การหาปริมาณ semnosides รวม

นำฝักและใบมะขามแขกมาสกัดหาปริมาณ semnosides รวม โดยใช้วิธี Muller, Christ, Kuhn. ซึ่งแยกเป็นขั้นตอนได้ดังนี้ :-

2.2.1 วิธีสกัด (Extraction)

ซึ่งผงละเอียดมะขามแขก 1 กรัม ใส่ในขวดตวง (Volumetric flask) ขนาด 100 cm³ เติมน้ำเดือดลงไปประมาณ 90 cm³ นำขวดตวงไปจุ่มแช่ในน้ำ อุ่นอุณหภูมิ 70°C (warm water bath) เป็นเวลา 10 นาที ขณะที่อุณหภูมิของเขยำน้อยๆ แล้วทำให้เย็นลงทันที โดยจุ่มลงในน้ำเย็นจัด หยด 1 M. NaOH ลงไปจนสีเปลี่ยนเป็นสีแกง จึงต้องใช้เวลาประมาณ 5 หยด เติมน้ำให้ปริมาณครบ 100 cm³ เขย่าผสมกันให้ดี

2.2.2 Hydrolysis

ใช้ pipette ดูดของผสมในข้อ 2.2.1 มา 10 cm^3 ใส่ใน flask ขนาด 100 cm^3 เติม 3% HCl 5 cm^3 (ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง) และ hydrolyse โดยจุ่มลงใน water bath (70°C) เป็นเวลา 25 นาที นำออกมา ปล่อยให้เย็น หลังจากนั้นหยด 30% NaOH ลงไปทีละหยก พร้อมพองยา จนกระทั่ง สารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง ซึ่งต้องใช้ 30% NaOH ประมาณ $6 - 7\text{ cm}^3$ ปล่อยให้เย็น แล้วเติม ether 50 cm^3 ทำให้เป็นกรด โดยหยด 50% H_2SO_4 ลงไปทีละหยก จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งต้องใช้ 50% H_2SO_4 ประมาณ 5 หยก เติบยาแยกชั้น ether ออกโดยใช้กรวยแยก ในชั้นน้ำเติม ether 30 cm^3 เติบยาแยก ether ออก ๘ ครั้ง ปล่อยให้เย็น ether ชั้นล่างจะมี sennosides ชั้น ether จะมีสีเหลือง ในการทดลองใช้ ether ครั้งละ 30 cm^3 ๘ ครั้งซ้ำอีก 3 ครั้ง

2.2.3 NaHCO_3 cleaning

รวมเอา ether ที่ใช้สั กัดใน 2.2.2 ใส่ในกรวยแยก เติบสารละลายอื่น ๆ ในน้ำของ NaHCO_3 30 cm^3 เติบยา แยกชั้นน้ำ (สีแดง) ออกใส่ในกรวยแยก ซึ่งมี 50% H_2SO_4 10 cm^3 และ ether 30 cm^3 อยู่ (สารจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ในการทดลองทดลอง ๆ ปล่อยให้เย็นน้ำจาง ๆ มีชั้นจะเกิดฟองอากาศจนกระทั่งสารละลายออกมาจากกรวยแยก) สั กัดสารออกจากชั้น ether ซ้ำอีก โดยเติมสารละลายอื่น ๆ ในน้ำของ NaHCO_3 15 cm^3 ลงไป เติบยา แยกชั้นน้ำออก สั กัดซ้ำอีก 1 - 2 ครั้ง จนกระทั่งชั้นน้ำใส

แยกชั้นน้ำที่สกปรกเป็นกรดออกจากชั้น ether เก็บชั้น ether ไว้ หลังจากนั้นเติม ether 20 cm^3 ลงในชั้นน้ำ เติบยา แยกชั้นน้ำออก เก็บชั้น ether รวมกับครั้งแรก สั กัดซ้ำ 2 - 3 ครั้ง จนกระทั่งชั้น ether ใส

นำเอาชั้น ether กรองผ่าน glass wool ลงในขวดขนาด 100 cm^3 เติบ ether ให้ปริมาตรครบ 100 cm^3

2.2.4 Oxidation

ใช้ pipette ขนาด 10 cm³ ที่แห้ง ถูกสารละลายในชั้น ether ออกจากขวดวาง ใส่ในกรวยแยก เติม 1 M. NaOH 10 cm³ ลงในกรวยแยก เขย่า แยกชั้น NaOH (ชั้นล่าง) ออกใส่ในหลอดทดสอบ เติม 3 % H₂O₂ 0.2 cm³ จุ่มหลอดทดสอบไว้ในน้ำเกิดเป็นเวลา 4 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น (สารละลายมีสีแดงถึงแดงคล้ำ) หมายเหตุ ในการทดลองจะต้องใช้หลอดทดสอบขนาดใหญ่ ประมาณ 50 cm³ เพราะถ้าหลอด เล็กเกินไป จะทำให้สารละลายที่เกิดปฏิกิริยา ล้นออกจากหลอด ซึ่งจะทำให้ การทดลองล้มเหลว

2.2.5 Photometric

นำสารละลายที่ oxidized แล้วไปวัดหา absorbancy โดยใช้ น้ำเป็น blank ที่ความยาวคลื่น 510 และ 800 nm.

2.2.6 การกำหนดหาปริมาณร้อยละของ sennosides

หาเปอร์เซ็นต์ sennosides จากสูตร

$$\text{ปริมาณร้อยละของ sennosides} = \frac{(E_{510} - E_{800}) \times 100}{13.6 \times \text{test portion (g)}}$$

ตัวอย่าง น้ำมูกใบมะขามเทศตัวอย่างมา 1 กรัม ทดลองสกัดตามขั้นตอนต่าง ๆ วัด absorbancy ที่ 510 nm ได้ 0.582 ที่ 800 nm ได้ 0.112 หาปริมาณร้อยละของเซนโนไซด์ ได้ดังนี้

วิธีคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณร้อยละของ sennosides} &= \frac{(E_{510} - E_{800}) \times 100}{13.6 \times \text{test portion (g)}} \\ &= \frac{(0.582 - 0.112) \times 100}{13.6 \times 1.0} \end{aligned}$$

∴ ใบมะขามเทศตัวอย่างมี sennosides = 3.455 %

2.2.7 นำเอาตัวอย่างยา Pursennid ของบริษัท Sandoz แพ่ง
สวิสเซอร์แลนด์ ซึ่งมี sennosides ในแต่ละ 12 mg. มา 3 และ 6 เม็ก สกัดตาม
ขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อแยกตัวอย่างมาตรฐานแยก หาเปอร์เซ็นต์ sennosides เพื่อเปรียบเทียบ
ตัวอย่างที่สกัดได้กับตัวอย่างที่ระบุไว้ในฉลาก

2.2.8 ในการทดลองได้สกัดตัวอย่างมาตรฐานแยกเพื่อการวิจัย 20 ตัวอย่าง
นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างผักมาตรฐานแยกที่เกษตรกรเก็บไว้ขายอีก 1 ตัวอย่าง และยา pursennid
อีก 1 ตัวอย่าง จึงมีทั้งหมดรวม 22 ตัวอย่าง สกัดทดลองตัวอย่างละ 3 ครั้ง ผลการ
ทดลองแสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 8, 9 และ 10

2.3 การหาปริมาณ sennoside A และ B

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้ Reference samples of sennoside เพียง
2 ชนิด คือ sennoside A และ B เท่านั้น ส่วน sennoside C และ D ไม่
มีจึงวิเคราะห์หาได้เฉพาะปริมาณ sennoside A และ B ในการวิเคราะห์หาปริมาณ
sennoside A และ B ใช้วิธีการส่วนหนึ่งจาก Estimation of Sennosides A, B,
C and D in Senna leaves pod and Formulation by Saad M. Khafagy, A.N.
Girgis, S.E. Khayyal and M.A. Helmi ซึ่งวิธีการทดลองดังนี้

2.3.1 การเตรียม plates

ซึ่ง Silica gel G. (Merck) 40 กรัม ผสมกับน้ำ 80 cm³
คนให้เข้ากันจนมีลักษณะเหลว ๆ (Slurry) แล้วเทใส่ในเครื่องทำ plate (Desaga,
Heildelberg) ฉาบลงบนแผ่นกระจกขนาด 20 x 20 cm² โดยกำหนดความหนาของ
adsorbent เท่ากับ 0.25 mm. วาง plates ที่ฉาบแล้วทิ้งไว้ประมาณ 15 - 20 นาที
หลังจากนั้นนำไปใส่ใน rack ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง จนกระทั่ง plates แหะ
แล้วนำ plates ไปอบในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ 110° C เป็นเวลา 30 นาที เก็บ
plates ที่อบแห้งแล้วไว้ใน desiccator เพื่อใช้ต่อไป

2.3.2 Developing system

ใช้ iso - propanol: ethyl acetate: water ในอัตราส่วน
9 : 9 : 7 ตามลำดับ โดยนำ developing ใส่น้ำในหลอด ๆ ละ 150 cm³

2.3.3 หาคู่ทดลองและอ้างอิง Reference samples of sennosides

นำ Reference samples of sennoside A and B มาทำ mp.
เพื่อเปรียบเทียบด้วย

2.3.4 ทำ standard curve

หึ่ง sennoside A และ sennoside B สารละ 0.0010 กรัม
(1,000 µg) ใส่น้ำในขวดขนาด 10 cm³ สารละลาย ละลายด้วย 50 % methanol
ให้เป็นสารละลาย 10 cm³ (ความเข้มข้นของ sennoside = 100 µg/cm³ หรือ
1,000 µg/10 cm³) แล้วทำให้เจือจางลง มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 2

ตาราง 2 ความเข้มข้นของ sennoside ที่ทำ standard curve

ลำดับ เลขที่	ความเข้มข้น µg/10 cm ³	ทำให้เจือจางจากสาร			หมายเหตุ
		ลำดับ เลขที่	จำนวนสารเดิม cm ³	ทำเป็นสารจำนวน cm ³	
1	1,000	—	—	—	ได้จากของแห้ง
2	200	1	5	25	
3	180	2	9	10	
4	150	1	1.5	10	
5	120	2	6	10	
6	90	3	5	10	
7	60	5	5	10	
8	40	2	2	10	

นำสารความเข้มข้นต่าง ๆ ในตาราง 2 ไปวัด absorbancy ที่ 270 nm ด้วยเครื่อง UV. spectrophotometer . plot graph ระหว่าง absorbancy ที่วัดได้กับความเข้มข้น ($\mu\text{g}/10 \text{ cm}^3$) graph ที่ได้ใช้เป็น standard curve ของ sennoside A และ B ผลการทดลองแสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 19 และภาพ 19

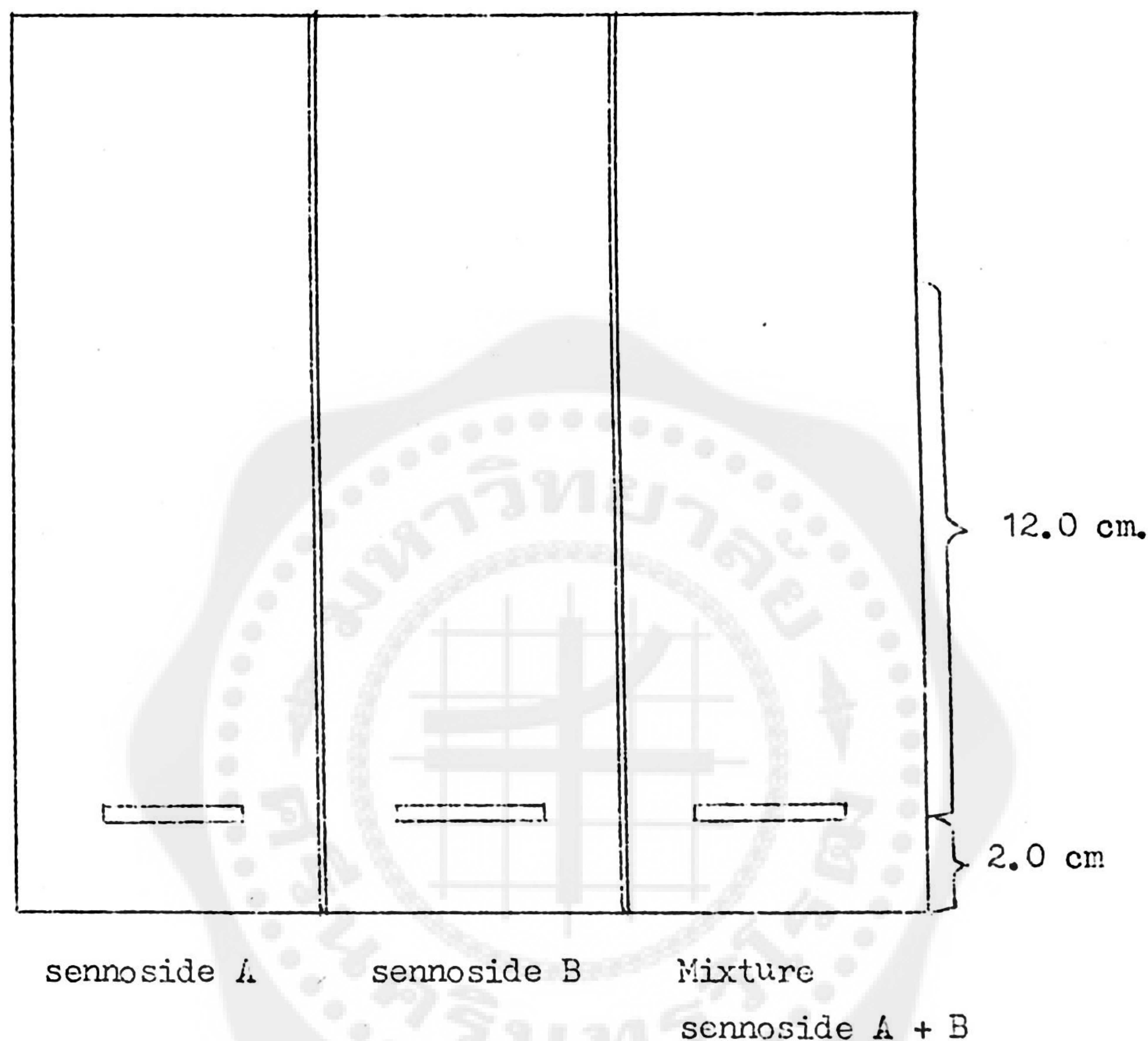
2.3.5 หาปริมาณ TLC recovery ของ sennoside A และ B

ชั่ง sennoside A และ B มาสารละ 0.0040 กรัม ใส่ในขวดทองขนาด 10 cm^3 สารละลายละลายด้วย 50 % methanol ทำให้สารละลายมีปริมาตรครบ 10 cm^3 (ความเข้มข้นของแต่ละสารเท่ากับ $400 \mu\text{g}/\text{cm}^3$)

ใช้ pipette ขนาด 5 cm^3 ถูกละลาย sennoside A และ sennoside B มาอย่างละ 5 cm^3 ผสมกัน

หยดละลาย sennoside A , B และของผสมของ A + B ปริมาณ 0.1 cm^3 ลงใน plate ขนาด $20 \times 20 \text{ cm}^2$ โถยแบ่ง plate ออกเป็น 3 ช่อง การหยดใช้วิธีหยดเป็นแถบ (strip) ให้แถบที่หยดอยู่ห่างจากขอบล่างสุดของ plate 2.0 cm. ภาพ 9

ภาพ 9 การแยก sennoside ทาง ฯ



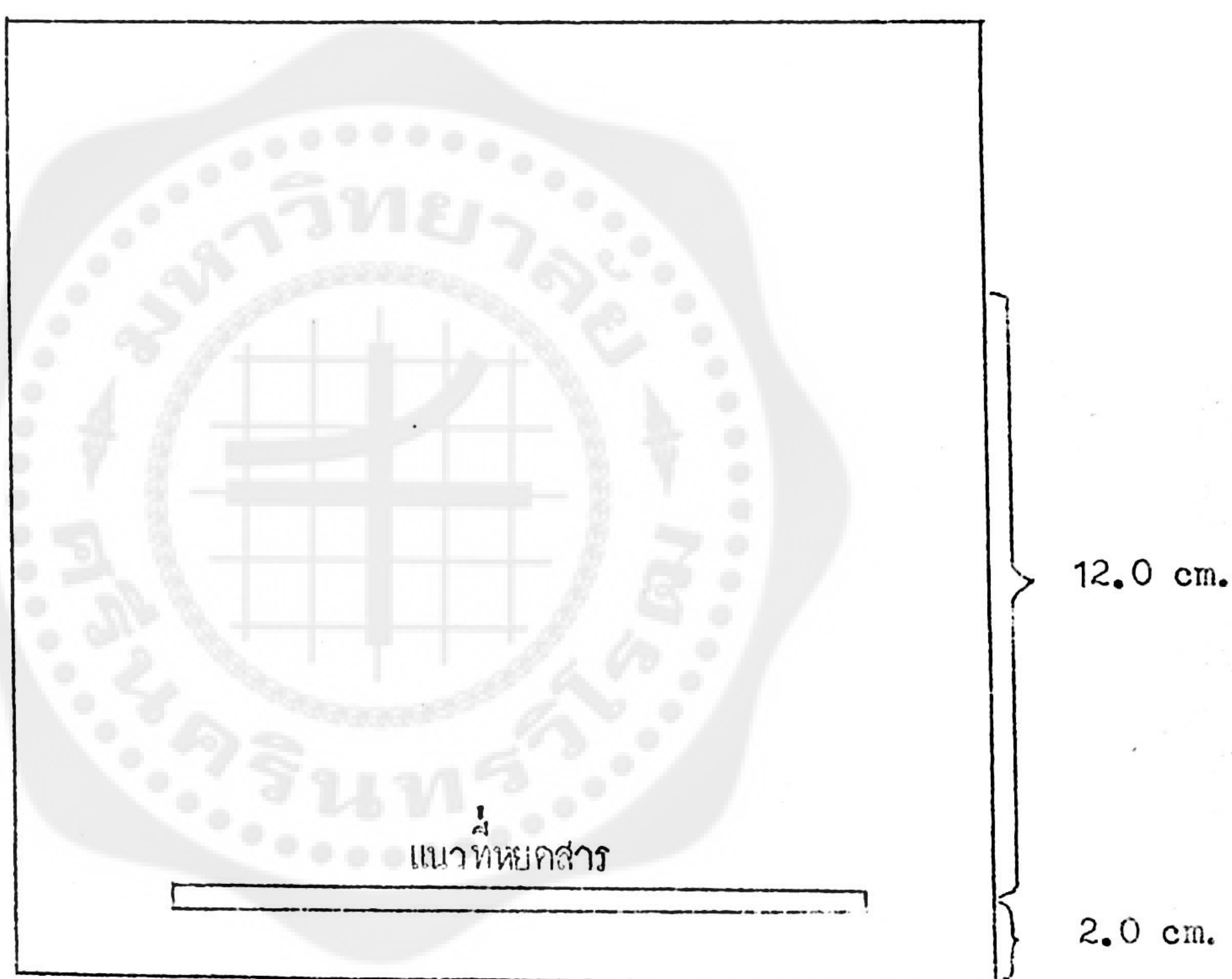
นำ plate ไปใส่โหลที่ทาสีดำที่ไว้เป็น developing อยู่
 150 cm³ ปล่อยให้ตัวทำละลายขึ้นสูง 12.0 cm. แล้วนำ plate ออกปล่อยให้แห้ง
 แล้วพ่นด้วย 10 % methanol sodium hydroxide ที่เตรียมใหม่ ๆ กำหนดค่า Rf
 ผลการทดลองแสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 20 plate นี้ใช้เป็น plate เปรียบเทียบ

