

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทิลแอลกอฮอล์จาก
รากกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.)

ปริญญานิพนธ์
ของ
ปทุมพร มานาม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
พฤษภาคม 2549

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทิลแอลกอฮอล์จากรากกล้วยเต่า
(*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.)

บทคัดย่อ
ของ
ปทุมพร มานาม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
พฤษภาคม 2549

ปทุมพร มานาม. (2549). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทิลแอลกอฮอล์จากรากกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.). ปริญญา
นิพนธ์ วท.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
คณะกรรมการควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาลักษณ์ รัชชัญญาสัทกุล,
ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ รุจิรวรรณ

กล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.) เป็นสมุนไพรไทยใช้
รากแก้อาการปวดท้อง ลดไข้ รักษาวัณโรค และยาบำรุงน้ำนม จากการนำสารสกัดหยาบของราก
กล้วยเต่าในชั้นคลอโรฟอร์ม และชั้นเอทิลแอลกอฮอล์มาแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟี พบสารประกอบ
ในกลุ่ม azafluorene alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) และ
7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอีก 1 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่ม
acetogenin และสารผสมของ β -sitosterol และ stigmasterol สูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้
ศึกษาโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF CHLOROFORM AND ETHYL
ACETATE EXTRACTS FROM THE ROOT OF *POLYALTHIA DEBILIS* (PIERRE)
FINET & GAGNEP.

AN ABSTRACT
BY
PATUMPORN MANAM

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Master of Science degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
May 2006

Patumporn Manam. (2006). *Study on chemical constituents of chloroform and ethyl acetate extracts from the root of Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP. Master thesis, M.Sc. (Chemistry). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee : Assoc. Prof. Dr. Supaluk Prachayasittikul, Prof. Dr. Somsak Ruchirawat.

Polyalthia debilis (Pierre) FINET & GAGNEP., a Thai medicinal plant has long been used for treatment of abdominal pain, febrifuge, tuberculosis and galactagogue. Isolation of the crude chloroform and ethyl acetate extracts from the root of *Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP. was carried out using repeated chromatographic methods to afford two azafluorene alkaloids viz. 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) and 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one. In addition, another one compound, a linear acetogenin together with a mixture of β -sitosterol and stigmasterol were also found. The structures of these compounds were elucidated by spectroscopic methods.

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทิลแอซิเตตจากรากกล้วยเต่า
(*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.)

ปริญญานิพนธ์
ของ
ปทุมพร มานาม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

พฤษภาคม 2549

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทิลแอซิเตตจากรากกล้วยเต่า
(*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.)

ของ
ปทุมพร มานาม

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญสิริ จีระเดชากุล)
วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2549

.....ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาลักษณ์ ปรัชชญาสิทธิกุล)

.....กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์
(ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ รุจิรวรรณ)

.....กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ ชัยนะกุล)

.....กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(อาจารย์ ดร.มณีกานต์ ชินวรรังสี)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจาก รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาลักษณ์ ปรัชชญาสิทธิกุล ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ รุจิวัฒน์ กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องในการทำปริญญานิพนธ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พินิติ รตะนากุล และ ดร. อภิญา ชัยวิสุทธิทางกุล ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบเค้าโครงปริญญานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ ชัยนะกุล และ ดร. มณีกานต์ ชินวรรังสี ที่ให้ความกรุณาเป็น กรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ ทำให้ปริญญานิพนธ์เล่มนี้ สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่สนับสนุนทุนวิจัย ตามโครงการทุนอุดหนุนและส่งเสริมปริญญานิพนธ์สำหรับนิสิตปริญญาโท และเอก

ขอกราบขอบพระคุณสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการบันทึก IR NMR และ mass spectrum และให้ความอนุเคราะห์ในการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย และฤทธิ์ต้าน เซลล์มะเร็ง ขอกราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ และขอขอบพระคุณ ดร. ھرรรษา ประวัติ และ ดร. วิไลลักษณ์ ปรัชญาวรรกร ที่ได้ช่วยแนะนำในการพิสูจน์โครงสร้างของ สารประกอบ

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ ความเมตตาแก่ผู้วิจัยในการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นิสิตปริญญาโททุกท่าน และคุณณัฐพล รอดเรืองธรรม ที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความ กรุณาและขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์ใดๆ อันเกิดจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ปทุมพร มานาม

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	5
ความสำคัญของการวิจัย.....	5
ขอบเขตของการวิจัย.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	42
อุปกรณ์ / เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้.....	44
การสกัดสารจากรากกล้วยเต่า.....	45
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	54
การศึกษาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้.....	56
4 ผลการวิจัย.....	57
ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่า.....	57
ผลการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์.....	57
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	66
ผลการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	68
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	70
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	70
การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	71
ข้อเสนอแนะ.....	87

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม.....	88
ภาคผนวก.....	95
อภิธานศัพท์.....	97
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	100