หยดสารละลายผสมของ sennoside A + B ลงใน plate
 ขนาด 20 x 20 cm² ให้แต่ละ plate มี sennoside A และ B อย่างละ 60,
 120 และ 180 µg

หยก 50 % methanol ลงใน plate ขนาด 20 x 20 cm²
 ปริมาณเท่ากับสารละลายผสม sennoside A + B 60, 120 และ 180 µg ใช้เป็น
 blank plate

การหยกสารละลายผสมของ sennoside A + B และ 50 % methanol ลง
ใน plate ให้แถบที่หยกห่างจากขอบล่างสุดของ plate 2.0 cm. ดังภาพ 10

ภาพ 10 การหยกสารละลายผสมของ sennoside A + B and 50 % methanol



นำ plate ที่หยกสารเสร็จและวางไว้ให้แห้งแล้ว ไปใส่ในโถที่มี developing
solvent 150 cm³ โดยใส่ plate ที่หยกสารละลายผสมของ sennoside A + B
กับ plate ที่ให้เป็น blank และ plate เปรียบเทียบ (pilot plate) ไว้ใน
โถเดียวกัน ปิดฝาให้ทั่ว ทำละลายขึ้นไปถึงประมาณ 12 cm. นำ plates ออกปล่อยให้
แห้ง พบ pilot plates ด้วย 10 % methanolic NaOH แล้วนำมาเทียบหาพื้นที่ของ
sennoside A และ B ชูกแต่ละพื้นที่ด้วย thin spatula plate ของ blank
ชูกทำนองเดียวกัน ๑ ความสูงเท่ากัน และน้ำหนักของ Silica gel G. จาก blank
ทองเท่ากับ Silica gel G. จาก plate ของสารผสม sennoside A + B ด้วย

นำ Silica gel G. ที่ผูกติดไว้กับเส้น chromatographic tube ขนาดเล็ก ล้างด้วย 70 % methanol 10 cm³ สารที่ล้างได้ปริมาณให้ได้ 10 cm³ โดยการเติม 70 % methanol แล้วนำไปหาค่า absorbancy ที่ 270 nm. ด้วยเครื่อง UV. Spectrophotometer. นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ recovery กับ standard curve ผลการทดลอง แสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 21

การทดสอบการดูดและการล้าง sennoside A และ B ว่าหมกหรือไม่ ทดสอบ ด้วย 10 % methanolic sodium hydroxide.

2.3.6 การหาปริมาณ sennoside A และ B จากมะขามแขก

2.3.6.1 การสกัด (Extraction)

ทั้งผงตัวอย่างมะขามแขก (ผักและใบมะขามแขก) มาอย่างละ 1 กรัม ใส่ใน glass-stoppered centrifuge tube เติม 5 cm³ 70 % methanol เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที นำไปเข้าเครื่อง centrifuge เป็นเวลา 3 นาที ให้ตกตะกอนกอยๆ รินสารละลายออก เติม 70 % methanol ลงไปในหลอดที่ตกตะกอนอีก 5 cm³ สักพักอีก 3 ครั้ง สารละลายที่สกัดได้ปริมาณให้ได้ 20 cm³ ด้วย 70 % methanol เก็บสารที่สกัดไว้เพื่อนำไปแยกด้วย TLC ต่อไป

2.3.6.2 การแยก sennoside A และ B ในผักและใบ

มะขามแขกด้วย TLC

นำสารละลายที่สกัดได้ไปหยดลงใน TLC plate ทำนองเดียวกับที่ทดลอง Reference samples of sennoside A and B ปริมาณที่หยดใส่สารละลายที่สกัด ก็ได้จาก 0.15 cm³ สารละลายที่สกัดจากใบ 0.20 cm³ โดยหยดด้วย micro pipette หลังจากแยก sennoside A และ B ด้วย TLC plate แล้วนำไปหาปริมาณทำนองเดียวกับ Reference samples of sennoside A and B ผลการทดลองแสดงไว้ในบทที่ 4 ภาพ 21, 22 และตาราง 22

2.3.7 การหาปริมาณ sennoside ในยา Pursesennid

นำยา Pursesennid tablets (12 mg/tab) มา 2 เม็ด ล้าง
น้ำกลั่นที่เคลือบออก บดให้เป็นผงละเอียด สกัดด้วย 70 % methanol 5 cm³ 4 ครั้ง
ทำนองเกี่ยวกับการสกัดมะขามแขก แล้วนำไปหยดลงใน TLC plate อยุ่ปริมาณ
0.10 cm³ แยก และหาปริมาณทำนองเดียวกับ samples มะขามแขก ผลการทดลอง
แสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 23

2.3.8 การหาปริมาณ sennoside A และ B ในผักมะขามแขกไทย

นำผักมะขามแขกไทย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ *C. angustifolia*
มา 1 กรัม สกัดด้วยกรรมวิธีเดียวกับตัวอย่างวิจัย และนำสารละลายที่ได้ สกัดไปแยกด้วย
TLC ตามกรรมวิธีเดียวกับผักตัวอย่าง ผลการทดลองแสดงไว้ในบทที่ 4 ตาราง 24

3. การเปรียบเทียบปริมาณ sennosides

3.1 ระหว่างพันธุ์เดียวกัน

3.1.1 ใบอายุต่างกัน

เปรียบเทียบและหาความแตกต่างของ sennosides รวมของใบ
มะขามแขกพันธุ์เดียวกัน โดยดูจากเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม

3.1.2 ผลอายุต่างกัน

ผักของมะขามแขกพันธุ์เดียวกัน แต่มียุ่ต่างกัน นำมาเปรียบเทียบหา
ความแตกต่างโดยดูจากเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมเช่นเดียวกับใบ

3.1.3 ระหว่างใบและผล

เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมในใบและผลเป็นคู่ ๆ
5 คู่ เมื่อมีอายุต่าง ๆ กัน ดังตาราง 3

ตาราง 3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ของใบและฝัก
มะขามเทศพันธุ์ C. ang. และ C. acut.

หมู่ พืช	สภาพใบและฝัก	เปอร์เซ็นต์ sennosides รวม		หมายเหตุ
		ฝัก	ใบ	
1	อ่อน			ใบอายุ 1 เดือน ฝักอายุ 7 วัน
2	กึ่งอ่อน			ใบอายุ 2 เดือน ฝักอายุ 14 วัน
3	กึ่งแก่			ใบอายุ 3 เดือน ฝักอายุ 21 วัน
4	แก่			ใบอายุ 4 เดือน ฝักอายุ 28 วัน
5	แก่			ใบอายุ 5 เดือน ฝักอายุ 35 วัน

หลังจากนั้นหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test ในกรณีที่ข้อมูลมีลักษณะเกี่ยว
เนื่องกัน (Dependent sample) แบบห่อหมกประเกศจับคู่กัน (Match-pairs) ที่ระดับ
ความเชื่อมั่น 0.05 (one-tailed) ดังนี้

$$\text{สูตร } t = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

เมื่อ $\bar{D}$ เป็นความแตกต่างเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม
 $S_{\bar{D}}$ เป็นความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของ $\bar{D}$ หาได้จาก

$$\text{สูตร } S_{\bar{D}} = \frac{S_D}{\sqrt{n}}$$

n เป็นจำนวนคู่ของตัวอย่าง

S_D เป็นความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่าง หาได้จาก

$$\text{สูตร } S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

D เป็นความแตกต่างของคะแนนแต่ละคู่

3.2 ระหว่างพันธุ์ต่างกัน

นำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ของใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia มาเปรียบเทียบหาความแตกต่าง โดยแบ่งการเปรียบเทียบออกเป็น 5 คู่ ตามอายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน แล้วหาความเชื่อมั่นของความแตกต่าง โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ทำนองเดียวกับ 3.1.3

3.2.2 ฝึกพันธุ์ต่างกัน

นำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ของฝึกมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia มาเปรียบเทียบหาความแตกต่าง โดยแบ่งการเปรียบเทียบออกเป็น 5 คู่ ตามอายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน แล้วหาความเชื่อมั่นของความแตกต่าง โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ทำนองเดียวกับ 3.1.3

สรุปสถิติที่ใช้หาความเชื่อมั่นของความแตกต่าง

$$\text{สูตร } t = \frac{\bar{D}}{S_D}$$

$$S_D = \frac{S_D}{n}$$

$$S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ความชื้น

นำตัวอย่างใบและฝักมะขามแขกบางตัวอย่างไปหาความชื้น โดยนำเอาใบสดและฝักสด ซึ่งอบให้แห้ง แล้วหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น พบว่าใบมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นระหว่าง 71 - 73 % โดยใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงกว่าใบแก่ ส่วนฝักมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นระหว่าง 68 - 70 % โดยฝักอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงกว่าฝักแก่ จากการทดลองจึงสรุปได้ว่า เปอร์เซ็นต์ความชื้นจะเรียงตามลำดับดังนี้

ใบอ่อน > ใบแก่ > ฝักอ่อน > ฝักแก่

2. น้ำหนักของใบและฝักแห้ง

2.1 ใบแห้ง

ได้เลือกมะขามแขกที่ตากแห้งแล้ว พืชพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia มาชั่ง หักละ 50 ใบรวม ผลการชั่งแสดงไว้ในตาราง 4 และ 5

ตาราง 4 น้ำหนักของใบ Cassia angustifolia 50 ใบรวม

อายุของใบ (เดือน)	น้ำหนัก(กรัม) ซึ่ง คัด			น.น. เฉลี่ย (กรัม)	หมายเหตุ
	1	2	3		
5	21.3984	22.1372	20.7463	21.4273	น.น. รวม น้ำหนักใบ ทุก
4	18.6493	19.1248	19.3157	19.0299	
3	14.8186	14.9962	15.6314	15.1487	
2	10.5064	10.2917	11.5136	10.7705	
1	8.7934	8.5846	8.9328	8.7702	

จากตารางจะเห็นได้ว่า น.น. ของใบ C. angustifolia จะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น และจะมีอัตราการเพิ่มสูงสุดในระหว่างเดือนที่ 2 - 4

ตาราง 5 น้ำหนักของใบ Cassia acutifolia 50 ใบรวม

อายุของใบ (เดือน)	น้ำหนัก(กรัม) ซึ่ง คัด			น.น. เฉลี่ย (กรัม)	หมายเหตุ
	1	2	3		
5	21.8459	22.1321	21.5482	21.8420	น.น. รวม น้ำหนักใบ ทุก
4	20.0742	20.3525	19.9376	20.1214	
3	16.4546	16.3962	16.7261	16.5256	
2	11.7928	11.9624	11.5948	11.7833	
1	8.1025	7.8672	8.3376	8.1024	

จากตารางจะเห็นได้ว่า น.น. ของใบ C. acutifolia มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในเดือนที่ 1 - 4 ระหว่างเดือนที่ 4 - 5 จะมีอัตราการเพิ่มช้าลง

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักของใบ C. angustifolia และใบ C. acutifolia อายุเท่ากัน จากตาราง 4 และตาราง 5 แล้วจะเห็นว่าใบ C. acutifolia มีน้ำหนักมากกว่าใบ C. angustifolia ยกเว้นเฉพาะเงื่อนไขที่ 1 ที่มีน้ำหนักน้อยกว่า แต่ก็ไม่มากนัก

2.2 ผักแพว

ได้เลือกผักที่ตากแห้งและสมบูรณ์ของมะขามเทศพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia มาชั่งกันละ 100 กรัม ผลการชั่งดังตาราง 6 และ 7

ตาราง 6 น้ำหนักของผัก Cassia angustifolia 100 กรัม

ผักอายุ (วัน)	น้ำหนัก(กรัม) ซึ่ง ผักทั้ง 3			น.น. เฉลี่ย (กรัม)	หมายเหตุ
	1	2	3		
35	20.8350	19.6427	19.3265	19.9347	
28	14.9340	14.2643	14.6452	14.6145	
21	10.6096	10.3583	10.5937	10.5205	
14	6.7273	6.9835	6.8347	6.8485	
7	3.0696	2.5973	2.8981	2.8550	

จากการข้างบนแสดงว่าผัก C. angustifolia เมื่อมีอายุมากขึ้น จะมีน้ำหนักมากขึ้นตามลำดับ

ตาราง 7 น้ำหนักของฝัก Cassia acutifolia 100 ฝัก

ฝักอายุ (วัน)	น้ำหนัก(กรัม)ของฝักที่			น.น.เฉลี่ย (กรัม)	หมายเหตุ
	1	2	3		
35	20.2539	20.6423	20.7298	20.5420	
28	14.9620	15.3854	15.5274	15.2916	
21	11.5372	10.8628	10.9342	11.1114	
14	6.4328	6.6947	6.2971	6.4748	
7	2.3075	2.2101	2.2504	2.2560	

จากตารางข้างบน จะเห็นได้ว่าฝัก C. acutifolia เมื่อมีอายุมากขึ้น จะมีน้ำหนักมากขึ้นตามลำดับ

จากตาราง 6 และตาราง 7 เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักฝักของ C. angustifolia และน้ำหนักฝักของ C. acutifolia แล้วจะเห็นได้ว่าฝัก C. acutifolia มีน้ำหนักมากกว่าฝัก C. angustifolia ยกเว้นเฉพาะอายุ 7 และ 14 วันเท่านั้น ที่น้ำหนักน้อยกว่า

3. ปริมาณ sennosides รวม ของใบและฝักมะขามแขก

การหาปริมาณ sennosides รวม ตามวิธีของ Muller, Christ, Kuhn ในใบและฝักมะขามแขก 2 พันธุ์ คือพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia รวม 20 ตัวอย่าง ผลการทดลองมีดังนี้

ตาราง 8 ปริมาณ sennosides รวม ในใบแคสเซียแคณฑุ Cassia angustifolia และแคสเซีย acutifolia

ชนิดของตัวอย่าง	อายุ	สัปดาห์ที่ 1			สัปดาห์ที่ 2			สัปดาห์ที่ 3			เปอร์เซ็นต์ sennosides รวมเฉลี่ย	หมายเหตุ
		absorbance (nm.)		% sen.	absorbance (nm.)		% sen.	absorbance (nm.)		% sen.		
		510	800		510	800		510	800			
ใบ <u>C. angust.</u>	5 เดือน	0.155	0.016	1.022	0.175	0.020	1.139	0.167	0.021	1.073	1.078	
	4 เดือน	0.245	0.040	1.507	0.241	0.035	1.514	0.212	0.037	1.286	1.435	
	3 เดือน	0.385	0.072	2.301	0.347	0.045	2.220	0.345	0.047	2.191	2.140	
	2 เดือน	0.405	0.067	2.485	0.401	0.080	2.360	0.436	0.092	2.529	2.458	
	1 เดือน	0.410	0.057	2.595	0.462	0.078	2.823	0.420	0.047	2.742	2.720	
ใบ <u>C. acut.</u>	5 เดือน	0.207	0.018	1.389	0.205	0.026	1.316	0.236	0.032	1.500	1.401	
	4 เดือน	0.299	0.053	1.808	0.346	0.073	2.007	0.317	0.075	1.779	1.864	
	3 เดือน	0.392	0.082	2.279	0.401	0.070	2.389	0.363	0.061	2.2205	2.296	
	2 เดือน	0.431	0.095	2.470	0.416	0.089	2.404	0.350	0.058	2.147	2.340	
	1 เดือน	0.489	0.106	2.816	0.425	0.047	2.779	0.472	0.077	2.904	2.833	

ตาราง 8 (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	อายุ	สัปดาห์ที่ 1			สัปดาห์ที่ 2			สัปดาห์ที่ 3			เปอร์เซ็นต์ sennosides พบใน รามแดง	ไฮ Sample 0.5 กรัม ไฮ Sample 0.5 กรัม
		absorbance ที่ (nm.)		% sen.	absorbance ที่ (nm.)		% sen.	absorbance ที่ (nm.)		% sen.		
		510	800		510	800		510	800			
ผัก <u>C. angust.</u>	35 วัน	0.217	0.026	1.404	0.240	0.034	1.514	0.205	0.029	1.294	1.404	ไฮ Sample 0.5 กรัม ไฮ Sample 0.5 กรัม
	28 วัน	0.389	0.068	2.360	0.409	0.067	2.514	0.363	0.057	2.250	2.374	
	21 วัน	0.692	0.102	4.338	0.729	0.145	4.294	0.799	0.139	4.852	4.494	
	14 วัน	0.510	0.065	6.25	0.507	0.100	5.984	0.496	0.091	5.954	6.062	
	7 วัน	0.690	0.113	8.484	0.653	0.102	8.102	0.648	0.090	8.204	8.263	
ผัก <u>C. acut.</u>	35 วัน	0.208	0.035	1.272	0.184	0.025	1.169	0.188	0.023	1.213	1.218	ไฮ Sample 0.5 กรัม ไฮ Sample 0.5 กรัม
	28 วัน	0.361	0.069	2.147	0.379	0.072	2.257	0.407	0.088	2.345	2.249	
	21 วัน	0.513	0.092	3.055	0.546	0.121	3.125	0.572	0.118	3.338	3.186	
	14 วัน	0.446	0.083	5.338	0.416	0.071	5.072	0.436	0.090	5.116	5.175	
	7 วัน	0.540	0.089	6.632	0.580	0.116	6.822	0.554	0.097	6.720	6.724	

จากตาราง 8 จะเห็นได้ว่าเมื่อใบและกิ่งอายุมากขึ้น ปริมาณ sennosides รวมจะลดลงทั้ง 2 พันธุ์ ถึงภาพ 11, 12 และ 13 ผลการทดลองนี้ไปสอดคล้องกับการวิจัยของ El-Gengaihi, S; Agiza, A.H. and El-Hamadi, A. (Egypt) เมื่อปี ค.ศ. 1975 (El-Gengaihi, S; Agiza, A and El Hamidi A, 1975 : 349 - 353)

4. ปริมาณ sennosides รวม ของฝักมะขามแขกที่ขาย และยาถ่าย Pурсennid
ชนิดเม็ด (ถ้วยา sennosides 12 mg/tab.)