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	พืชสกุล <i>Polyalthia</i> (P.) ที่พบในประเทศไทย.....	2
2	ตัวอย่างพืชสกุล <i>Polyalthia</i> ที่พบในตำราแพทย์แผนโบราณ.....	3
3	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล <i>Polyalthia</i> spp. บางชนิด.....	22
4	ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่าด้วยตัวทำละลาย.....	57
5	ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	57
6	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	58
7	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	59
8	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3.5 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	59
9	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	60
10	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5.2 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	60
11	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5.2.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	61
12	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	62
13	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	62
14	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.2 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	63
15	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	63
16	ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.7 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	64
17	ผลการแยกสารสกัดเอทิลเอซิเตตโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	64
18	ผลการแยกสารกลุ่ม PE-3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	65
19	ผลการแยกสารกลุ่ม PE-3.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	65
20	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย.....	66
21	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสาร.....	67
22	เชื้อแบคทีเรียต่างๆ ที่ทำให้เกิดโรค.....	71
23	ข้อมูล ¹³ C NMR spectrum (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ IA และ IB บันทึกใน CDCl ₃	74
24	การเปรียบเทียบ ¹³ C NMR (CDCl ₃) ของสารประกอบ IA และ IB กับ β-sitosterol และ stigmasterol ตามลำดับ.....	75

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
25	ข้อมูล ^1H NMR ^{13}C NMR (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ II บันทึกใน acetone- d_6	79
26	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ 1-methyl-4-azafluoren-9-one และของ สารประกอบ II ตามลำดับ.....	80
27	ข้อมูล ^1H NMR COSY และ HMBC ของสารประกอบ II บันทึกใน acetone- d_6	81
28	ข้อมูล ^1H NMR ^{13}C NMR (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ III บันทึกใน acetone- d_6	84
29	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one และของสารประกอบ III ตามลำดับ.....	85
30	ข้อมูล ^1H NMR COSY และ HMBC ของสารประกอบ III บันทึกใน acetone- d_6 ...	86

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	ส่วนประกอบของกล้วยเต่า (<i>Polyalthia debilis</i>).....	7
2	โครงสร้างของสารในกลุ่ม alkaloids จากพืชสกุล <i>Polyalthia spp.</i> บางชนิด.....	31
3	โครงสร้างของสารในกลุ่ม terpenes จากพืชสกุล <i>Polyalthia spp.</i> บางชนิด.....	35
4	โครงสร้างของสารในกลุ่มอื่นๆ จากพืชสกุล <i>Polyalthia spp.</i> บางชนิด.....	41
5	ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	43
6	แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์ม.....	51
7	แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้นเอทิลแอซิเตต.....	54
8	ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ II.....	81
9	ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ III.....	86

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ความรู้เกี่ยวกับเรื่องการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อทำการบำบัดรักษาโรค ได้ทราบกันมาจากการประสพการณ์ที่ได้ทำการถ่ายทอดและสั่งสมต่อเนื่องกันมาจากรุ่น ปู่ย่า ตายาย สืบทอดกันมาตั้งแต่สมัยโบราณจนถึงปัจจุบัน โดยที่มนุษย์เราได้รู้จักนำเอาพืชมาใช้เป็นยา ซึ่งนำมาใช้ในรูปแบบของพืชสด พืชแห้ง ต่อมาจึงพัฒนาเตรียมเป็นยาอย่างง่ายชนิดต่าง ๆ ขึ้น

พืชสกุล *Polyalthia* spp. อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นพืชที่อยู่ในเขตร้อนแถบแอฟริกา เอเชีย และโอซันเนีย (Hamonniere, Leboeuf & Cave. 1974 : 921-924) จากการศึกษาวิจัยเพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุลนี้ พบว่ามีสารประกอบต่าง ๆ อยู่ในกลุ่ม clerodan diterpenes triterpenes benzopyran derivatives polyacetylene compounds นอกจากนี้ยังมีสารประกอบพวก alkaloids ชนิดต่าง ๆ เช่น azaanthracenes aporphines bisaporphines indolosesquiterpenes seco-benzyltetrahydroisoquinolines และ oxoprotoberberines ส่วนการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากส่วนรากของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis*) พบว่ามีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* โดยมีค่า IC_{50} เป็น 1.35 $\mu\text{g/mL}$ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบ bis-7,7'-dehydro-8,8'-dimethoxyanonaine และ bis-7,7'-dehydro-10,10'-dimethoxyanonaine ซึ่งแยกได้จากส่วนรากของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis*) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย โดยมีค่า IC_{50} ที่ 5.4 และ 4.1 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ (Kanokmedhakul, Yodbuddee, et al. 2003 : 616-619)

พืชสกุล *Polyalthia* เป็นสกุลที่มีมากกว่า 150 ชนิด พบมากที่สุดแถบเอเชีย และแอฟริกา (Lavault, et al. 1990 : 3845-3847) และมีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวาง สำหรับประเทศไทยมีการสำรวจพบพืชสกุล *Polyalthia* ทั้งหมด 20 ชนิด ดังแสดงในตาราง 1 (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 424 - 425) ส่วนพืชสกุล *Polyalthia* ที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค พบในตำราแพทย์แผนโบราณทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังแสดงในตาราง 2 (nap@pcog1.pmmmp.uci.edu, 2005 (online))