ในทำนองการของ Muller, christ, Kuhn มาทดลองหาปริมาณ sennosides รวมในฝักมะขามแขกที่ขาย ซึ่งส่วนมากเป็นพันธุ์ Cassia angustifolia และหาปริมาณ sennosides รวมในยาถ่าย Pурсennid ชนิดเม็ด ของบริษัท Sandoz A.G., Basel, Switzerland (ร้านขายยาซื้อมาเมื่อปี พ.ศ. 2518) ผลการทดลองปรากฏว่า ฝักมะขามแขกที่เพาะกรรขายมี sennosides รวมเฉลี่ย 3.386 % ส่วน sennosides ที่หาได้จาก Pурсennid พบว่ามี sennosides รวมเพียง 74 - 83 % ของที่ระบุไว้ ถึงตาราง 9 และตาราง 10

ตาราง 9 ปริมาณ sennosides รวมของฝักมะขามแขกที่ขาย

ส. ก. ก. ร. ก. ท.	absorbancy ที่ (nm.)		% sennosides	หมายเหตุ
	510	800		
1	0.542	0.089	3.330	
2	0.582	0.123	3.375	
3	0.582	0.112	3.455	
% sennosides เฉลี่ย			3.386	

จากการวางเปอร์เซ็นต์ sennosides ที่หาได้ อยู่ระหว่างเปอร์เซ็นต์ sennosides ของ Cassia angustifolia อายุ 21 - 28 วัน (ภาพ 12) และน้ำหนักโดยเฉลี่ยของผักที่ขายเท่ากับ 11.9441 กรัม ต่อ 100 ผัก ซึ่งเป็นน้ำหนักโดยเฉลี่ยของผักระหว่างอายุ 21 - 28 วันด้วย (ผัก C. angustifolia 100 ผัก อายุ 21 วัน หักเฉลี่ย 10.5205 กรัม อายุ 28 วันหักเฉลี่ย 14.6145 กรัม) ดังนั้นผักที่ขาย 100 ผัก จะให้ sennosides รวมประมาณ $\frac{11.9441 \times 3.386}{100} = 0.4044$ กรัมต่อ 100 ผัก ซึ่งเป็นน้ำหนัก sennosides ระหว่างผักอายุ 21 - 28 วัน ของมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia เช่นเดียวกัน
 ภาพ 16

ตาราง 10 ปริมาณ sennosides รวมของยาเม็ด Pursennid

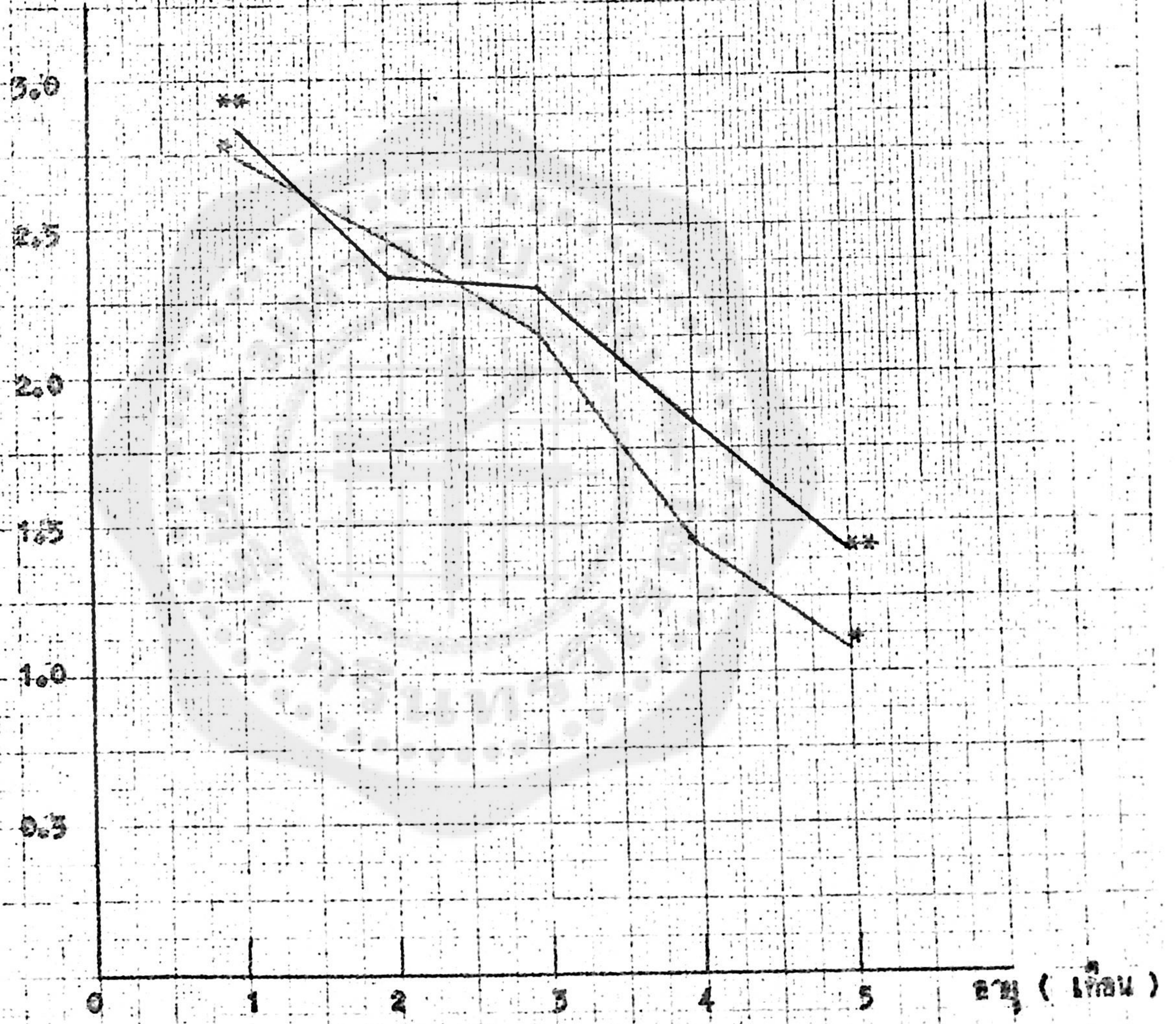
ตัวอย่าง	ปริมาณที่ใช้		ปริมาณที่ตรวจได้			% * sennosides ที่ตรวจพบได้	หมายเหตุ
	เม็ด	sennosides (mg)	absorbancy ที่		sennosides (mg)		
			510	800			
Pursennid tablets (12 mg/tab.)	3	36	0.421	0.057	26.764	74.34	
	3	36	0.465	0.058	29.926	83.12	
	3	36	0.436	0.053	28.308	78.63	
	6	72	0.89	0.099	58.161	80.77	
	6	72	0.95	0.192	55.735	77.40	
	6	72	0.96	0.183	57.132	79.35	
เฉลี่ย	1	12			9.462	79.01	

$$* \% \text{ sennosides ที่ตรวจพบได้} = \frac{\text{ปริมาณ sen. ที่ตรวจได้} \times 100}{\text{ปริมาณ sen. ที่ระบุในฉลาก}}$$

ឧទាហរណ៍ ១១ ប្រភេទ *Sennosides* ដែលមានសកម្មភាព *C. angustifolia*

ធាតុ *C. angustifolia*

% *Sennosides*



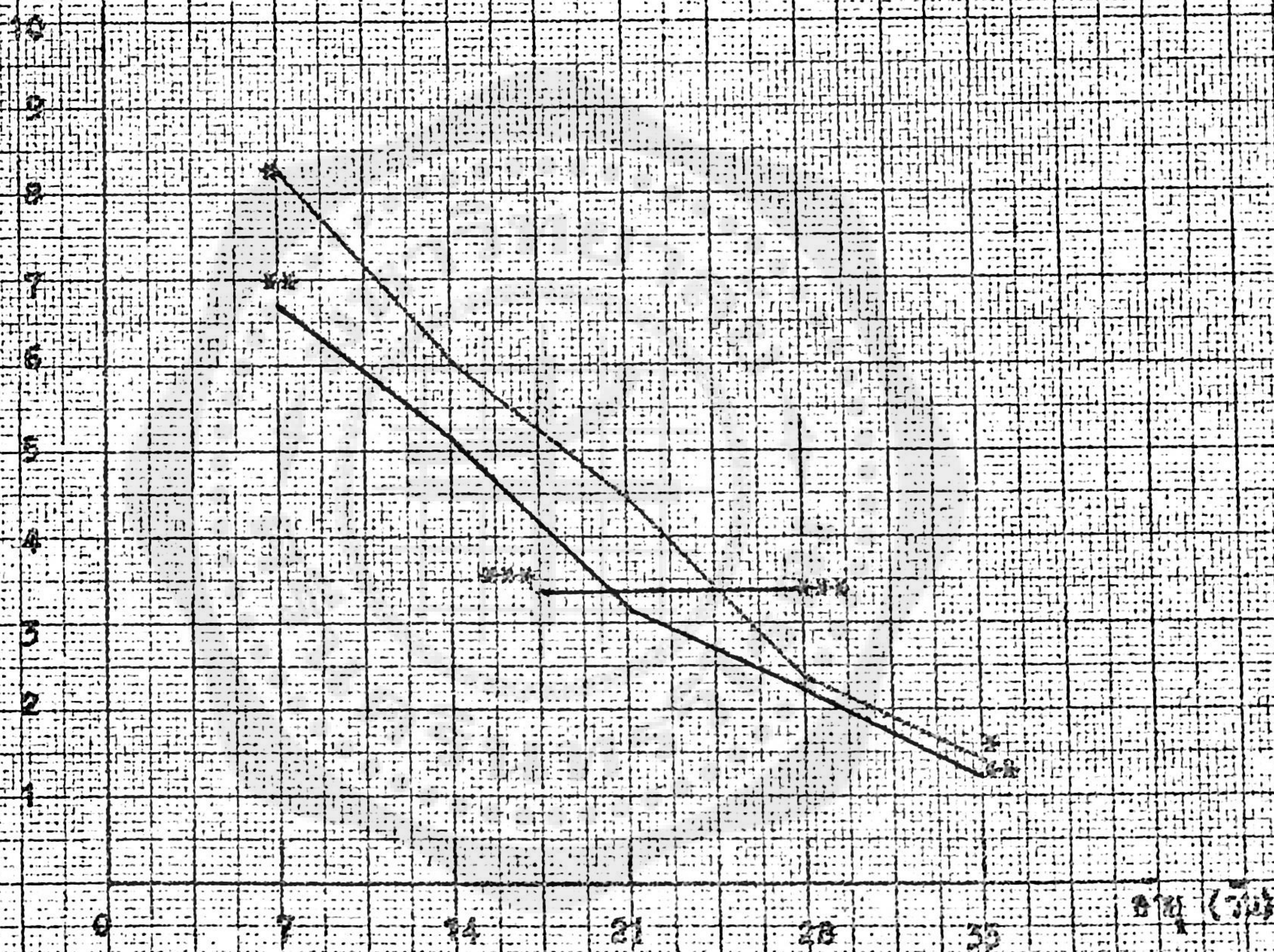
* ប្រភេទ *C. angustifolia*

** ប្រភេទ *C. angustifolia*

DM 12 DM 12 Samaras International C. monticola

DM 12 C. monticola

% Samaras



* International C. monticola

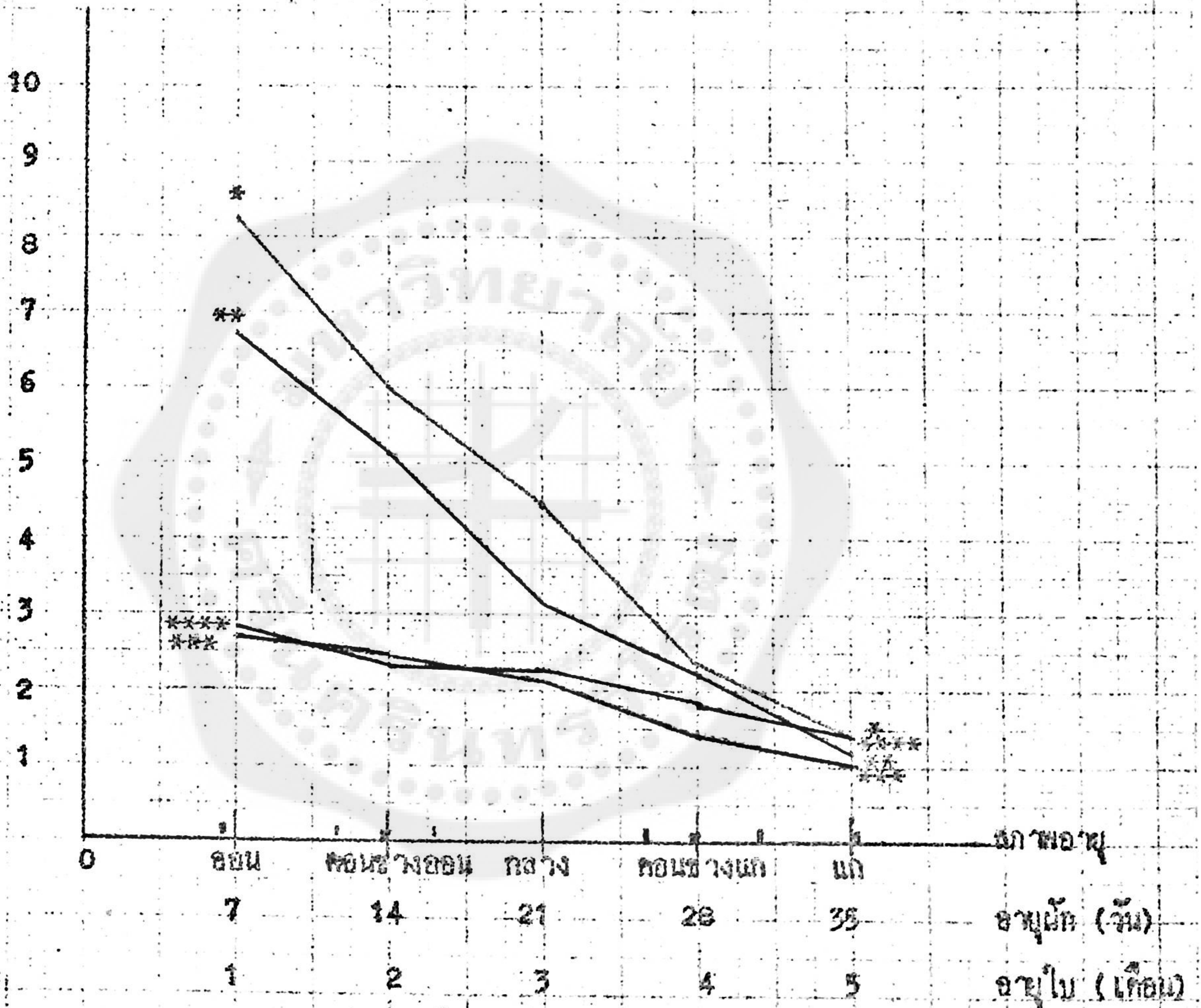
--- International C. monticola

--- International (International C. monticola)

ภาพ 13 ปริมาณไขมันในพืช Sonchiales ในใบและรากพืช

พืช *C. acutifolia* และพืช *C. acutifolia*

% Sonchiales



- * ปริมาณไขมันในใบ *C. acutifolia*
- ** ปริมาณไขมันในราก *C. acutifolia*
- *** ปริมาณไขมันในใบ *C. acutifolia*
- **** ปริมาณไขมันในราก *C. acutifolia*

5. การเปรียบเทียบปริมาณ sennosides รวม

5.1 พันธุ์เดียวกัน

5.1.1 ใบอายุต่างกัน

5.1.1.1 ใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia

จากตาราง 8 ปรากฏว่า ใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia อายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมเฉลี่ย 2.720, 2.458, 2.140, 1.435 และ 1.078 ตามลำดับ แสดงว่าใบมะขามแขกอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบมะขามแขกแก่

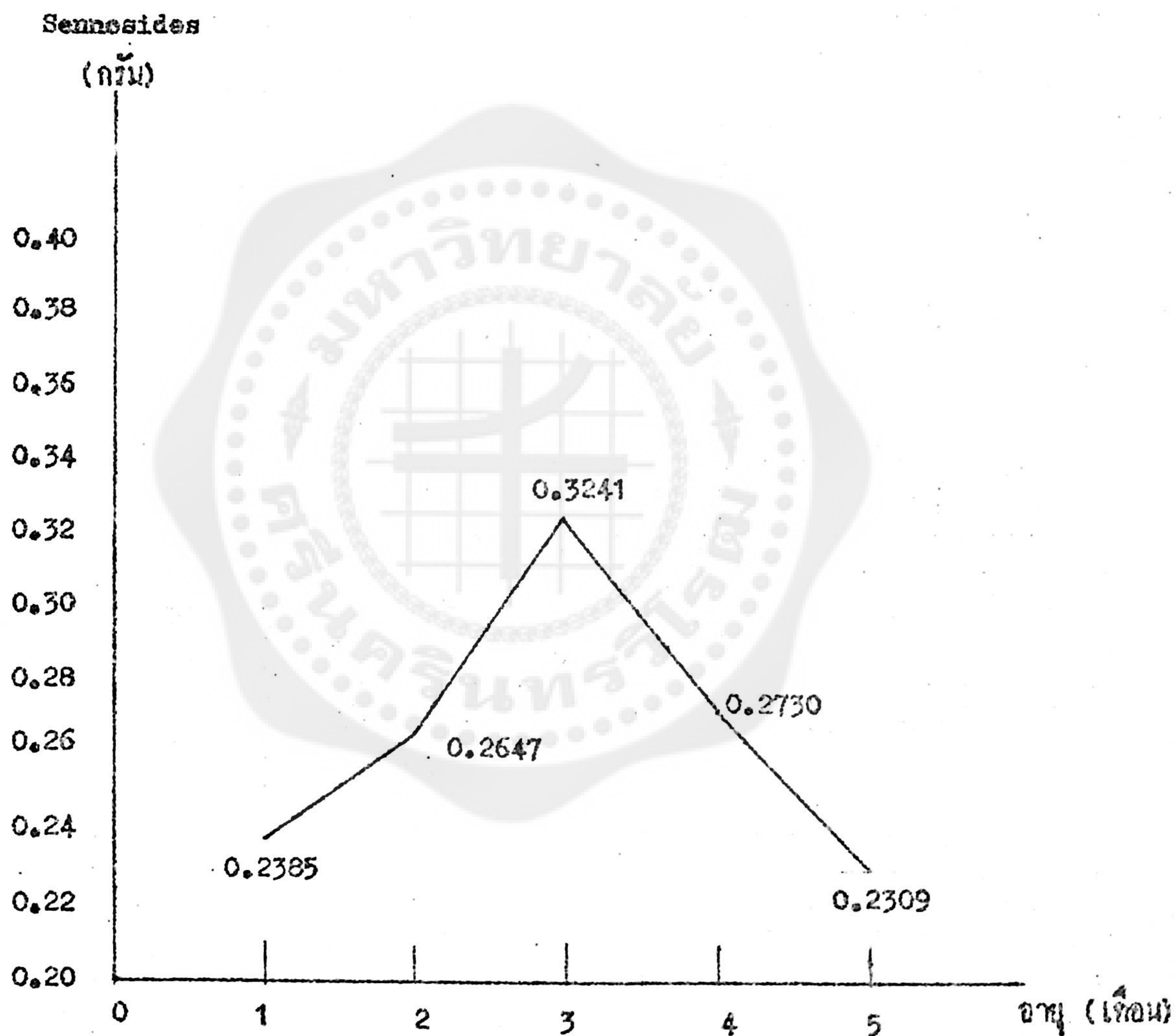
และจากตาราง 4 ปรากฏว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia อายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน มีน้ำหนักใบแห้ง 8.7702, 10.7705, 15.1487, 19.0299 และ 21.4273 กรัมต่อ 50 ใบรวมตามลำดับ แสดงว่าใบมะขามแขกแก่ มีน้ำหนักมากกว่าใบอ่อน เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมของใบมะขามแขก พันธุ์ C. angustifolia มาหาปริมาณของ sennosides รวมในใบมะขามแขก 50 ใบรวม เมื่ออายุต่าง ๆ กัน จะปรากฏดังตาราง 11