ตาราง 1 พืชสกุล *Polyalthia* (P.) ที่พบในประเทศไทย

ที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง
1.	<i>P. asteriella</i> Ridl.	ยางโดน สะบันงาป่า
2.	<i>P. bullata</i> King.	หลังโกง
3.	<i>P. cauliflora</i> Hook.f. & Thomson var. desmentha (Hook.f. & Thomson) J.Sinclair	จำปาขอม
4.	<i>P. cerasoides</i> (Roxb.) Benth.ex Bedd.	กะเจียน ค่าสามชุก แคะหาง โมดตง เหลือง จันทร์ดง ทราย เด่น พญารากดำ สะบันงาป่า
5.	<i>P. cinnamomea</i> Hook.f. & Thomson	สังหยุดอกแดง
6.	<i>P. crassa</i> Parker	นมแมวน้อย
7.	<i>P. debilis</i> (Pierre) Finet & Gagnep.	กล้วยเต่า กล้วยตับเต่า ตับเต่า น้อย ไข่เต่า ตับเต่า
8.	<i>P. evecata</i> (Pierre) Finet & Gagnep.	นมน้อย น้าน้อย น้ำเต้าแล้ง
9.	<i>P. glauca</i> (Hassk.) F.Muell	ตารา
10.	<i>P. hypoleuca</i> Hook.f. & Thomson	สังหยูขาว
11.	<i>P. jenkinsii</i> Hook.f. & Thomson	สังหยู ดังงาขาว
12.	<i>P. lateriflora</i> (Blume) King	กระดังงาป่า กล้วยหมูสัง เหียนเขา กล้วยอีเห็น กล้วย ปีแซ
13.	<i>P. longifolia</i> (Benth.) Hook.f.	อโศกเซนคาเบรียล
14.	<i>P. obtusa</i> Craib	ยางดง ช้ายาง ทองห่ออ้อย ยางอึ้ง สนน สะบันงาป่า สาม เต้า ยางโดน
15.	<i>P. parviflora</i> Ridl.	กำลังวัวเถลิง
16.	<i>p. sclerophylla</i> Hook.f. & Thomson	กล้วยไม้ กล้วย ปาหนันแดง ปีแซกายู
17.	<i>P. socia</i> Craib	กาโป
18.	<i>P. stenopetala</i> (Hook.f. & Thomson) Ridl.	หนวดปลาชุก

ตาราง 1 (ต่อ)

ที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง
19.	<i>P. suberosa</i> (Roxb.) Thwaites	กลิ้งกล่อม ชั่งกลอง กำจาย ท้องคลอง จิงกล่อม ไคร้หน้า น้านอง น้าน้อย ช้องกลอง ผักจ้ำ มะจ้ำ มงจาม
20.	<i>P. viridis</i> Craib	ยางโอน ขะมอบ ขี้ซาก อีโต้ ตองเหลื่อง ยางดง ยางพาย ยางอึ้ง ตองห่ออ้อย ขี้แฮด ยางโดน สามเต้า

ตาราง 2 ตัวอย่างพืชสกุล *Polyalthia* ที่พบในตำราแพทย์แผนโบราณ*

ชื่อพืช	ส่วน	สรรพคุณ	ประเทศ
<i>Polyalthia aubrevillei</i>	เปลือก	ใช้เป็นยากระตุ้นความต้องการทางเพศ	แอฟริกากลาง
<i>Polyalthia bullata</i>	ใบ	รักษาโรคปวดตามข้อ	มาเลเซีย
	เปลือกของลำต้นแห้ง	ใช้เป็นยากระตุ้นความต้องการทางเพศ	มาเลเซีย
<i>Polyalthia evecata</i>	รากแห้ง	ยาบำรุงน้ำนม	ไทย
<i>Polyalthia jenkinsii</i>	ลำต้น	ใช้เป็นยาไล่ผึ้ง	ไอร์แลนด์
<i>Polyalthia longifolia</i>	เปลือกของลำต้น	ยาบำรุงหัวใจ ยาบำรุง ยาช่วยย่อยอาหาร ยาลดไข้	อินเดีย

ตาราง 2 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สรรพคุณ	ประเทศ
<i>Polyalthia longifolia</i> var. <i>pendula</i>	เปลือกของลำต้น	ยาบำรุงน้ำนม	บังคลาเทศ
<i>Polyalthia stuhlmannii</i>	ราก	ใช้เป็นยารักษาโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ยารักษาโรคไขสันหลังอักเสบ ยารักษาโรคหูด ริดสีดวง ฝี ยาแก้ปวดท้อง	แทนซาเนีย
<i>Polyalthia suberosa</i>	ราก	ใช้เป็นยาทำให้แห้ง	ฟิลิปปินส์

*(nap@pcog1.pmpm.uci.edu, 2005 (online))

กล้วยเต๋ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP. อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นสมุนไพรที่ใช้ส่วนรากนำไปต้มน้ำดื่ม แก้กษัย แก้กษัย ถานซาง แก้วโรค แก้วปวดท้อง (เพียวรี้ เหมือนวงษ์ญาติ เอมอร โสมนะพันธ์ และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล 2534 : 110) บางตำรารักษาส่วนราก และลำต้นคั้นสดหรือนำไปต้มน้ำใช้ดื่ม รักษาอาการปวดท้อง (มาลี บรรจบ และคณะ 2543 : 25) ในจังหวัดอุบลราชธานีใช้ส่วนรากต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงน้ำนมอีกขนานหนึ่ง (มาลี บรรจบ และคณะ 2543 : 48)

เกศแก้ว บุตรวงศ์ (2545 : บทคัดย่อ) ได้ทำการสกัดสารจากรากของต้นกล้วยเต๋ โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลแอลกอฮอล์ และเมทานอล ตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นพบว่าสารสกัดเฮกเซน มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ จึงทำการศึกษาร่องประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซน และสารสกัดเมทานอล พบสารประกอบ 4 ชนิด ได้แก่ 3-O-acetylauritic acid suberosol stigmasterol และ β -sitosterol ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ จากสมุนไพรดังกล่าว โดยคาดหวังว่าจะได้ข้อมูลทางเคมีเพื่อใช้เป็นแนวทางการศึกษาในด้านอื่น เช่น ด้านเภสัชวิทยา และอาจพัฒนาใช้เป็นยาในอนาคต

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการแยกสารจากรากกล้วยเต่า และการทำสารให้บริสุทธิ์จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์
2. เพื่อศึกษาโครงสร้างของสารบางชนิดที่แยกได้จากรากกล้วยเต่า

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงวิธีการแยกสาร และการทำสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีให้บริสุทธิ์จากรากกล้วยเต่า
2. ทำให้ทราบสูตรโครงสร้างของสารบางชนิดที่แยกได้จากรากกล้วยเต่า ซึ่งอาจเป็นสารใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
3. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ อาจจะเป็นแนวทางการศึกษาทางเภสัชวิทยาต่อไป

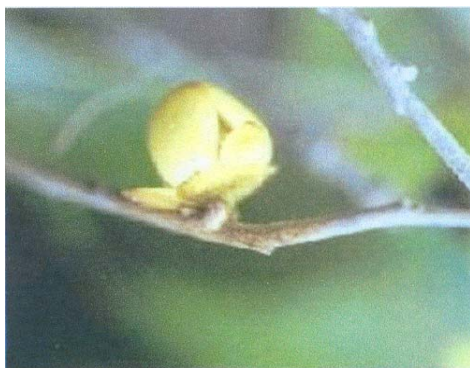
ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้ส่วนรากที่ตากแห้งของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.) เก็บจากอุทยานแห่งชาติภูจองนางอย จังหวัดอุบลราชธานี ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 410 เมตร ทิศเหนือ 105 องศา 16 ลิปดา เมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2541 และเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2542 ได้ผ่านการตรวจเอกลักษณ์จากหอพรรณไม้ กรมป่าไม้ ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร
2. การสกัดสารจากรากของต้นกล้วยเต่าใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลแอลกอฮอล์ และเมทานอล ตามลำดับ
3. นำสารสกัด และสารกลุ่มย่อยที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย และฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งที่ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยพิจารณาจากข้อมูลเบื้องต้นคือ ข้อมูลจาก ^1H NMR spectrum และปริมาณของสาร
4. นำเฉพาะสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธีทางโครมาโทกราฟี และวิธีการตกผลึก โดยพิจารณาจากข้อมูลเบื้องต้นต่างๆ เช่น ข้อมูลจาก ^1H NMR spectrum ปริมาณของสารและผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
5. ศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยใช้วิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ อัลตราไวโอเลตสเปกโทรสโกปี (Ultraviolet spectroscopy) อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Infrared spectroscopy) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy) แมสสเปกโตรเมตรี (Mass spectrometry)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

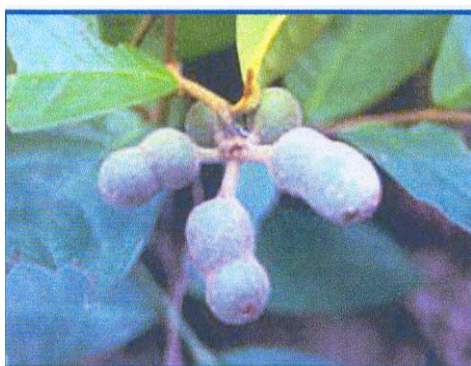
กล้วยเต่ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP. อยู่ในวงศ์ Annonaceae สกุล *Polyalthia* มีชื่อสามัญแตกต่างกันแต่ละท้องถิ่น เช่น กล้วยเต่า กล้วยต๊อบเต่า (ราชบุรี) ไข่เต่า (เชียงใหม่) ต๊อบเต่า ต๊อบเต่าน้อย (ภาคเหนือ) (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 424 - 425) กล้วยเต่าเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร กิ่งอ่อนมีขนอ่อนนุ่มหนาแน่นแต่จะร่วงไปเมื่อแก่ ใบเดี่ยวเรียงสลับระนาบเดียว รูปขอบขนานจนถึงรูปไข่กลับแกมรูปใบหอก กว้าง 2-5 เซนติเมตร ยาว 5-12.5 เซนติเมตร ปลายแหลมหรือมนและมีกึ่งแหลม โคนมนหรือหยิกเว้าเล็กน้อย แผ่นใบแคบ ด้านบนเกลี้ยงมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีจางกว่าและมีขน เส้นแขนงใบข้างละ 7-10 เส้น ก้านใบยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร มีขนสีเหลืองอ่อนหนาแน่น ดอกเล็กสีเหลืองอ่อน ออกเดี่ยวๆตามง่ามใบ ก้านดอกสั้น กลีบเลี้ยงเล็กมี 3 กลีบ รูปสามเหลี่ยมกลายๆ กว้างยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ด้านนอกมีขนอ่อนนุ่ม กลีบดอกเรียงสลับกัน 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ รูปไข่หรือรูปไข่แกมรูปใบหอก กว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร ยาว 5-8 มิลลิเมตร ปลายมน ด้านนอกกลีบมีขนละเอียดสีเหลืองอ่อน เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก อยู่เป็นกลุ่มบนแกนกลางดอก เกสรเพศเมีย 4 อัน อยู่ที่ปลายของแกนกลางดอก ผลเป็นผลกลุ่ม อยู่บนแกนตุ้มกลม แต่ละผลรูปทรงกระบอก กว้างประมาณ 1.3 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร คอดระหว่างเมล็ด ปลายเรียวแหลม มีขนสั้นอ่อนนุ่ม ก้านผลยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง ภายในมีเมล็ด 1-2 เมล็ด สามารถรับประทานได้ เมล็ดมีสีดำ เปลือกกรากมีสีดำบาง ใช้ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ออกดอกตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม ผลแก่ประมาณเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม มีการกระจายพันธุ์ในประเทศไทยทางภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก โดยจะขึ้นในป่าดิบบนพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 100-350 เมตร เป็นสมุนไพรที่ใช้ส่วนรากและลำต้นนำมาต้มน้ำดื่ม แก้ตัวร้อน แก้พิษไข้ แก้พิษตานซาง แก้วัณโรค แก้ปวดท้อง (ชวลิต นิยมธรรม. 2538 : 157) ; (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540 : 208) ส่วนประกอบของกล้วยเต่าแสดงดังภาพประกอบ 1