ตาราง 11 ปริมาณ sennosides รวมในใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia
อายุต่าง ๆ กันใน 50 ใบรวม

อายุของใบ (เดือน)	น.น.ใบ ใน 50 ใบรวม (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ sen - รวม	ปริมาณ sen. รวม ใน 50 ใบรวม (กรัม)	หมายเหตุ
1	8.7702	2.720	0.2385	
2	10.7705	2.458	0.2647	
3	15.1487	2.140	0.3241	
4	19.0299	1.435	0.2730	
5	21.4273	1.078	0.2309	

จากตาราง 11 แสดงว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia อายุ 3 เดือน
จะให้ปริมาณ sennosides รวมสูงสุด และลดลงไปในเดือนที่ 4, 2, 1 และ 5 ตาม
ลำดับ ถึงภาพ 14 และ 18

ภาพ 14 ปริมาณ Sennosides รวม ในใบมะระขี้นก *C. angustifolia*
เมื่อสกัดด้วยน้ำใน 50 ใบรวม



5.1.1.2 ใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia

จากตาราง 8 ปรากฏว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia อายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมเฉลี่ย 2.833, 2.340, 2.296, 1.864 และ 1.401 ตามลำดับ แสดงว่าใบมะขามแขกอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมสูงกว่าใบมะขามแขกแก่

และจากตาราง 5 ปรากฏว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia อายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน มีน้ำหนัก 8.1024, 11.7833, 16.5256, 20.1214 และ 21.8420 กรัมต่อ 50 ใบรวมตามลำดับ แสดงว่าใบมะขามแขกแก่น้ำหนักมากกว่าใบอ่อน

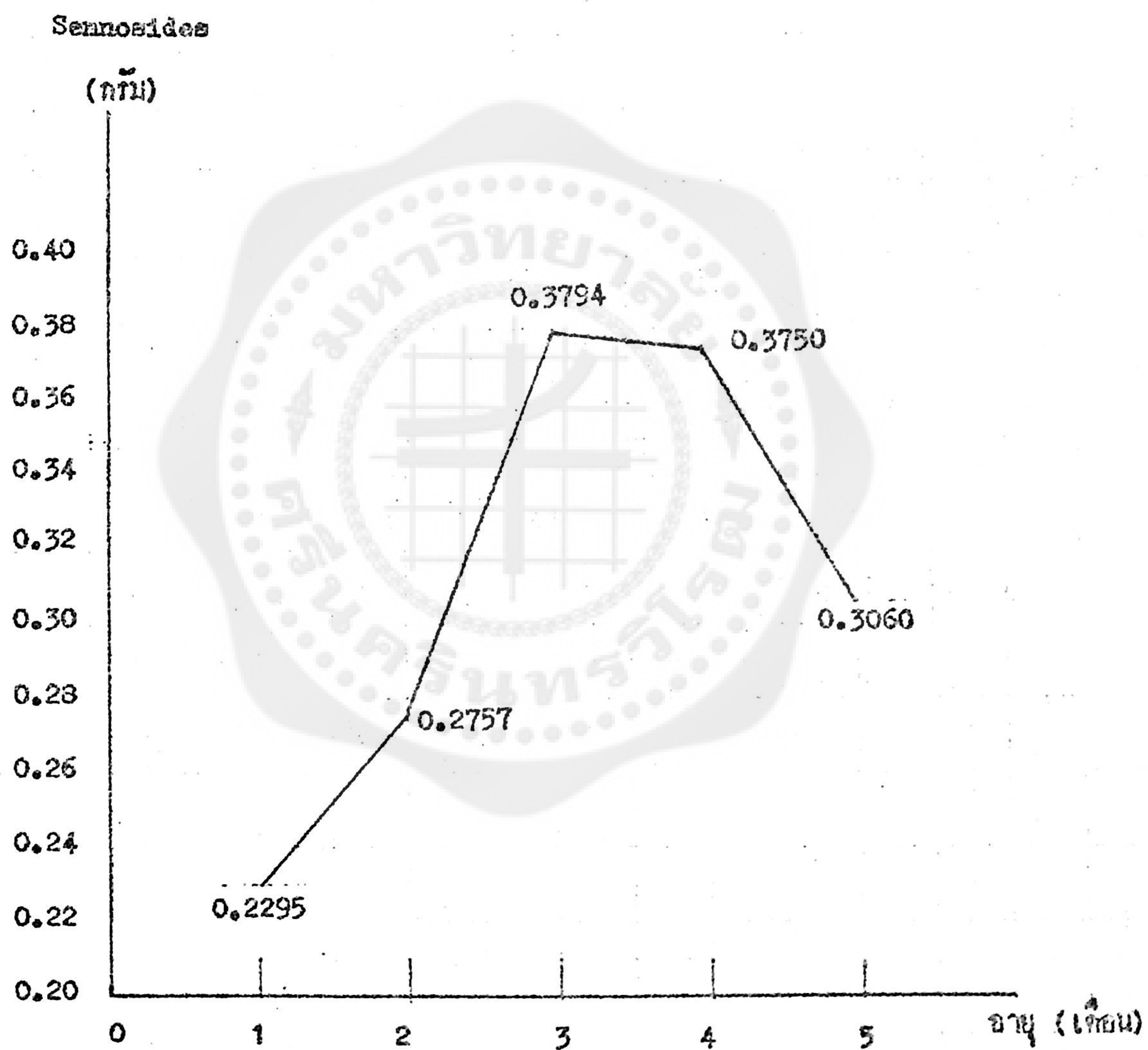
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมของใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มาหาปริมาณของ sennosides รวมในใบมะขามแขก 50 ใบรวม เมื่ออายุต่าง ๆ กัน จะปรากฏผลดังตาราง 12

ตาราง 12 ปริมาณ sennosides รวม ในใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia
อายุต่าง ๆ กันใน 50 ใบรวม

อายุของใบ (เดือน)	น.น.ใบใน 50 ใบรวม (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ sen. รวม	ปริมาณ sen. รวม ใน 50 ใบรวม (กรัม)	หมายเหตุ
1	8.1024	2.833	0.2295	
2	11.7833	2.340	0.2757	
3	16.5256	2.296	0.3794	
4	20.1214	1.864	0.3750	
5	21.8420	1.401	0.3060	

จากตาราง 12 แสดงว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia อายุ 3 เดือน
ให้ปริมาณ sennosides รวม สูงสุด และลดลงในเดือนที่ 4, 5, 2 และ 1 ตามลำดับ
ถึงภาพ 15 และ 18

ภาพ 15 ปริมาณ Sennosides รวม ในใบมะขามเทศพันธุ์ *C. acutifolia*
เมื่ออายุต่างกันใน 50 ใบรวม



5.1.2 ผักอายุต่าง ๆ

5.1.2.1 ผักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia

จากตาราง 8 ปรากฏว่าผักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia อายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม เฉลี่ย 8.263, 6.062, 4.494, 2.374 และ 1.404 ตามลำดับ แสดงว่าผักมะขามแขกอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมสูงกว่าผักมะขามแขกแก่

และจากตาราง 6 ปรากฏว่าผักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia อายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน มีน้ำหนักผักแห้ง 2.8550, 6.8485, 10.5205, 14.6145 และ 19.9347 กรัมต่อ 100 ผัก ตามลำดับ แสดงว่าผักมะขามแขกแก่มีน้ำหนักมากกว่าผักมะขามแขกอ่อน

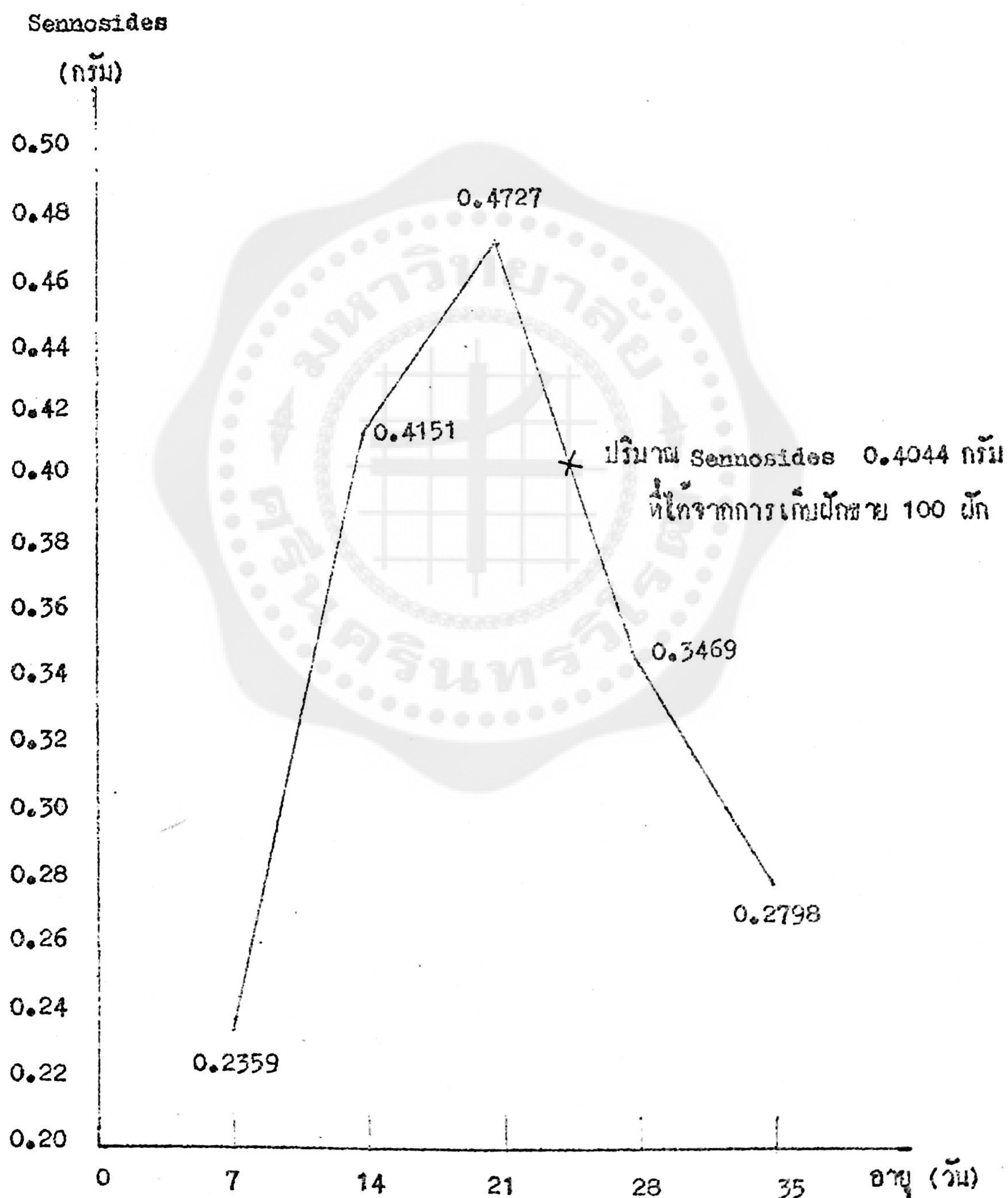
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม มาหาปริมาณของ sennosides รวม ใน 100 ผัก เมื่อมีอายุต่าง ๆ กัน จะปรากฏผลดังตาราง 13

ตาราง 13 ปริมาณ sennosides รวม ในฝักมะขามแขก
พันธุ์ C. angustifolia อายุต่าง ๆ กันใน 100 ฝัก

อายุของฝัก (วัน)	น.น.ฝัก 100 ฝัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ sen. รวม	ปริมาณ sen. รวม ใน 100 ฝัก (กรัม)	หมายเหตุ
7	2.8550	8.263	0.2359	
14	6.8485	6.062	0.4151	
21	10.5205	4.494	0.4727	
28	14.6145	2.374	0.3469	
35	19.9347	1.404	0.2798	

จากตารางแสดงว่าฝักมะขามแขกอายุ 21 วัน (ฝักขนาดกลาง) ให้ปริมาณ sennosides สูงสุด รองลงไปเป็น 14, 28, 35 และ 7 วัน ตามลำดับ ถึงภาพ 16 และ 18

ภาพ 16 ปริมาณ Sennosides รวม ในผักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia
เมื่อมีอายุต่างกันใน 100 ปี



5.1.2.2 ฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia

จากตาราง 8 ปรากฏว่าฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia อายุ 7, 14, 21, 25 และ 35 วัน มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม โดย 6.724, 5.175 3.186, 2.249 และ 1.218 ตามลำดับ แสดงว่าฝักอ่อนของฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม สูงกว่าฝักแก่

และจากตาราง 7 ปรากฏว่าฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia อายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน มีน้ำหนัก 2.2560, 6.4748, 11.1114, 15.2916 และ 20.5420 กรัมต่อ 100 ฟัก ตามลำดับ แสดงว่าฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia ฝักแก่หนักกว่าฝักอ่อน

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม มาหาปริมาณของ sennosides รวมในฝักรวมแตกพันธุ์ C. acutifolia 100 ฟัก เมื่ออายุต่าง ๆ กัน จะปรากฏดังในตาราง 14

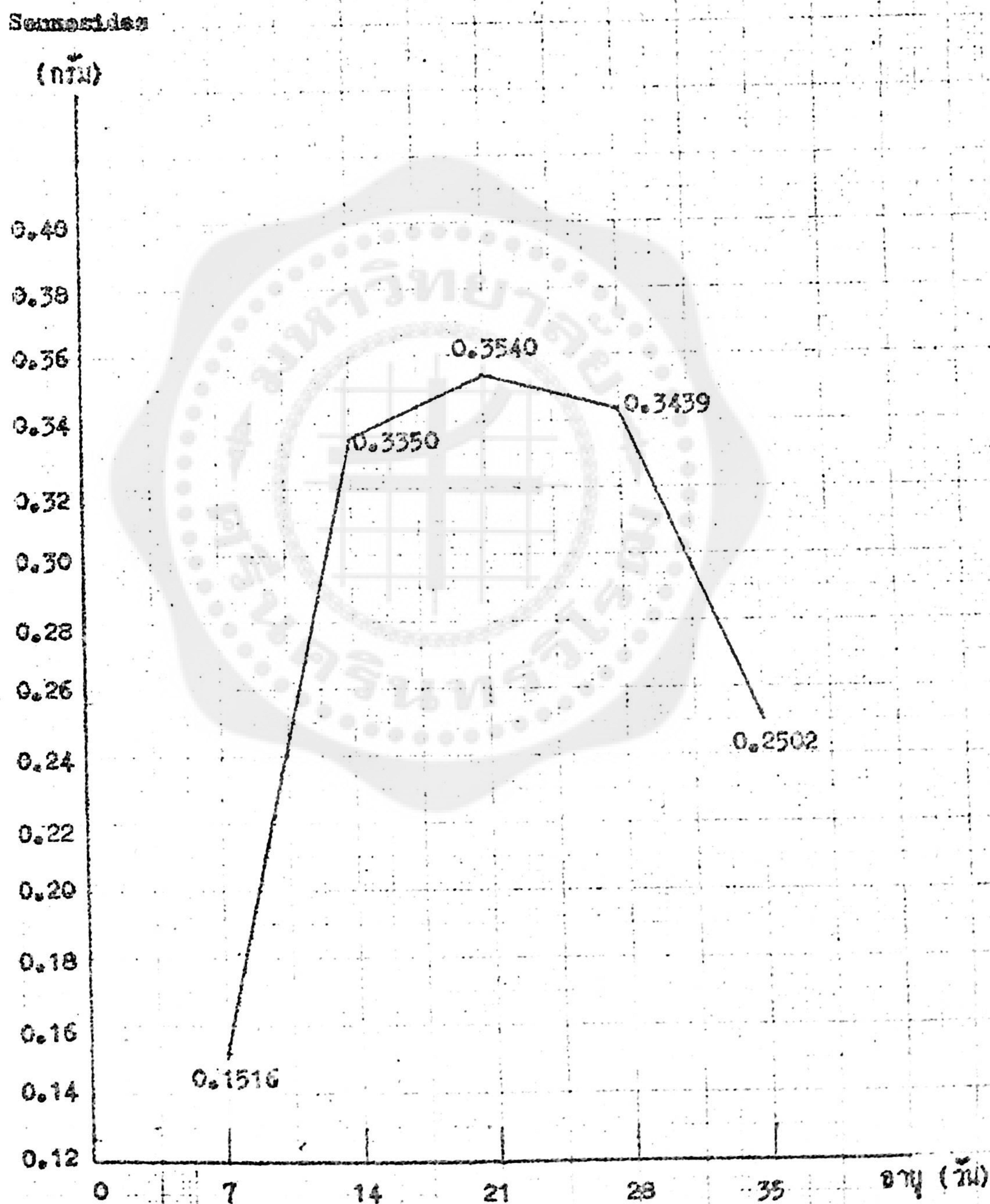
ตาราง 14 ปริมาณ sennosides รวมในฝักราชบาดาล