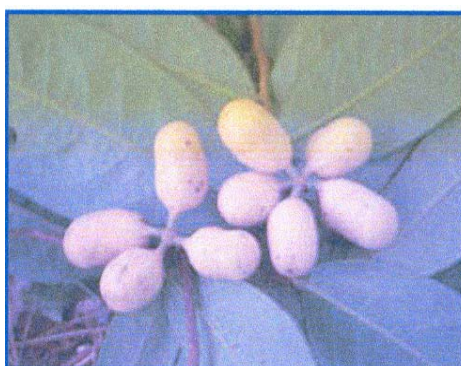
(ก)



(ข)



(ค)



(ค)



(ง)

ภาพประกอบ 1 ส่วนประกอบของกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis*) (Chuakul, et al. 1997 : 184)

(ก) ดอก (ข) ใบ (ค) ผลแก่ และผลสุก (ง) ราก

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล *Polyalthia* spp.

Polyalthia acuminata

ปี ค.ศ. 1982 อะบูซาร์กา และแซมมา (Abuzarga & Shamma. 1982 : 471 – 475) ได้นำลำต้นและใบของ *Polyalthia acuminata* มาทำการสกัดด้วย ethanol จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำการละลายด้วย 5% HCl นำสารละลายที่ได้มาทำการสกัดด้วย chloroform นำสารสกัดชั้น chloroform มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม aporphine alkaloids 4 ชนิด ได้แก่ (-)-norliridinine (1) (-)-3-hydroxynornuciferine (2) (-)-norannuradhapurine (3) และ (-)-noroliveroline (4) นอกจากนี้ยังสามารถแยกสารประกอบพวก alkaloids ได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม ดังนี้คือ กลุ่ม oxoaporphines ได้แก่ O-methylmoschatoline (liridine) (5) และ liriodenine (6) กลุ่ม aporphines ได้แก่ (-)-3-methoxynuciferine (7) (-)-O-methylisopiline (8) (-)-anonaine (9) (-)-nornuciferine (10) (+)-isoboldine (11) (-)-isopiline (12) (-)-asimilobine (13) (-)-caaverine (14) (-)-tuduranine (15) (-)-norushinsunine (16) (-)-anolobine (17) กลุ่ม proaporphine ได้แก่ (+)-stepharine (18) กลุ่ม tetrahydrobenzylisoquinolines ได้แก่ (±)-juziphine (19) (+)-reticuline (20) (±)-N-methylcocclaurine (21) (±)-norjuziphine (22) และ (±)-cocclaurine (23) กลุ่ม berbines ได้แก่ (-)-kikemanine (24) และ (-)-stepholidine (25) กลุ่ม phenethylamine hordenine และกลุ่ม indoles ได้แก่ 2-methyltetrahydro- β -carboline (26) N,N-dimethyltryptamine (27) และ (±)-tetrahydroharman (28) และกลุ่ม lignan ได้แก่ (±)-syringaresinol (29)

Polyalthia barnesii

ปี ค.ศ. 1994 มา และคณะ (Ma, et al. 1994 : 1659 – 1662) ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารประกอบในกลุ่ม clerodane diterpenes โดยนำเปลือกของลำต้น *Polyalthia barnesii* มาทำการสกัดด้วย methanol แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทำการแบ่งส่วนการละลายด้วย ethyl acetate และน้ำ นำสารสกัดส่วน ethyl acetate มาทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดส่วนดังกล่าวแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มีแรงปอด (Lu1) โดยมีค่า ED₅₀ เป็น 5.1 μ g/mL จึงนำมาทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบที่รู้จักแล้วคือ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (30) และสารประกอบชนิดใหม่อีก 2 ชนิด ได้แก่ 3 β ,16 α -dihydroxycleroda-4(18),13(14)Z-dien-15,16-olide (31) และ 4 β ,16 α -dihydroxyclerod-13(14)Z-en-15,16-olide (32) พบว่าสารประกอบทั้ง

3 ชนิด มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด โดยมีค่า $ED_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$ ในเซลล์มะเร็ง LNCaP U373 และ P-388 ส่วนเซลล์มะเร็งของมนุษย์ สารประกอบทั้ง 3 ชนิด มีความเป็นพิษมากที่สุดต่อเซลล์มะเร็ง LNCaP และ U373 สำหรับเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ ได้แก่ A431 BC1 Col2 HT KB KBV+ KBV LNCaP Lu1 Mel2 P-388 U373 และ ZR75-1 พบว่า สารประกอบ 32 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้น้อยกว่าสารประกอบ 30 และ 31