พันธุ์ C. acutifolia อายุต่าง ๆ ตัดใน 100 ฝัก

อายุของฝัก (วัน)	น.น.ฝัก 100 ฝัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ sen. รวม	ปริมาณ sen. รวม ใน 100 ฝัก(กรัม)	หมายเหตุ
7	2.2560	6.724	0.1516	
14	6.4748	5.175	0.3350	
21	11.1114	3.186	0.3540	
28	15.2916	2.249	0.3439	
35	20.5420	1.218	0.2502	

จากตาราง แสดงว่าฝักราชบาดาลอายุ 21 วัน (ฝักขนาดกลาง) ให้ปริมาณ sennosides สูงสุด รองลงไปเป็น 28, 14, 35 และ 7 วัน ตามลำดับ ถึงภาพ 17 และ 18

ภาพ 17 ปริมาณ Sennosides รวม ในพืชกระชายเทศพันธุ์ *C. acutifolia*
เมื่อมีอายุต่างกัน ใน 100 มิลลิกรัม



จากภาพ 18 แสดงว่าใบ 50 ใบรวมเมื่อมีอายุต่าง ๆ กัน มีปริมาณ sennosides รวม สูงกว่าพันธุ์ C. angustifolia ในขณะที่ 1 ที่ให้ปริมาณ sennosides ต่ำกว่า และอีก 100 ปีกของมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia ให้ปริมาณ sennosides สูงกว่าพันธุ์ C. acutifolia เมื่อมีอายุเท่ากัน

5.1.3 ระหว่างใบและฝัก

5.1.3.1 ระหว่างใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia

จากตาราง 8 ปรากฏว่า sennosides รวมของมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia ในฝักสูงกว่าใบ เพื่อหาความเชื่อมั่นของความแตกต่างดังกล่าว จึงทดสอบโดยใช้สถิติ t-test ดังนี้

ตาราง 15 ข้อมูลการหาความเชื่อมั่นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ใบใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia

สภาพใบ และฝัก	เปอร์เซ็นต์ sen. รวมใน		$D = x - y$	D^2	หมายเหตุ
	ฝัก (x)	ใบ (y)			
อ่อน	8.263	2.720	5.543	30.721849	
กึ่งอ่อนกึ่งอ่อน	6.062	2.458	3.604	12.988816	
ขนาดกลาง	4.494	2.140	2.354	5.541316	
กึ่งแก่	2.374	1.435	0.939	0.881721	
แก่	1.404	1.078	0.326	0.106276	
รวม			12.766	50.24278	

$$t = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

$$\bar{D} = \frac{12.766}{5} = 2.5532$$

$$S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{5 \times 50.242978 - (12.766)^2}{5(5-1)}}$$

$$= \sqrt{4.412207}$$

$$\therefore S_D = 2.100525$$

$$S_D^* = \frac{S_D}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{2.100525}{\sqrt{5}}$$

$$= \frac{2.100525}{2.2361}$$

$$S_D^* = 0.9393698$$

$$t = \frac{\bar{D}}{S_D^*}$$

$$= \frac{2.5532}{0.9393698}$$

$$\therefore t = 2.7179924$$

จากตาราง t $d_f = 5 - 1 = 4$, $\alpha = 0.05$ (one-tailed) มีค่า
 2.132 แสดงว่า C. angustifolia มีสาร sennosides รวมสูงกว่า
 ใน C. angustifolia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (เชื่อมั่นได้
 95 %)

5.1.3.2 ระหว่างใบและลำต้นของพืช *C. acutifolia*

จากการวาง 8 ปรากฏว่า sennosides รวมของมณฑล
พืช *C. acutifolia* ใบมีสูงกว่าใบ เพื่อหาความเชื่อมั่นของความแตกต่างดังกล่าว จึง
ทดสอบโดยใช้วิธี t-test ดังนี้

ตาราง 16 ข้อมูลการหาความเชื่อมั่นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides
รวม ใบใบและลำต้นของพืช *C. acutifolia*

สภาพใบ และลำ	เปอร์เซ็นต์ sen. รวมใน		D = x - y	D ²	หมายเหตุ
	ต้น (x)	ใบ (y)			
ต้น	6.724	2.833	-0.183	0.033489	
ต้นข้างต้น	5.175	2.340	0.385	0.148225	
ต้นกลาง	3.186	2.296	0.890	0.792100	
ต้นข้างล่าง	2.249	1.864	2.835	8.037225	
ล่าง	1.218	1.401	3.891	15.139881	
รวม			7.818	24.15092	

$$t = \frac{\bar{D}}{S_D}$$

$$\bar{D} = \frac{7.818}{5} = 1.5636$$

$$S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{5 \times 24.15092 - (7.818)^2}{5(5-1)}}$$

$$= \sqrt{2.981674}$$

$$\therefore S_D = 1.72675$$

$$S_{\bar{D}} = \frac{S_D}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{1.72675}{\sqrt{5}}$$

$$S_{\bar{D}} = 0.772215$$

$$t = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

$$= \frac{1.5636}{0.772215}$$

$$\therefore t = 2.0248246$$

จากการหา t $df = 4$, $\alpha = 0.05$ (one-tailed) มีค่า 2.132 แสดงว่า
เปอร์เซ็นต์ sennosides รวม ของมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia ในผักสุกกว่าในใบ
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

5.2 เปรียบเทียบ

5.2.1 ใบพืชต่างกัน

จากการาง 8 ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมในใบมะขามเทศพันธุ์ C. acutifolia สูงกว่าใบมะขามเทศพันธุ์ C. angustifolia เพื่อหาความเชื่อมั่นของความแตกต่างดังกล่าว จึงทดสอบโดยใช้สถิติ t - test ดังนี้

ตาราง 17 ข้อมูลการหาความเชื่อมั่นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ sennosides รวมระหว่างใบมะขามเทศพันธุ์ C. acutifolia และพันธุ์ C. angustifolia

สภาพใบ	เปอร์เซ็นต์ sen. รวมในใบ มะขามเทศพันธุ์		$D = x - y$	D^2	หมายเหตุ
	<u>C. acut.</u> (x)	<u>C. ang.</u> (y)			
ยอด	2.633	2.720	0.113	0.012769	
โคนหางยอด	2.340	2.458	-0.118	0.013924	
ขนากกลาง	2.256	2.140	0.156	0.024336	
โคนหางแก	1.864	1.435	0.429	0.184041	
แก	1.401	1.078	0.323	0.104329	
รวม			0.903	0.339399	

$$\text{สูตร } t = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

$$\bar{D} = \frac{0.903}{5} = 0.1806$$

$$S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{5 \times 0.339399 - (0.903)^2}{5(5-1)}}$$

$$= \sqrt{0.0440793}$$

$$\therefore S_D = 0.2099$$

$$S_{\bar{D}} = \frac{S_D}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0.2099}{\sqrt{5}}$$

$$\therefore S_{\bar{D}} = 0.0938687$$

$$t = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

$$= \frac{0.1806}{0.0938687}$$

$$\therefore t = 1.9239988$$

จากการหา t $df = 4$, $\alpha = 0.05$ (one-tailed) มีค่า 2.132
 แสดงว่า เปอร์เซ็นต์ sennosides รวมในใบมะขามเทศพันธุ์ C. acutifolia
 สูงกว่าใบมะขามเทศพันธุ์ C. angustifolia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ
 ความเชื่อมั่น 0.05

$$\bar{D} = \frac{4.045}{5} = 0.809$$

$$S_D = \sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{5 \times 4.916375 - (4.045)^2}{5(5-1)}}$$

$$= \sqrt{0.4189925}$$

$$\therefore S_D = 0.647296$$

$$S_D^- = \frac{S_D}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0.647296}{\sqrt{5}}$$

$$\therefore S_D^- = 0.2894754$$

$$t = \frac{\bar{D}}{S_D^-}$$

$$= \frac{0.809}{0.2894754}$$

$$\therefore t = 2.794107$$

จากการทวน t $d_f = 4$, $\alpha = 0.05$ (one-tailed) มีค่า 2.132
แสดงว่า C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม สูงกว่า
C. acutifolia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

6. จุดหลอมเหลวของ sennoside A และ B

จากการหาจุดหลอมเหลวของ sennoside A และ B ของ Stoll, Becker, Kussmaul ซึ่งรวบรวมไว้ในหนังสือ The Merck Index มีดังนี้

sennoside A : สลายตัวที่อุณหภูมิ $200 - 240^{\circ}\text{C}$

sennoside B : สลายตัวที่อุณหภูมิ $180 - 186^{\circ}\text{C}$

(The Merck Index, 1960 : 931)

จากการหาจุดหลอมเหลวของ Reference samples of sennoside A และ B ตัวอย่างละ 3 ครั้ง ปรากฏผลดังนี้

sennoside A : สลายตัวที่อุณหภูมิ $204 - 210^{\circ}\text{C}$, $204 - 209^{\circ}\text{C}$
และ $207 - 209^{\circ}\text{C}$

sennoside B : สลายตัวที่อุณหภูมิ $184 - 188^{\circ}\text{C}$, $184 - 189^{\circ}\text{C}$
และ $184 - 187^{\circ}\text{C}$

ผลจากการสลายตัวของ sennoside A และ B จะไหม้หรือของแข็งสีดำ ๆ อยู่

จากจุดหลอมเหลวของ sennoside A และ B ของ Reference samples แสดงว่า sennoside A และ B สามารถจะใช้อ้างอิงเป็นมาตรฐานได้ แม้ว่า sennoside B จะสลายตัวสูงกว่าอุณหภูมิเล็กน้อยก็ตาม (อาจเกิดจากการหลอมหรือเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ทดลองก็ได้)

7. Standard curve ของ sennoside A และ B

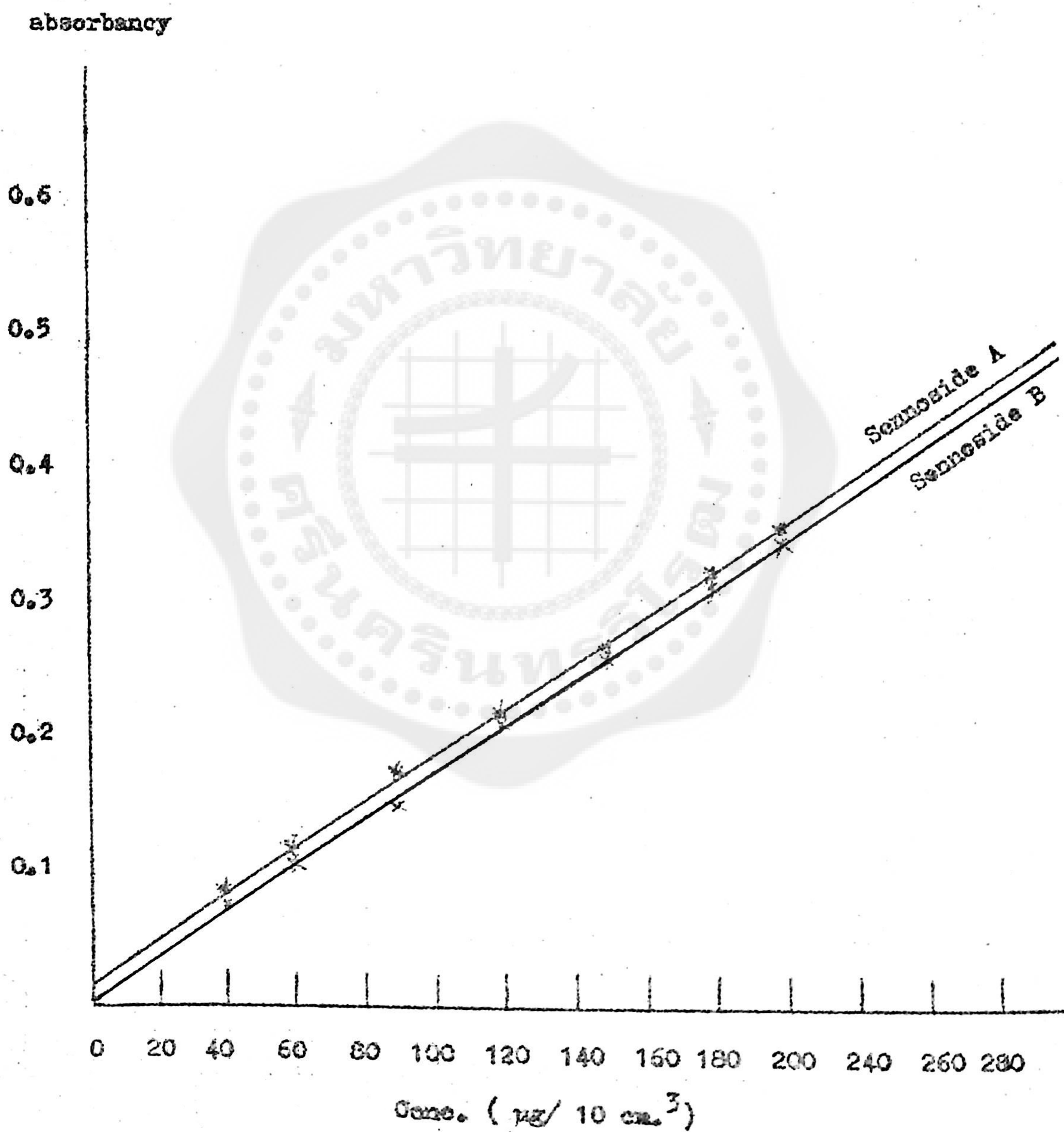
Absorbancy ของ Reference samples ของ sennoside A และ B ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ วัดที่ความยาวคลื่น 270 nm . ปรากฏดังตาราง 19

ตาราง 19 absorbancy ของ sennoside A และ B ที่ 270 nm.

ความเข้มข้น $\mu\text{g}/10\text{ cm}^3$	absorbancy ของ sennoside								หมายเหตุ
	sen. A วัดครั้งที่				sen. B วัดครั้งที่				
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	
40	0.081	0.087	0.088	0.085	0.076	0.077	0.071	0.075	
60	0.114	0.117	0.114	0.115	0.110	0.108	0.098	0.105	
90	0.172	0.178	0.176	0.175	0.147	0.149	0.143	0.146	
120	0.212	0.219	0.215	0.215	0.212	0.208	0.212	0.210	
150	0.255	0.263	0.263	0.260	0.255	0.257	0.258	0.256	
180	0.317	0.324	0.320	0.320	0.312	0.313	0.306	0.310	
200	0.340	0.360	0.350	0.350	0.340	0.346	0.340	0.342	

จากตารางข้างบน นำความเข้มข้น ($\mu\text{g}/10\text{ cm}^3$) ไป plot graph กับ absorbancy ของ sennoside A และ B เพื่อใช้เป็น standard curves จะปรากฏดังภาพ 19

ภาพ 19 Standard curves of sennoside A and B
at wavelength 270 nm.

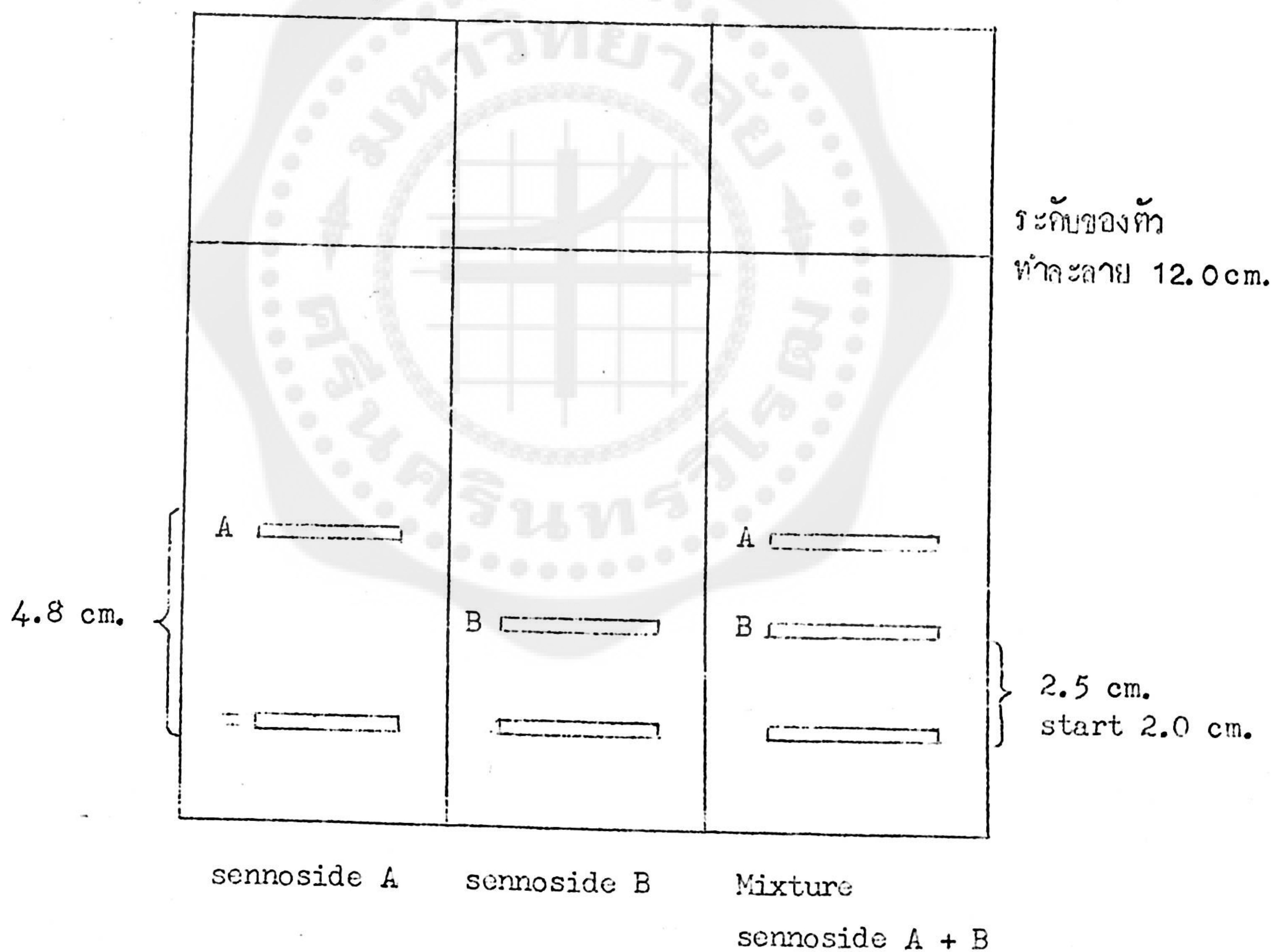


8. ปริมาณ TLC recovery ของ sennoside A และ B

8.1 การ Rf ของ sennoside A และ B

จาก pilot plate เมื่อ Run TLC และพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH ปริมาณ 20

ภาพ 20 แสดงของ sennoside A และ B เมื่อแยกด้วย TLC



การ Rf ของ sennoside A และ B ปริมาณ 20

ตาราง 20 ค่า Rf ของ sennoside A และ B เมื่อระดับของ
ตัวทำละลายสูง 12.0 cm.

Plate	sennoside				หมายเหตุ
	A		B		
	สูง (cm.)	Rf	สูง (cm.)	Rf	
1	4.5	0.37	2.7	0.22	
2	4.6	0.36	2.2	0.18	
3	5.0	0.41	2.5	0.20	
4	4.5	0.37	2.1	0.17	
5	5.0	0.41	2.2	0.16	
6	5.2	0.43	2.5	0.20	
7	5.5	0.45	3.0	0.25	
8	5.0	0.41	3.0	0.25	
9	4.5	0.37	2.3	0.19	
เฉลี่ย	4.86	0.40	2.5	0.20	

จากรายงานของ Soad M. Khafagy และคณะ ปรากฏว่า Rf ของ sennoside A เท่ากับ 0.35 ของ sennoside B เท่ากับ 0.22 แต่จากการทดลองปรากฏว่า Rf เฉลี่ยของ sennoside A เท่ากับ 0.40 ซึ่งสูงกว่า เฉลี่ยของ sennoside B เท่ากับ 0.20 ซึ่งต่ำกว่า แต่จากการหาค่า Rf แต่ละ plate จะเห็นว่า sennoside A มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.37 - 0.45 ซึ่งจะเห็นว่าบาง plate สูงกว่า จากรายงานดังกล่าวเพียงเล็กน้อย แต่ค่า Rf ของ sennoside B อยู่ระหว่าง 0.18 - 0.25 ซึ่งจะเห็นว่าค่าใกล้เคียงกับค่า 0.22 ของรายงาน การที่ Rf กลางเคลื่อนไปอาจจะเนื่องมาจาก

อุณหภูมิของการทดลองที่ทดลอง ณ อุณหภูมิห้องเฉย 25°C (ปรับอากาศ) แต่ Soad M. Khafagy ทดลอง ณ อุณหภูมิ 20°C นอกจากนั้นความถ่วงเคลื่อนของ R_f อาจมาจากเทคนิคการทดลองเฉพาะบุคคลที่แตกต่างกัน

แถบสีของ sennoside A และ B กับพบด้วย 10 % methanolic NaOH จะปรากฏสีเหลืองจาง ๆ เมื่อพบแล้วจะปรากฏสีเหลืองเข้มมาก แต่อาจค่อย ๆ ไล่ขาวได้ก็ประมาณ 10 นาที จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลคล้ำ หลังจากนั้นจะเริ่มจางลง ๆ

8.2 เปอร์เซ็นต์ recovery ของ sennoside A และ B

จากการนำ sennoside A และ B ไปผ่าน TLC ขูด ล้างด้วย 70 % methanol แล้ววัด absorbancy ที่ 270 nm. นำมา absorbancy ที่วัดได้ไปหาเปอร์เซ็นต์ recovery ของ sennoside A และ B จาก standard curve ของ sennoside A และ B ผลการทดลองปรากฏดังตาราง 21

ตาราง 21 เปอร์เซ็นต์ recovery ของ semmoside A และ B

senno- side	ปริมาณ สาร ที่ใส่ (µg)	plate ที่									% recovery โดย เฉลี่ย	หมายเหตุ
		1			2			3				
		abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% recov- ery	abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% recov.	abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% recov.		
A	60	0.100	51	85.00	.105	54	90.00	0.11	57	95.0	90.00	
	120	0.205	114	95.00	0.210	116	96.66	0.20	110	91.66	94.44	
	180	0.310	175	97.22	0.290	164	91.11	0.33	187	103.88	97.40	
โดย เฉลี่ย											93.94	
B	60	0.090	51	85.00	0.100	57	95.00	0.11	62	101.63	93.87	
	120	0.200	116	96.66	0.220	128	106.66	0.19	110	91.66	98.32	
	180	0.310	181	100.55	0.300	170	94.44	0.305	178	98.88	97.95	
โดย เฉลี่ย											96.71	

จากการทดลองจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ recovery ของ semmoside B สูงกว่าเปอร์เซ็นต์ recovery ของ semmoside A อาจเป็นเพราะว่าค่า Rf ของ semmoside B มากกว่าของ A โอกาสที่จะมีผลจากสิ่งเจือปนน้อยกว่า semmoside A

9. ปริมาณ sennoside A และ B ในใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia*
และพันธุ์ *C. acutifolia*

จากการแยกหาปริมาณของ sennoside A และ B ของตัวอย่างมะขามแขก 20 ตัวอย่าง ด้วย TLC ใช้อา Silica gel G. ที่สาร (Control ด้วย standard sennoside A และ B) ละลาย 70 % methanol และวัด absorbancy ที่ 270 nm. นำ absorbancy ที่วัดได้ไปเทียบกับปริมาณ sennoside A และ B จาก standard curve ของ sennoside A และ B แล้วนำไปหาเปอร์เซ็นต์ sennoside A และ B ในตัวอย่าง ผลการทดลองปรากฏดังในภาพ 21, 22 และ ตาราง 22

ภาพ 21 แถบของ TLC plate ที่แยกจากสารที่สกัดจากใบและฝักมะขามแขก

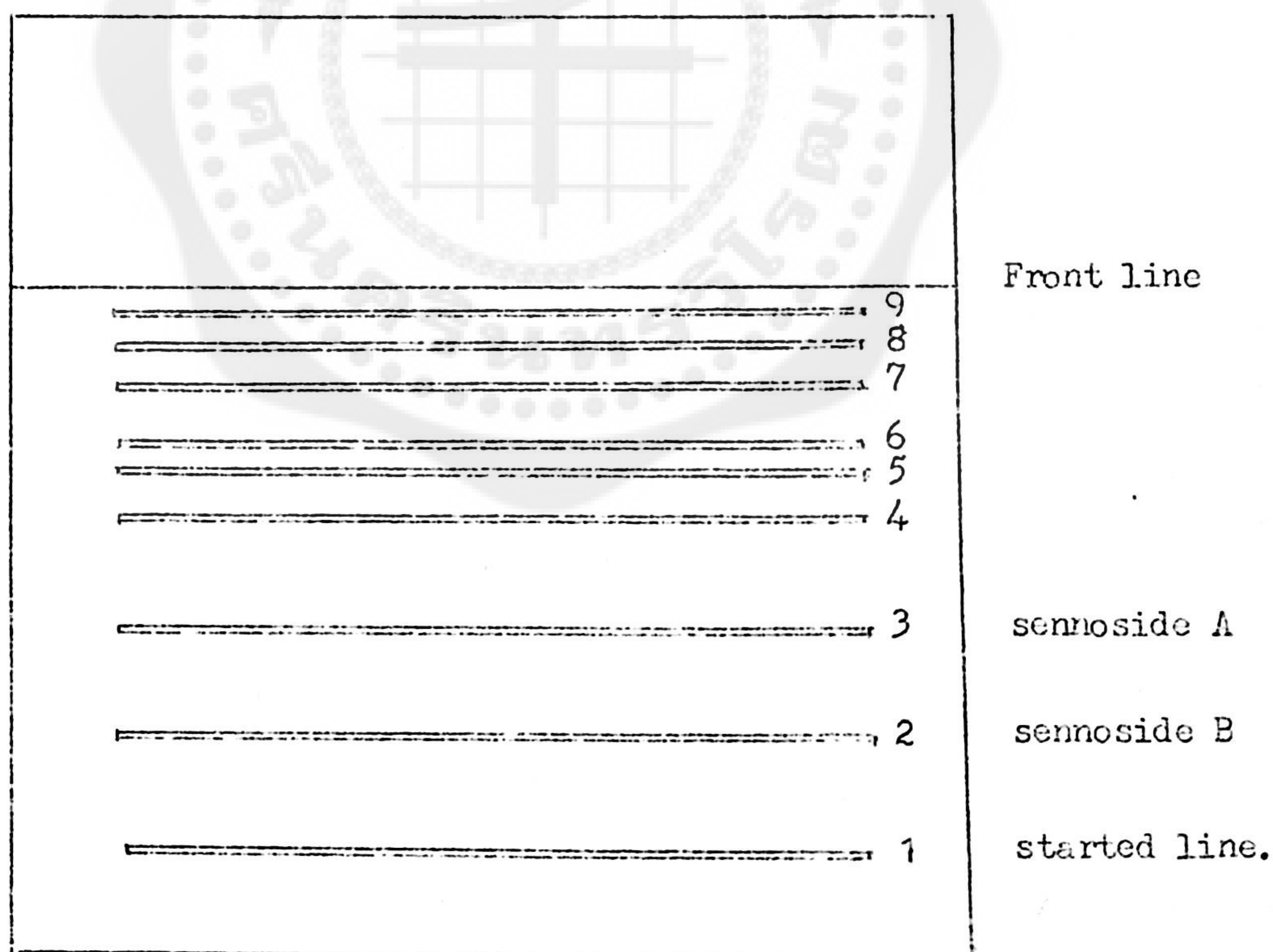


Plate ขนาด 20 x 20 cm.²

แถบสารที่ปรากฏใน TLC plates ที่แยกจากสารที่สกัดจากใบและฝักมะขามแขก โดยใช้ Silica gel G. ตาม plates ใช้ iso - propanol : ethyl acetate : water ในอัตราส่วน 9 : 9 : 7 ตามลำดับเป็น developing solvent ใช้เวลาทำการละลายขึ้นไปสูง 12 cm. ซึ่งต้องใช้เวลาเฉลี่ยประมาณ 1.35 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีสารแยกออกมา 9 แถบ พอสรุปได้ดังนี้

แถบที่ 1 เป็น base line ที่ Rf เท่ากับ 0 (ศูนย์) ก่อนพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH มีสีน้ำตาลดำ หลังจากสีไม่เปลี่ยน ทั้ง plates ใช้ประมาณ 20 นาที สียังคงเดิม

แถบที่ 2 เป็น sennoside B ที่ Rf เฉลี่ย 0.20 ก่อนพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH มีสีเหลืองจาง ๆ หลังพัฒนาสีเหลืองปรากฏชัดเจน ทั้ง plate ใช้ประมาณ 20 นาที จะปรากฏเป็นสีเหลืองคล้ำและจางไป

แถบที่ 3 เป็น sennoside A ที่ Rf เฉลี่ย 0.40 สีปรากฏชัดเจนเหมือนกับแถบที่ 2 ต่างกันเล็กน้อยที่แถบที่ 3 สีเหลืองเข้มกว่าแถบที่ 2

แถบที่ 4 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.60 มีสีน้ำตาลเหลือง ก่อนและหลังพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH สีน้ำตาลเหลืองยังคงเดิม เมื่อใช้ plates ทั้งใช้ประมาณ 20 นาที สีจะจางขึ้น แต่แถบสีจะจางลง

แถบที่ 5 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.69 สีปรากฏชัดเจนเหมือนกับแถบที่ 2 แต่สีเหลืองจะเข้มกว่าและระลอกน้ำตาลเล็กน้อย หลังพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH ทั้งใช้สีจางชัดกว่าแถบที่ 2 มาก

แถบที่ 6 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.73 ก่อนพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH มีสีม่วงแดง หลังพัฒนาสีจะปรากฏขึ้น ทั้งใช้ประมาณ 20 นาที สีจะจางลง

แถบที่ 7 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.83 ก่อนพัฒนาด้วย 10 % methanolic NaOH จะปรากฏสีเหลือง หลังพัฒนาด้วยสีจางขึ้นทั้งใช้สีเหลืองจางชัดมาก แถบสีแยกจากใบเห็นชัดกว่าฝักมาก

แถบที่ 8 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.93 สีสปรากฏผ่านของ
 เกี่ยวกับการแถบที่ 4

แถบที่ 9 เป็น unknown substance ที่ Rf เฉลี่ย 0.97 สีสปรากฏผ่านของ
 เกี่ยวกับการแถบที่ 4

จากการวัดความยาวคลื่นในการ absorb UV. light แถบที่ 5 และแถบที่ 7
 น่าจะเป็น sennoside C และ D ตามลำดับ เพราะ absorb ที่ 270 nm. เท่ากับ
 การทดลองของ Saad M. Khafagy และคณะ และ Rf ก็ใกล้เคียงกับการทดลอง
 ดังกล่าว คือ 0.67 (ผู้วิจัยทดลองได้ 0.69) และ 0.77 (ผู้วิจัยทดลองได้ 0.63) แต่
 ไม่มี standard sennoside C และ D เป็น Reference samples จึงยืนยันแน่นอน
 ไม่ได้

ตาราง 22 เปอร์เซ็นต์ sennoside A และ B ในใบและก้านมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia*
และพันธุ์ *C. acutifolia*

ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ครั้งที่	sennoside A				sennoside B				เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (μ g)	% สาร	% สาร เฉลี่ย	abs.	ปริมาณ สาร (μ g)	% สาร	% สาร เฉลี่ย		
พันธุ์ <i>C. ang.</i> ใบอายุ 1 เดือน	1	.255	142	1.42		.103	59	0.59			สารที่สกัด ใบผสมทั้งละ 10,000 μ g. ซึ่งเท่ากับ 0.20 cm ³
	2	.295	166	1.66	1.630	.215	124	1.24	1.233	2.863	
	3	.320	181	1.81		.320	187	1.87			
ใบอายุ 2 เดือน	1	.250	140	1.40		.097	56	0.56			
	2	.146	114	1.14	1.450	.177	102	1.02	1.100	2.550	
	3	.320	181	1.81		.305	172	1.72			
ใบอายุ 3 เดือน	1	.187	101	1.01		.163	94	0.94			
	2	.147	78	0.78	0.996	.298	174	1.74	1.023	2.019	
	3	.215	120	1.20		.070	39				

ตาราง 22 (ต่อ)

ตัวอย่าง มะขามแขก	หลอด สี	sennoside A				sennoside B				เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (mg)	% สาร	% สาร ใน ตัวอย่าง	abs.	ปริมาณ สาร (mg)	% สาร	% สาร ใน ตัวอย่าง		
ใบอายุ 4 เดือน	1	.184	100	1.00		.087	49	0.49			
	2	.213	118	1.18	1.093	.073	41	0.41	0.413	1.506	
	3	.200	110	1.10		.062	34	0.34			
ใบอายุ 5 เดือน	1	.170	92	0.92		.065	48	0.48			
	2	.197	108	1.08	0.843	.095	54	0.54	0.490	1.333	
	3	.105	53	0.53		.080	45	0.45			
พันธุ์ C. acut. ใบอายุ 1 เดือน	1	.301	170	1.70		.170	98	0.98			
	2	.255	142	1.42	1.526	.210	122	1.22	1.166	2.692	
	3	.262	146	1.46		.223	130	1.30			

ตาราง 22 (ต่อ)

ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ครั้ง	sennoside A				sennoside B				เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (mg)	% สาร	% สาร ละลาย	abs.	ปริมาณ สาร (mg)	% สาร	% สาร ละลาย		
ใบอายุ 2 เดือน	1	.280	158	1.58		.065	48	0.48			
	2	.227	126	1.26	1.413	.204	119	1.19	0.990	2.403	
	3	.250	140	1.40		.224	130	1.30			
ใบอายุ 3 เดือน	1	.225	124	1.24		.060	34	.34			
	2	.197	108	1.08	1.183	.165	95	.95	0.796	1.979	
	3	.223	123	1.23		.190	110	1.10			
ใบอายุ 4 เดือน	1	.205	113	1.13		.095	54	.54			
	2	.225	124	1.24	1.216	.082	46	.46	0.603	1.819	
	3	.230	128	1.28		.142	81	.81			

ตาราง 22 (ต่อ)

ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ครั้งที่	sennoside A				sennoside B				ผลรวม sennosied A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (μ g)	% สาร	% สาร ละลาย	abs.	ปริมาณ สาร (μ g)	% สาร	% สาร ละลาย		
บอวัญ 5 เดือน	1	.150	80	0.80		.080	43	0.43			
	2	.185	101	1.01	0.813	.089	50	0.50	0.443	1.256	
	3	.127	63	0.63		.072	40	0.40			
พันธุ์ C. สด. บอวัญ 7 วัน	1	.350	200	2.666		.198	115	1.532			สารพิษ กักตุน
	2	.340	193	2.573	2.568	.180	104	1.386	1.341	3.909	ปากหมอกกระ
	3	.327	185	2.466		.145	83	1.106			7,500 μ g สูงเกินไป
บอวัญ 14 วัน	1	.290	163	2.173		.145	83	1.106			0.15 cm ³
	2	.291	164	2.186	2.284	.152	92	1.226	1.124	3.408	
	3	.330	187	2.493		.136	78	1.040			

ตาราง 22 (ต่อ)

ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ซ้ำที่	sennoside A				sennoside B				เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร ละลาย	abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร ละลาย		
ปลูกอายุ 21 วัน	1	.245	136	1.813		.137	78	1.040			
	2	.260	145	1.933	1.839	.140	80	1.066	1.128	2.967	
	3	.238	133	1.773		.167	96	1.280			
ปลูกอายุ 28 วัน	1	.217	120	1.600		.122	70	0.933			
	2	.220	122	1.626	1.586	.132	76	1.013	1.036	2.624	
	3	.193	115	1.533		.153	88	1.173			
ปลูกอายุ 35 วัน	1	.104	52	0.693		.070	39	0.520			
	2	.135	71	0.946	0.926	.090	51	0.680	0.755	1.663	
	3	.160	86	1.146		.140	80	1.066			

ตาราง 22 (ต่อ)