Polyalthia bullata

ปี ค.ศ. 1996 คอนนอลลี, เฮค และเคเดอรั (Connolly, Haque & Kadir. 1996 : 295 - 297) ได้ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia bullata* โดยสกัดด้วย ethyl acetate ใช้เครื่อง soxhlet จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับวิธี preparative TLC ได้สารชนิดใหม่ในกลุ่ม 7,7'-bisdehydroaporphine alkaloids 2 ชนิด คือ 7,7'-bisdehydro-O-methylisopiline (33) และ 7-dehydronornuciferinyl-7'-dehydro-O-methylisopiline (34) นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม bisdehydroaporphine alkaloid ได้แก่ urabaine (35)

Polyalthia cerasoides

ปี ค.ศ. 1985 แदन และคณะ (Dan, et al. 1985 : 73 - 76) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบและลำต้นของ *Polyalthia cerasoides* โดยสกัดด้วย alcohol ใช้เครื่อง soxhlet จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายใน ether นำส่วนที่ละลายใน ether ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบที่นำไปทดสอบด้วยวิธี Liebermann-Burchard และวิธี Salkowski พบว่าเป็นสารประกอบพวก sterol คือ α -spinasterol (36) และ β -sitosterol (37)

จนกระทั่งปี ค.ศ. 1995 กอนซาเลซ, เซอร์ราโน และคณะ (Gonzalez, Serrano, et al. 1995 : 1278 - 1284) ได้ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia cerasoides* โดยสกัดด้วย methanol นำสารสกัด methanol มาแบ่งส่วนการละลาย (partition) ระหว่าง dichloromethane กับ methanol ในอัตราส่วน 1 : 1 จากนั้นนำสารสกัด dichloromethane มาแยก และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม sesquiterpenebenzopyran ได้แก่ polycerasoidin (38) และ polycerasoidol (39)

ต่อมาปี ค.ศ. 1996 กอนซาเลซ, เซนแทนด์วู และคณะ (Gonzalez, Sentandreu, et al. 1996 : 1361 - 1364) ได้ทำการศึกษาต่อเนื่องโดยนำเปลือกของลำต้น *Polyalthia cerasoides* มาสกัดด้วย methanol นำสารสกัด methanol ที่ได้มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ benzopyran ชนิดใหม่ 2 ชนิด คือ (6E,10E)-

isopolycerasoidol (40) และ polycerasoidin methyl ester (41) และในปีเดียวกันนี้ ซาฟรา-โปโล และคณะ (Zafra-Polo, et al. 1996 : 913 - 916) ได้ทำการศึกษาต่อจากกอนซาเลซ และคณะ โดยนำสารสกัด methanol จากเปลือกของลำต้น *Polyalthia cerasoides* มาทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ benzopyran ชนิดใหม่ ชื่อ polyalthidin (42) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งลูกโซ่การหายใจของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยขัดขวางการขนส่งอิเล็กตรอนของไมโทคอนเดรีย โดยมีค่า $IC_{50} < 5 \mu M$

ต่อมาปี ค.ศ. 1997 กอนซาเลซ, ซาฟรา-โปโล และคณะ (Gonzalez, Zafra-Polo, et al. 1997 : 108 - 110) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia cerasoides* โดยนำสารสกัด methanol มาทำการแบ่งส่วนการละลายระหว่าง น้ำ กับ ethyl acetate จากนั้นนำสารสกัด ethyl acetate มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม 7,8-dihydro-8-oxoprotoberberine alkaloids ได้แก่ cerasodine (43) และ cerasonine (44)

Polyalthia cheliensis

ปี ค.ศ. 1995 ฮ่าว และคณะ (Hao, et al. 1995 : 447-448) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia cheliensis* โดยสกัดด้วย 95%EtOH นำสารสกัดที่ได้มาแบ่งส่วนการละลายด้วยน้ำ และ ethyl acetate จากนั้นนำสารสกัด ethyl acetate มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม clerodane diterpenes 2 ชนิด คือ 16 α -hydroxy-cleroda-4(18),13(14)Z-dien-15,16-olide (45) และ cleroda-4(18),13(14)E-dien-15-oic acid (46) และสารประกอบในกลุ่มเดียวกันที่รู้จักแล้วอีก 2 ชนิด คือ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (30) และ cleroda-3,13(14)E-dien-15-oic acid (47) จากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง พบว่าสารประกอบ 45 มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB โดยมีค่า IC_{50} เป็น 1.59 $\mu g/mL$

Polyalthia debilis

ปี ค.ศ. 2002 เกศแก้ว บุตรวงศ์ (2545 : บทคัดย่อ) ได้ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากส่วนรากของกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.) โดยทำการสกัดด้วย hexane และ methanol จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบสารประกอบ 4 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol (37) 3-O-acetylaleuritolic acid (48) suberosol (49) และ stigmasterol (50) โดยที่ 3-O-acetylaleuritolic acid (48) เป็นสารกลุ่ม triterpene ที่ยังไม่เคยมีรายงานในพืชสกุลนี้

ต่อมาปี ค.ศ. 2003 กนกเมธากุล, ยอดบดี และคณะ (Kanokmedhakul, Yodbuddee, et al. 2003 : 616 - 619) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากรากกล้วยเต่าโดยนำสารสกัด dichloromethane มาแยก และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม aporphine alkaloids 4 ชนิด ได้แก่ bis-7,7'-dehydroanonaine (51) 7-dehydroanonaine-7'-dehydro-8'-methoxyanonaine (52) bis-7,7'-dehydro-8,8'-dimethoxyanonaine (53) และ bis-7,7'-dehydro-10,10'-dimethoxyanonaine (54) และพบว่าสารประกอบ 53 และ 54 มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ได้ในระดับปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} เป็น 5.4 และ 4.1 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