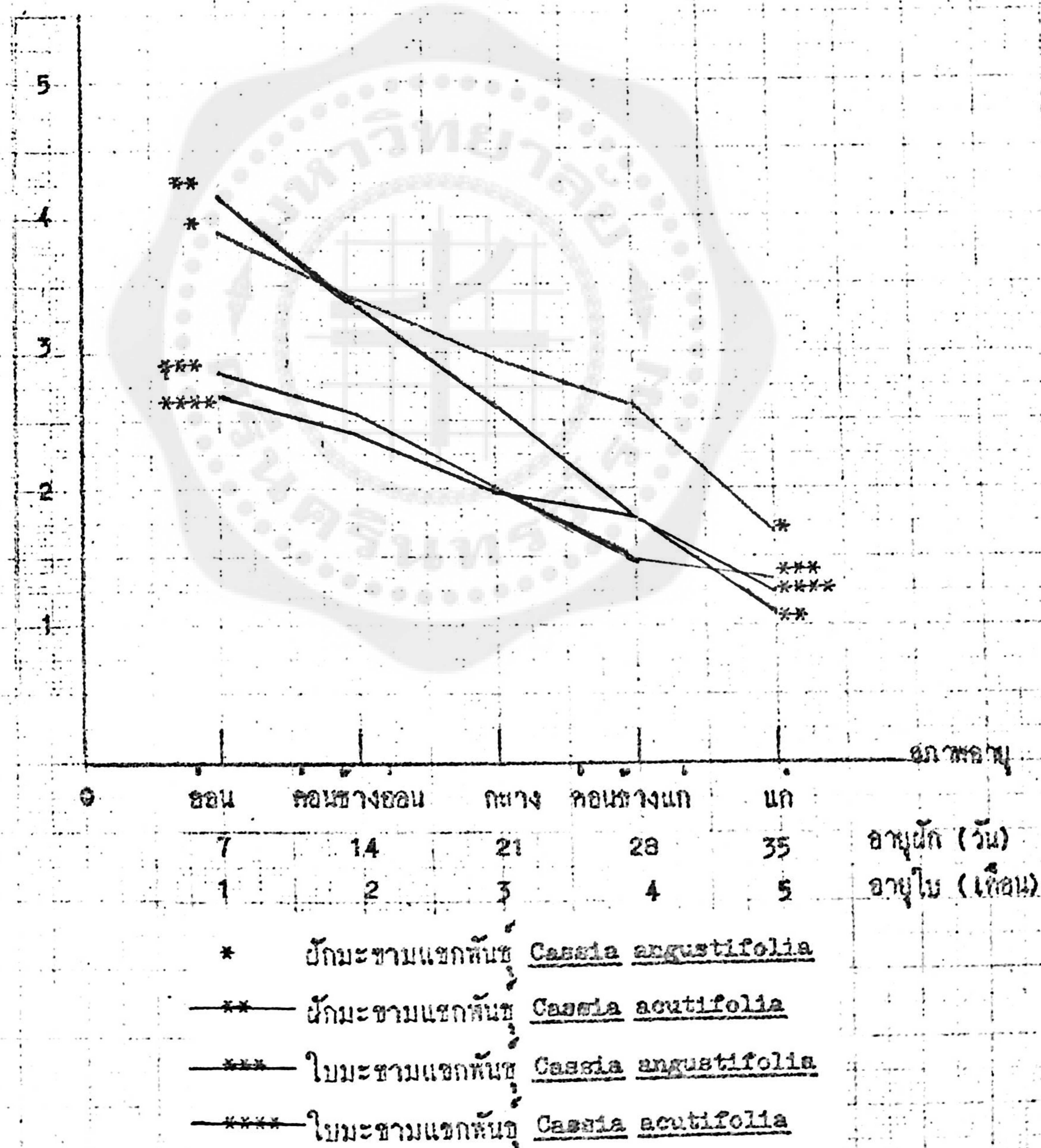
ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ครั้ง	sennoside A				sennoside B				เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร เฉลี่ย	abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร เฉลี่ย		
Wuji C. acut. ผักนํ้า 7 วัน	1	.340	192	2.560		.220	127	1.693			
	2	.320	181	2.413	2.560	.205	119	1.586	1.595	4.163	
	3	.360	205	2.733		.195	113	1.506			
ผักนํ้า 14 วัน	1	.280	157	2.093		.155	89	1.186			
	2	.290	163	2.173	2.097	.182	105	1.400	1.266	3.363	
	3	.271	152	2.026		.158	91	1.213			
ผักนํ้า 21 วัน	1	.220	122	1.626		.140	80	1.066			
	2	.208	115	1.533	1.541	.165	95	1.266	1.146	2.687	
	3	.201	110	1.466		.145	83	1.106			

ตาราง 22 (ต่อ)

ตัวอย่าง มะขามแขก	ทดลอง ครั้ง	sennoside A				sennoside B				ผลการ sennoside A + B	หมายเหตุ
		abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร โดย	abs.	ปริมาณ สาร (µg)	% สาร	% สาร โดย		
ผักนุ 25 วัน	1	.125	66	0.880		.105	60	0.800			
	2	.160	86	1.146	1.022	.091	51	0.680	.795	1.817	
	3	.180	76	1.040		.120	68	0.906			
ผักนุ 35 วัน	1	.083	40	0.533		.045	24	0.320			
	2	.102	52	0.693	0.675	.053	30	0.400	0.431	1.106	
	3	.115	60	0.800		.080	43	0.573			

ภาพ 22 เปอร์เซ็นต์ Sennoside A + B ในใบและฝักมะขามแขก
พันธุ์ *C. angustifolia* และพันธุ์ *C. acutifolia*
เมื่ออายุต่างกัน

% Sennoside A + B



จากการวาง 22 และภาพ 22 จะเห็นได้ว่าปริมาณ sennoside A และ B ของมะขามแขกพันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia ในใบอ่อนและฝักอ่อน มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าใบแก่และฝักแก่ (ยกเว้นบางตัวอย่าง คือใบอายุ 4 เดือน มี sennoside A สูงกว่าใบอายุ 3 เดือน ทั้ง 2 พันธุ์ แต่เปอร์เซ็นต์ sennoside รวม A + B ใบอายุ 3 เดือนสูงกว่าใบอายุ 4 เดือน)

เปอร์เซ็นต์ sennoside A และ B ในฝักโหลยเฉลี่ยสูงกว่าในใบ แต่ถ้าเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ ใบพันธุ์ C. angustifolia จะไม่มีความแตกต่างจากใบพันธุ์ C. acutifolia มากนัก และฝักพันธุ์ C. angustifolia ก็ไม่แตกต่างจากฝักพันธุ์ C. acutifolia มากนักเช่นเดียวกัน

10. ปริมาณ sennoside A และ B ในยาดาย Pursennid

จากการนำยาดาย Pursennid ซึ่งมี sennosides ระบุไว้เท่ากับ 12 mg/tab. มาสกัดและแยกด้วย TLC หาปริมาณ sennoside A และ B ปรากฏการแยกด้วย TLC ปรากฏแถบสีทึบองเกี่ยวกับใบและฝักมะขามแขก ยกเว้นใบมีแถบสีที่ 4 และ 7 ผลการวิเคราะห์ปรากฏดังตาราง 23

ตาราง 23 ปริมาณ sennoside A และ B ในยาคาย Pursennid

เลข ประจำ ตัว	sennoside A				sennoside B				ปริมาณ sennoside A + B ต่อเม็ด (mg)	หมายเหตุ
	abs.	สาร (µg)	ปริมาณ สารต่อ เม็ด (mg)	ปริมาณ สารต่อ เม็ด (mg)	abs.	สาร (µg)	ปริมาณ สารต่อ เม็ด (mg)	ปริมาณ สารต่อ เม็ด (mg)		
1	.105	54	5.4		.100	56	5.6		11.62	ปริมาณต่อหลอด 0.10 cm ³ เท่ากับ Pursennid 120 µg ยา Pursennid 1 เม็ด มี sennosides 12 mg หรือ 12,000 µg
2	.115	60	6.0	5.86	.110	62	6.2	5.76		
3	.118	62	6.2		.098	55	5.5			

จากการทดลองปรากฏว่า plates TLC ที่ใช้แยกสารจากยาถ่าย Pursennid แตกต่างจาก plates TLC ที่ใช้แยกสารจากใบและฝักมะขามแขกที่ไม่มีแถบสีที่ 4 และ 7 แถบสีที่ 7 น่าจะเป็น sennoside D แต่ไม่มี standard sennoside D เป็น Reference จึงยืนยันแน่นอนไม่ได้ ส่วนแถบที่ 4 เป็น unknown substance

จากปริมาณ sennoside A + B จากยาถ่าย Pursennid ที่สกัดได้เท่ากับ 11.62 mg/tab. แต่ฉลากยาระบุว่ามี sennosides รวม 12 mg/tab. ปริมาณที่หาได้ต่ำกว่า อาจเป็นเพราะในยาถ่าย pursennid อาจมี sennoside C และ D อีก หรือ (และ) ยาที่ใช้ทดลองอาจเก่าเกินไป และอาจเกิดการเสื่อมสภาพจากการทดลอง

11. ปริมาณ sennoside A และ B ในฝักมะขามแขกที่ถ่าย

จากการนำฝักมะขามแขกที่เกสรกรกรเก็บมามาสกัดและนำสารที่สกัดได้มาแยกด้วย TLC ที่พบ plates ขนาด 20 x 20 cm.² ด้วย Silica gel G. หนา 0.25 mm. โดยหยดสาร 0.15 cm.³ (เท่ากับ 7,500 µg) ลงใน Plates และใช้กรรมวิธีอื่น ๆ เช่นเดียวกับฝักที่ถ่าย ผลการวิเคราะห์ปรากฏดังตาราง 24

ตาราง 24 ปริมาณ sennoside A และ B ในฝักมะขามแขกที่ถ่าย

การทดลองครั้งที่	sennoside A				sennoside B				% sennoside A + B	หมายเหตุ
	abs.	ปริมาณสาร (µg)	% สาร	% สารเฉลี่ย	abs.	ปริมาณสาร (µg)	% สาร	% สารเฉลี่ย		
1	.163	93	1.240		.172	99	1.320			หยดสาร 7,500 µg เท่ากับ 0.15 cm. ³
2	.218	127	1.693	1.479	.155	89	1.186	1.164	2.643	
3	.205	113	1.506		.130	74	0.986			

จากตาราง 24 จะเห็นว่าผักพวยซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ C. angustifolia ให้ปริมาณ sennoside A + B เฉลี่ย 2.643 ซึ่งเป็นปริมาณ sennoside A + B อยู่ระหว่างผัก อายุ 21 - 28 วัน กาย (เปรียบเทียบกับผัก C. angustifolia ผักอายุ 21 และ 28 วัน ในตาราง 22)

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองเพื่อหาปริมาณ sennosides ในใบและก้านมะเขือเทศเมื่อมีอายุต่าง ๆ กันของพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia พบว่า

1. ใบ C. angustifolia และ C. acutifolia จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อใบอายุมากขึ้น โดยมีน้ำหนักระหว่าง 8 - 21 กรัมต่อ 50 ใบรวม แต่เปอร์เซ็นต์ sennosides รวมในใบทั้ง 2 พันธุ์ จะมีในใบอ่อนมากกว่าใบแก่ โดยใบ C. angustifolia มี sennosides ระหว่าง 1.07 - 2.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใบ C. acutifolia มี sennosides ระหว่าง 1.40 - 2.63 เปอร์เซ็นต์

2. ใบ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบ C. angustifolia เล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ t-test พบว่าสูงกว่าอย่าง ไม่นัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

3. จากการเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ที่ได้รับจากใบมะเขือเทศเมื่อมีอายุต่าง ๆ กัน พบว่ามะเขือเทศ 50 ใบรวม พันธุ์ C. angustifolia ให้ 0.23 - 0.32 กรัม ส่วนพันธุ์ C. acutifolia ให้ 0.22 - 0.37 กรัม โดยใบอายุประมาณ 3 เดือน จะให้ปริมาณ sennosides สูงสุดทั้ง 2 พันธุ์

4. ผัก C. angustifolia และ C. acutifolia จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น โดยมีน้ำหนักระหว่าง 2.6 - 19.9 กรัม และ 2.2 - 20.5 กรัม ต่อ 100 ผัก ตามลำดับพันธุ์ แต่เปอร์เซ็นต์ sennosides จะลดลงเมื่ออายุผักมากขึ้น โดยผัก C. angustifolia มี sennosides ระหว่าง 1.40 - 8.26 เปอร์เซ็นต์ ผัก C. acutifolia มี sennosides ระหว่าง 1.21 - 6.72 เปอร์เซ็นต์

5. ผล C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่า C. acutifolia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการเปรียบเทียบ t - test

6. จากการเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ที่ได้รับจากโกมมะตามอายุต่าง ๆ กัน พบว่า ปริมาณโกมมะตามอายุ 7 - 35 วัน 100 ผล พันธุ์ C. angustifolia ให้ sennosides 0.23 - 0.47 กรัม ส่วนพันธุ์ C. acutifolia ให้ sennosides 0.15 - 0.35 กรัม โดยปลูกอายุประมาณ 21 วัน จะให้ปริมาณ sennosides สูงสุดถึง 2 พันธุ์

7. ผลที่เกษตรกรเก็บขายเป็นผักมีความกอนขนาดกลาง อยู่ระหว่างปลูกอายุ 21 - 28 วัน (ประมาณ 24 - 25 วัน) เมื่อนำมาวิเคราะห์ปรากฏว่า เปอร์เซ็นต์ sennosides เฉลี่ย 3.36 เปอร์เซ็นต์ และให้ปริมาณ sennosides 0.404 กรัม ต่อ 100 ผล ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์และปริมาณ sennosides ที่ต่ำกว่าปลูกอายุ 21 วัน แต่มากกว่าปลูกอายุ 28 วัน

8. จากการเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ระหว่างใบและผัก พบว่า มะขามเทศพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ส่วนมะขามเทศพันธุ์ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

9. จากการหาเปอร์เซ็นต์ sennosides ในยาถ่าย Pursesnid ชนิดมี sennosides 12 mg/tab. โดยวิธีของ Haller, Christ, Kuhn พบว่ามี sennosides รวม เฉลี่ย 9.472 %/tab. (ตาราง 10) วิธีที่ไว้วิจัยจึงอาจไม่ใช่วิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบหาปริมาณ sennosides ในยา แต่ถ้าวัดวิธีเดียวกันที่ผู้วิจัยตรวจสอบ การหาปริมาณ sennosides ได้ต่ำกว่าที่ระบุในฉลากยาอาจเนื่องมาจากยาเก่าเกินไปหรืออาจบกพร่องจากเทคนิคการทดลอง

10. จากการวิเคราะห์หาปริมาณ sennoside A และ B พบว่า ทั้งใบและผักมีเปอร์เซ็นต์ sennoside A และ B สูงกว่าผักและใบแก่และโดยเฉลี่ยผักจะมีเปอร์เซ็นต์ sennoside A และ B สูงกว่าใบ

11. การหาปริมาณ sennosides โดยวิธี Muller, Christ, Kuhn. การจะกระทำให้ออเนืองกัน ทั้งการสกัดจนถึงขั้น photometric เพราะถ้าสกัดแล้วปล่อยทิ้งไว้ปริมาณ sennosides ที่หาได้จะต่ำกว่าที่เป็นจริงมาก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zwaving, J.H. ที่พบว่า ยาน้ำเชื่อมมะขามแขกที่เตรียมโดยใช้ Na_2CO_3 ในขั้นตอนการเตรียม ปริมาณ sennosides จะลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการเตรียมและการเก็บยา (Zwaving, J.H., 1971, 88 - 89)

12. วิธีการแยกสารด้วย TLC เป็นวิธีที่ sensitive มาก จะต้องมีคุณสมบัติสิ่งแวดล้อมในการทดลอง เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความสม่ำเสมอของ plates, reagents ที่ใช้ ปริมาณสารที่หยดลงใน TLC plates ต้องให้อยู่ในภาวะใกล้เคียงกันเสมอ ปริมาณสารที่หยดลงใน TLC plates ขนาด $20 \times 20 \text{ cm}^2$ ที่ฉาบด้วย Silica gel G. หนา 0.25 mm . ไม่ควรเกิน 0.2 cm^3 และค่าต่าง ๆ ที่หาด้วย TLC ควรพิจารณาจากค่าเฉลี่ยที่ทดลองซ้ำ ๆ หลาย ๆ ครั้ง

13. ตัวอย่างมะขามแขกที่ใช้ในการทดลองมีก่อน ๆ อายุประมาณ 7 - 14 วัน การจะโคทดลองทันที เพราะถ้าเก็บไว้นานเกินไปมักจะกิน (ขณะที่เก็บและสาเกอาจมีไขมันออกมาและเกิดฟักเป็นหัวหนอนในภายหลัง).

14. ผลการศึกษากำหนดปริมาณ sennosides รวมในผักเห็นได้ชัดว่าสูงกว่าปริมาณ sennoside A และ B ในผัก แต่เนื่องจากไม่สามารถหาตัวอย่างมาตรฐานของ sennoside C และ D ได้ จึงยังไม่อาจยืนยันแน่นอนได้ว่าส่วนที่ต่างกันนั้นเป็นปริมาณของ sennoside C และ D แต่ได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าปริมาณที่ต่างกันนี้ควรจะเป็นปริมาณของ sennoside C และ D หรือไม่โดยวิธี TLC ทำการจุดแถบที่มี R_f ใกล้เคียงกับที่ Saad H. Khafagy และคณะทดสอบไว้และมี UV absorbancy ที่ 270 nm . และหาอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เพื่อเปรียบเทียบ ผลปรากฏว่า มีอัตราส่วนโดยน้ำหนัก sennoside A + B : C + D เท่ากับ 1:1.15 (ทดลองกับผัก *C. angustifolia* อายุ 7 วัน) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปอร์เซนต์

sennoside A + B ที่หาได้ตามวิธี TLC และ Spectrophotometer ของ Saad H. Khafagy และคณะ คอเปอร์ไฮดรอกไซด์น่าจะเป็น sennosides C + D ที่มีอยู่ในคอเปอร์ไฮดรอกไซด์ sennosides รวม ตามวิธีของ Muller, Christ, Kuhn (sennosides รวม ตามวิธีของ Muller, Christ, Kuhn ที่ออกด้วย sennosides A + B ตามวิธีของ Saad H. Khafagy และคณะ) ปรากฏว่ามีอัตราส่วนเท่ากับ $= 1 : 1.11$

จึงแสดงว่า ผลที่แตกต่างกันนี้น่าจะเนื่องจาก sennosides C + D นั้นเอง และดังนั้น กรรมวิธีตรวจสอบ sennosides ทั้ง 2 วิธี ที่นำมาใช้ในการวิจัยศึกษานี้ได้ผลสอดคล้องกัน

บทสรุป และขอเสนอแนะ

จุดมุ่งหมายในการวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia เมื่อมีอายุต่าง ๆ กัน และเปรียบเทียบกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ระหว่างใบและฝักในมะขามแขกพันธุ์เดียวกัน ใบและใบ ฝักและฝัก ระหว่างมะขามแขกต่างพันธุ์กัน

ขอบเขตของการศึกษา

1. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในใบและฝักมะขามแขก 2 พันธุ์ คือพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia ซึ่งปลูกที่นิคมสร้างตนเอง พระสมุทรสาคร
2. ใบมะขามแขกที่ใช้วิเคราะห์มีอายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน ส่วนฝักมีอายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน
3. การเปรียบเทียบปริมาณ sennosides ในใบและฝัก ใช้ปริมาณ sennosides รวม ซึ่งหาโดยวิธีการของ Muller, Christ, Kuhn มาเปรียบเทียบ โดยใช้เปอร์เซ็นต์ และสถิติ t - test (Muller, Christ, Kuhn, 1962 : 41 - 52)
4. การแยกหาปริมาณ sennoside A และ B ใช้ TLC plates ซึ่งคิดแปลงวิธีการมาจากวิธีการของ Saad M. Khafagy และคณะ Control ด้วย standard sennoside A และ B (Saad M. Khafagy and others, 1972 : 304 - 309)

สรุปผล

1. ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia ทั้ง 2 พันธุ์ ใบอ่อนและฝักอ่อน มีเปอร์เซ็นต์ sennosides รวม สูงกว่าใบแก่และฝักแก่

ตามลำดับ ดังตาราง 8 โดยมีมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) และผักกาด (อายุ 7 วัน) มีเปอร์เซ็นต์ sennosides 2.720 และ 8.263 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) และผักกาด (อายุ 7 วัน) มีเปอร์เซ็นต์ sennosides 2.833 และ 6.724 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. มะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการใช้สถิติ t - test

3. มะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการใช้สถิติ t - test

4. ผักกามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าผักกามแขกพันธุ์ C. acutifolia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการใช้สถิติ t - test

5. ใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides ต่ำกว่าใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการใช้สถิติ t - test

6. ใบและผักกามแขกเมื่ออายุมากขึ้น น้ำหนักจะมากขึ้นด้วย ดังนั้นเมื่อนำมาหาปริมาณของ sennosides ในใบและผักกามแขกเมื่ออายุต่าง ๆ กัน พบว่าใบอายุ 3 เดือน ผักอายุ 21 วัน จะให้ปริมาณ sennosides สูงสุดทั้ง 2 พันธุ์ ดังตาราง 11, 12, 13 และ 14 โดยมีมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia ใบอายุ 3 เดือน จำนวน 50 ใบรวม มี sennosides 0.324 กรัม ผักอายุ 21 วัน จำนวน 100 ผัก มี sennosides 0.472 กรัม มะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia ใบอายุ 3 เดือน จำนวน 50 ใบรวม มี sennosides 0.379 กรัม ผักอายุ 21 วัน จำนวน 100 ผัก มี sennosides 0.354 กรัม

7. ผักกามแขกที่เกษตรกรเก็บขาย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides 3.386 เปอร์เซ็นต์ และให้ปริมาณ sennosides เท่ากับ 0.404 กรัม ต่อ 100 ผัก ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์และปริมาณ sennosides ผักอายุระหว่าง

21 - 28 วัน ของพันธุ์ C. angustifolia

8. ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia และพันธุ์ C. acutifolia ใบอ่อนและฝักอ่อน มีเปอร์เซ็นต์ sennoside A + B สูงกว่าใบแก่และฝักแก่ทั้ง 2 พันธุ์ และโดยเฉลี่ย ฝักมี sennoside A + B สูงกว่าใบ ถึงตาราง 22 โดยมีมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) มี sennoside A + B 2.863 เปอร์เซ็นต์ ฝักอ่อน (อายุ 7 วัน) มี sennoside A + B 3.909 เปอร์เซ็นต์ มะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) มี sennoside A + B 2.692 เปอร์เซ็นต์ ฝักอ่อน (อายุ 7 วัน) มี sennoside A + B 4.163 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ การนำยา Pursennid ซึ่งระบุว่า sennosides 12 mg/tab. มาตรวจสอบ พบว่าวิธี Muller, Phrist, Kuhn ตรวจสอบ sennosides รวมได้ 9.482 mg/tab. แต่วิธีของ Saad M. Khafagy และคณะ ตรวจสอบ sennoside A + B ได้ 11.62 mg/tab. (ดูตาราง 23) ที่เห็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะวิธีการต่างกัน solvent ต่างกัน แม้แต่วิธีการของ Saad M. Khafagy และคณะ เหมือนกัน แต่ solvent ต่างกัน ตัวอย่างเช่นเดียวกัน ผลการทดลองก็ต่างกันมาก เช่น ใบมะขามแขก ชนิดเดียวกันใช้ 70 % methanol สกัดแยก sennoside A + B + C + D ได้ 2.45 % แต่ถ้าใช้ 70 % ethanol, water, chloroform จะได้เพียง 2.20 %, 1.81 % และ 0.383 % ตามลำดับเท่านั้น

ขอเสนอแนะ

1. ในการปลูกมะขามแขกเพื่อนำไปทำยา สำหรับท้องที่ทำการศึกษาคือ นิคม พระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และอำเภอพัฒนานิคม จังหวัดลพบุรี ควรปลูกพันธุ์ C. angustifolia เพราะได้เปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าพันธุ์ C. acutifolia และเก็บใบขายเป็นผลพลอยได้เพิ่มเมื่อหมกสุกปลูก

2. การเก็บฝักมะขามแขกควรจะมีฝักที่มีอายุเฉลี่ยประมาณ 21 วัน แต่ในสภาพความเป็นจริงปัจจุบัน เกษตรกรเก็บฝักมีอายุโดยเฉลี่ยประมาณ 24 - 25 วัน (การเก็บใช้วิธี-

รูปเป็นข้อ ๆ) ถึงแม้น้ำหนักของผักจะมากขึ้นตาม แต่จะทำให้เปอร์เซ็นต์ sennosides ลดลง และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนผักเท่ากัน ปริมาณยา (น้ำหนัก sennosides) ก็จะลดลงด้วย จึงควรแจ้งให้เกษตรกรทราบก่อน

3. ควรจะวิเคราะห์การแยกสกัด sennoside A, B, C และ D ออกจาก sennosides รวมหัด ก็ได้

4. หากมี standard sennoside A, B, C, และ D ครบ ควรจะได้ตรวจสอบหาปริมาณ sennoside รวมโดยการนำปริมาณ sennoside A + B + C + D ที่แยกได้มารวมกันเป็นปริมาณ sennosides รวม

5. การขายผักขมแขกของเกษตรกรควรจะได้ราคาตามปริมาณ sennosides ที่มีอยู่ในผัก และมีการตรวจสอบประจำ เพราะจะได้ประโยชน์ทั้งเกษตรกรและผู้ซื้อ โดยเกษตรกรจะได้ควบคุมการเก็บผักในช่วงที่ปริมาณ sennosides สูง (ไม่แก่ไม่อ่อนเกินไป) และผู้ซื้อไม่ต้องเสี่ยงต่อการที่เกษตรกรจะปล่อยผักขมแขกอายุมากเกินไป (เพื่อให้ให้น้ำหนักมาก) หรือเก็บผักอ่อนเกินไป แต่เก็บไว้นานไม่ดี เพราะผักจะกิน (เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ sennosides สูง)

6. หากเป็นไปได้ ควรจะมีการวิเคราะห์หาปริมาณ sennosides ในใบและผักขมแขกพันธุ์ C. acutifolia ที่แยกแปลงปลูกซ้ำอีก เพราะการวิจัยครั้งนี้ได้ใบและผักขมแขกพันธุ์ C. acutifolia ที่ต้นปะปนอยู่กับแปลงปลูกผักขมแขกพันธุ์ C. angustifolia ที่เกษตรกรปลูกไว้เท่านั้น



บรรณานุกรม

คุม วัชรโบล แบบเรียนชีววิทยา สำหรับประโยชน์วิชาตอนปลาย แผนกวิทยาศาสตร์
ไทยวัฒนาพานิช 2513, หน้า 50 - 90.

ประโชติ เปล่งวิทยา "สมุนไพร" วิทยาศาสตร์ 25(1) : 42 - 46, มกราคม
2514.

ลวน สายยศ และ อังศณา คันศิริรัตนานนท์ สถิติวิทยาทางการศึกษา วัฒนาพานิช
2515, 280 หน้า.

สถาปณย์ ปรีดา "มะขามแขก" สยามรัฐสัปดาห์วิจารณ์ 21 (37) : 19, 41 - 42 ;
21 (38) : 19, 30, 40, มีนาคม 2518.

สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย "มะขามแขก" สารสาร 29(51) : 77, มีนาคม
2520.

สรสิทธิ์ วัชรโพนาน เกษตรกรรมกับการใช้ปุ๋ย เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 1 โครงการวิจัย
และแนะนำเทคโนโลยีของกินและปุ๋ย ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรมหาวิทยาลัย-
เกษตรศาสตร์ 2520, หน้า 1.

เสงี่ยม พงษ์บุรอก ไม้เทศเมืองไทย เกษมบรรณกิจ 2514, หน้า 400 - 401.

A.F. Sievers and others "Insecticidal tests of plants from tropical
America" Chemical Abstracts Vol. 44 No.2 : 783 q, 1950.

A. Stoll; B. Becker and W. Kussmaul "The Isolation of anthra
glycosides from senna drugs" Chemical Abstracts Vol.44
No.5 : 2178 i - 2179 a, 1950.

Alfthan, Voldemar and Aaltonen, Martti "Extract of senna drug"
Chemical Abstracts Vol.72 No.24 : 125056 r p. 272,
June 1970.

- Bernard V. Christensen and Ismail A. Abdel-Latif "A new spectrophotometric method of assay for Alexandria senna leaves (cassia acutifolia)" J. Am. pharm. Assoc. 38 : 589-593, 1949.
Chemical Abstracts Vol.44 No.3 : 12280 c, 1950.
- Brendel, W.D. and Berger, L. "Quantitative determination in Senna leaves and fruits and their preparations. III. Statistical evaluation of the results." Planta Medica 26(2) : 124-127, 1974
Chemical Abstracts Vol. 82 No.8 : 47785 t, p.305, 1975.
- D.R. Lohar; D.D. Chawan and S.P. Garg. "Phytochemical Studies on Cassia Species of Indian Arid Zone" Current Science 44(2) : 67, 1975.
Chemical Abstracts Vol. 82 No.19 : 121737 x, 1975.
- Dick, J.G. Analytical Chemistry Mc.Graw-Hill, Kogakusha, Ltd., 1973, 696 p.
- El-Gengaihi, S; Agiza, A.H. and El-Hamidi, A. "Distribution of anthraquinones in Senna plants" Planta Medica 27 (4) : 349-353, 1975.
Chemical Abstracts Vol.83 No.14: 120720 V., p. 422, 1975.
- G. Richter and H. Haucustem "Chemical quantitative determination of sena drugs, extracts, and preparation by separate quantitative analysis of anthraquinone glycosides and aglycosides"
Chemical Abstracts Vol. 68 No.9 : 4214, February, 1968.
- H. Hauptmann and L. Lacerda Nazario "Some constituents of the leaves of Cassia alata" J. Am. Soc. 72 : 1492 - 1495, 1950.
Chemical Abstracts Vol. 44 No.22 : 11028 e, f, g, h, 1950.
- Hazama, Naohiko; Sato, Misako and Taniguchi, Nobuko "Sennoside from Cassia leaves" Chemical Abstracts Vol.81 No.14 : 82370 e, p. 302 - 303, 1974.
- J.F. Lawrence and R.W. Frei "A quantitative Assay For Sennosides By Fluorogenic Derivatization on Thin-Layer Chromatograms" Journal Chromatography 79 : 223 - 228, 1973.
- Jeffery, P.G. and Kipping, P.J. Gas analysis by Gas Chromatography Pergamon press, New York, 1972, p. 3.
- Lemli, J. and Cuveele, J. "Anthraquinone drugs XIX Determination of sennoside C and D " Chemical Abstracts Vol.69 No.25 : 10305, December 1968.
- Magyar, Gyorgy and others "Solid sennoside A + B Concentrates" Chemical Abstracts Vol. 79 No.14 : 83457 J, 1973.

- Magyar, Gyorgy and others "Solid Concentrates of sennoside A + B" Chemical Abstracts Vol. 83 No.22 : 183390 h, p. 273, 1975.
- Meussen, Ham G. and Honerlagen, Hans. "Recovery of sennoside-rich active Concentrates from senna pods" Chemical Abstracts Vol. 73 No.23 : p. 99, December, 1970.
- Muller, Christ, Kuhn "Vergleichende untersuchungen Zur photometrischen Sennosid Bestimmung in Drogen" Arch. d. Pharm., Bd. 295, 1, 41 - 42, 1962.
- Michaud, Jean "Water soluble senna extract for treatment of Constipation" Chemical Abstracts Vol.74 No.10 : p.228, 1971.
- N.N. Kaji; M.L. Khorana and M.M. Sanghavi "Studies on Cassia fistula" Indian J. Pharm 30(1) : 8 - 11, 1968.
Chemical Abstracts Vol. 68 No.13 : 553 g., March, 1968.
- Romanova, A.S.; Semakina, N.D. and Ben'kovskii, A.I. "Anthracene derivatives isolates from the pod values of cassia acutifolia" Chemical Abstracts Vol.70 No.3 : p. 62, January, 1969.
- Romanova A.S. and others "Anthracene derivative of Cassia acutifolia" Chemical Abstracts Vol.75 No.1 : 1311 n., p. 109, 1971.
- Saad M. Khafagy and others "Estimation of Sennosides A, B, C And D in Senna Leaves, Pods and Formulations" Planta Medica 21(3) : 304 - 309, 1972.
Chemical Abstracts Vol. 77 No.6 : 39295 q., 1972.
- Semakina, N.D. and others "Chemical study of anthraglycosides of Cassia acutifolia" Chemical Abstracts Vol.76 No.13 : 70057 S, p. 190, 1972.
- "Senna Fruit", "Senna leaf" British Pharmacopeia, Pharmaceutical press. London, 1963, P. 717 - 719.
- "Senna", "Sennoside A and B" The Merck Index (seventh edition) of Chemicals and Drugs. Published by Merck and Co., Inc. U.S.A., 1960, p. 931.
Rahway, N.J.
- Sharfeera, A.P. and Lydygina, E.Ya. "Levels and distribution of anthracene derivatives in the tissues of Cassia acutifolia Cultivated in the USSR" Chemical Abstracts Vol.78 No.19 : 121306 y, p. 218, 1973.
- Stephen Chao Yung Su and N.M. Ferguson "Extraction and Separation of Anthraquinone Glycosides" Journal Pharmaceutical Science 62(6) : 899, 1973.

Szabo, Anlal and others "Method for the determination of sennosides"
Chemical Abstracts Vol. 78 No.8 : 47844 d, p. 282, 1973.

Zwaving, J.H. "Sennoside content of sirupus sennae (Senna sirup)"
Chemical Abstracts Vol. 74 No.21 : p. 88 - 89, 1971.



การหาปริมาณเซนโนไซด์ในใบและฝักมะขามแขก
ในประเทศไทย



เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
กันยายน 2521

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาปริมาณ sennosides ในใบและฝักมะขามแขก พันธุ์ Cassia angustifolia และพันธุ์ Cassia acutifolia ที่ปลูกในประเทศไทย เมื่อมีอายุต่างกัน

การหาปริมาณ sennosides รวม โดยวิธีของ Muller, Christ, Kuhn พบว่า ใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides ระหว่าง 1.078 - 2.720 และใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides ระหว่าง 1.401 - 2.833 โดยใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าใบแก่ทั้งสองพันธุ์ ฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides ระหว่าง 1.404 - 8.263 และฝักมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มีเปอร์เซ็นต์ sennosides ระหว่าง 1.218 - 6.724 โดยฝักอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennosides สูงกว่าฝักแก่ทั้งสองพันธุ์

การหาปริมาณ sennoside A และ B โดยใช้วิธี TLC และ Spectrophotometer ของ Saad M. Khafagy และคณะ พบว่า sennoside A มีค่า R_f เท่ากับ 0.40, sennoside B มีค่า R_f เท่ากับ 0.20; เปอร์เซ็นต์ sennoside A + B พบดังนี้ ใบมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มี 1.333 - 2.863, ใบมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มี 1.256 - 2.692 ; ฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มี 1.633 - 3.909, ฝักมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia มี 1.106 - 4.163 โดยใบอ่อนและฝักอ่อนมีเปอร์เซ็นต์ sennoside A + B สูงกว่าใบแก่และฝักแก่ตามลำดับทั้งสองพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบผลจากทั้งสองวิธีแล้วพบว่าผลที่ได้สอดคล้องกันคือ ฝักมะขามแขกพันธุ์ C. angustifolia มีปริมาณตัวยา sennosides สูงกว่าในฝักมะขามแขกพันธุ์ C. acutifolia เมื่อเก็บในระยะเวลาเดียวกัน จากต้นที่มีอายุเท่ากัน จึงเป็นการสมควรจะสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกแต่พันธุ์ C. angustifolia โดยเฉพาะในเขตจังหวัดสระบุรี และลพบุรีซึ่งเกษตรกรปลูกเพื่อเก็บฝักขายให้ต่างประเทศ ส่วนในใบมะขามแขกมีปริมาณ sennosides ต่ำกว่าในฝักและใกล้เคียงกันทั้งสองพันธุ์

THE STUDY OF SERRATOSIDES CONTENTS IN LEAVES AND PODS
OF SERRA PLANTS IN THAILAND



Presented in partial fulfillment of the requirements

for the Master of Education Degree

SRIINAKHARINWIROT UNIVERSITY

SEPTEMBER 1978

The purpose of this study was to investigate the standard of the locally available senna, Cassia angustifolia and Cassia acutifolia base on sennosides contents, collected at different age.

The result obtained from the method as described by Muller, Christ, Kuhn revealed that the leaves of Cassia angustifolia contained 1.078 - 2.720 % , the leaves of Cassia acutifolia contained 1.401 - 2.833 % ; the pods of Cassia angustifolia contained 1.404 - 3.263 % , the pods of Cassia acutifolia contained 1.213 - 6.724 % ; and found that percentage of total sennosides in the young leaves and pods were higher than that of the old leaves and pods in the two cassia species.

The results of quantitative analysis by TLC and spectrophotometric method as described by Saad H. Khafagy and others found that sennoside A and B was separated with R_f value 0.40 and 0.20 accordingly, the percentage of sennoside A + B in the leaves of Cassia angustifolia were 1.333 - 2.863 , in the leaves of Cassia acutifolia were 1.256 - 2.692 ; in the pods of Cassia angustifolia were 1.683 - 3.909 , in the pods of Cassia acutifolia were 1.106 - 4.163 . Besides the percentage of sennoside A + B in young leaves and pods were higher than that of the old leaves and pods in the two cassia species.

The results obtained from the two methods indicated that Cassia angustifolia pods contain higher sennosides than that of Cassia acutifolia ; and the young pods contained higher sennosides than that of the older ones.