Polyalthia evecta

ปี ค.ศ. 1998 กนกเมธากุล, โฮทานิ และคณะ (Kanokmedhakul, Hotani, et al. 1998 : 131 - 133) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากรากของ *Polyalthia evecta* โดยการสกัดด้วย hexane นำสารสกัด hexane ไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในพืชได้ จากนั้นนำสารสกัด hexane มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบชนิดใหม่ คือ evectic acid (55) (21-furan-heneicosa-5,7-diynoic acid)

Polyalthia insignis

ปี ค.ศ. 1997 ลี, ชาว และโกซ (Lee, Chuah & Goh. 1997 : 1253 - 1256) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia insignis* โดยนำสารสกัด ethanol มาทำการแบ่งส่วนการละลาย ในกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง จากนั้นทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH ได้สารสกัดหยาบแอลคาลอยด์นำสารสกัดที่ได้ไปแยก และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารชนิดใหม่ในกลุ่ม seco-benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ polysignine (56) และ methoxypolysignine (57) และยังพบสารประกอบ alkaloids อีก 4 ชนิด ได้แก่ O-methylmoschatoline (5) liriodenine (6) (-)-asimilobine (13) และ oxostephanine (58)

Polyalthia jenkensii

ปี ค.ศ. 2001 อี และคณะ (Ee, et al. 2001 : 27 - 30) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia jenkensii* โดยสกัดด้วย hexane และ methanol นำสารสกัด hexane และสารสกัด methanol ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของ *Aedes aegypti* ได้ในระดับปานกลาง โดยที่สารสกัด hexane มีค่า LC_{50} เป็น 102.9 $\mu\text{g/mL}$ และสารสกัด methanol มีค่า LC_{50} เป็น

132.7 $\mu\text{g/mL}$ จึงนำสารสกัด hexane ไปแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้ สารผสมของ sesquiterpenes เป็นส่วนใหญ่จึงนำของผสมเหล่านี้ไปแยกต่อโดยใช้เครื่อง GC ได้ สารประกอบพวก sesquiterpenes 8 ชนิด ได้แก่ α -amorphene (59) δ -cadinene (60) α -calacorene (61) 1,4-dimethyl-7(1-propyl)azulene (62) (+)-spatulenol (63) viridifloral (64) α -copaene (65) และ selin-11-en-4- α -ol (66)

Polyalthia lancilimba

ปี ค.ศ. 1998 ลู และคณะ (Lue, et al. 1998 : 2053 - 2056) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia lancilimba* โดยนำมาสกัดด้วย ethanol นำสารสกัดที่ได้มาแบ่งส่วนการละลาย ระหว่าง chloroform และน้ำ จากนั้นนำสารสกัด chloroform ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม 24-methylene tetracyclic triterpenes 2 ชนิด คือ 24-methylenelanosta-7,9(11)-dien-3 β ,15 α -diol (suberosol) (49) และ 24-methylenelanosta-8-en-2 β ,3 β ,21-triol (67)

Polyalthia longifolia

ปี ค.ศ. 1987 โกแยล และกุปตา (Goyal & Gupta. 1987 : 216 - 220) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบของต้นโอศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) โดยสกัดด้วย petroleum ether จากนั้นนำสารสกัดดังกล่าวไปแยก และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบในกลุ่ม triterpenes ได้แก่ β -sitosterol (37) stigmasterol (50) β -amyrin (68) α -amyrin (69) taraxasterol (70) และ campesterol (71) จากนั้นนำสารประกอบทั้งหมดที่แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* *Klebsiella Shigella dysenteriae* *Proteus vulgaris* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในหลอดทดลอง พบว่าสารประกอบ 68 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. vulgaris* ได้ดี และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้เล็กน้อย ส่วนสารประกอบ 50 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดี และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้เล็กน้อย แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้เลย

ปี ค.ศ. 1988 เฟดนิส และคณะ (Phadnis, et al. 1988 : 2899 - 2901) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบของต้นโอศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) โดยสกัดด้วย acetone จากนั้นนำสารสกัด acetone ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สารประกอบ 2 ชนิดในกลุ่ม clerodane diterpenes ได้แก่ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (30) และ 16-oxo-cleroda-3,13(14)E-dien-15-oic acid (72)

ปี ค.ศ. 1989 วู (Wu. 1989 : 463 - 475) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบของต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) โดยสกัดด้วย methanol นำสารสกัดที่ได้มาทำการแบ่งส่วนการละลายได้สารสกัดชั้น hexane สารสกัดชั้น chloroform และสารสกัดชั้น aqueous นำสารสกัดชั้น chloroform มาสกัดด้วย 3% HCl นำส่วนที่ละลายในกรดไฮโดรคลอริกมาทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH จากนั้นทำการสกัดด้วย chloroform อีกครั้ง ระเหยให้แห้ง นำกากที่เหลือไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม azafluorene alkaloid คือ polylongine (5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-4-azafluorene-9-ol) (**73**) และสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม aporphine alkaloids 3 ชนิด ได้แก่ (+)-O-methylbulbocapnine- β -N-oxide (**74**) (+)-O-methylbulbocapnine- α -N-oxide (**75**) และ (+)-N-methylnandigerine- β -N-oxide (**76**) อีกทั้งยังพบสารประกอบกลุ่มเดียวกันนี้ที่รู้จักแล้ว ได้แก่ liriodenine (**6**) (-)-oliveroline- β -N-oxide (**77**) anonaine (**78**) และ (+)-norlirioferine (**79**)

ปี ค.ศ. 1990 ชากราบาร์ตี และปาตรา (Chakrabarty & Patra. 1990 : 394 - 395) ได้นำเปลือกของต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) มาทำการสกัดด้วย petroleum ether และ 85% aq. EtOH โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัด EtOH มาสกัดด้วย chloroform จากนั้นนำสารสกัด petroleum ether และสารสกัด chloroform ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบพวก alkaloids 4 ชนิด ได้แก่ tetrahydroprotoberberine(-)-stepholidine (**80**) onychine (**81**) darienine (**82**) และ polyfothine (**83**) ซึ่งสารประกอบ **83** เป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่ ในปีเดียวกันนี้วู และ ดุซซ์ (Wu & Duh. 1990 : 1327 - 1331) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากลำต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) โดยนำมาทำการสกัดด้วย methanol จากนั้นนำมาทำการแบ่งส่วนการละลายด้วย *n*-hexane และ chloroform ตามลำดับ นำสารสกัด *n*-hexane และ chloroform ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB และ P-388 พบว่าสารสกัด chloroform มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB จากนั้นนำสารสกัด chloroform ที่ได้ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบในกลุ่ม aporphine alkaloids ได้แก่ liriodenine (**6**) noroliveroline (**84**) oliveroline- β -N-oxide (**85**) และสารในกลุ่ม azafluorene alkaloids ได้แก่ darienine (**82**) polyfothine (**83**) และ isooncodine (**86**) โดยสารประกอบ **83** และ **86** เป็นสารประกอบชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีการรายงานในพืชสกุลนี้

ปี ค.ศ. 1991 ชาว และคณะ (Zhao, et al. 1991 : 380 - 383) ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่แยกได้จากเปลือกของลำต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) โดยสกัดด้วย 95%EtOH นำสารสกัดมาแบ่งส่วนการละลายด้วย chloroform และน้ำ ส่วนที่ละลายใน chloroform นำมาทำการแบ่งส่วนการละลายอีกครั้งด้วย 90%MeOH/hexane นำสารสกัด methanol ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบพวก clerodane diterpene ชนิดใหม่ คือ 16-oxo-cleroda-3,13(14)Z-dien-15-oic acid หรือเรียกอีกชื่อว่า polyalthialdoic acid (**87**) และพบสารประกอบพวก diterpenes ที่รู้จักแล้ว 2 ชนิด คือ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (**30**) และ cleroda-3,13(14)E-dien-15-oic acid (**47**) จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารประกอบทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกในโรคมะเขือเทศ (crown gall) และยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้องอกของมนุษย์ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลอง ได้แก่ เซลล์มะเร็งปอด (A-549) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) ซึ่งสารประกอบ **87** แสดงการออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด โดยมีค่า ED₅₀ เป็น 6.84 x 10⁻¹ μ g/mL , 5.52 x 10⁻¹ μ g/mL และ 7.53 x 10⁻¹ μ g/mL ตามลำดับ

ปี ค.ศ. 1992 ชากราบาร์ตี และแนธ (Chakrabarty & Nath. 1992 : 256 - 258) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) นำมาสกัดด้วย petroleum ether โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัดมาแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบ diterpene ชนิดใหม่ประเภท γ -methoxybutenolide clerodane diterpene ได้แก่ 16 α -methoxy-cleroda-3,13Z-dien-16,15-olide (**88**)

ปี ค.ศ. 1995 ฮารา และคณะ (Hara , et al. 1995 : 189 – 194) ได้ศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) นำมาทำการสกัดด้วย hexane โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัด hexane ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์และโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ได้สารใหม่ในกลุ่ม clerodane diterpenes 3 ชนิด คือ 16 α -hydroxy-cleroda-4(18),13(14)Z-dien-15,16-olide (**45**) 16-oxocleroda-4(18),13E-dien-15-oic acid (**89**) cleroda-4(18),13-dien-16,15-olide (**90**) และสารใหม่ในกลุ่ม ent-halimane diterpenes 6 ชนิด คือ 16-hydroxy-ent-halima-5(10),13-dien-16,15-olide (**91**) ent-halima-5(10),13E-dien-15-oic acid (**92**) ent-halima-1(10),13E-dien-15-oic acid (**93**) 16-oxo-ent-halima-5(10),13E-dien-15-oic acid (**94**) ent-halima-5(10),13-dien-16,15-olide (**95**) ent-halima-1(10),13-dien-16,15-olide (**96**) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบในกลุ่ม clerodane diterpenes อีก 5 ชนิด คือ 16-hydroxy-cleroda-3,13-dien-

16,15-olide (97) cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (98) cleroda-4(18),13*E*-dien-15-oic acid (99) 16-oxocleroda-3,13-dien-16-oic acid (100) และ cleroda-3,13*Z*-dien-16,15-olide (101)

ปี ค.ศ. 2005 เมอร์ธี และคณะ (Murthy, et al. 2005 : 336 - 339) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยนำเมล็ดของต้นอโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia*) มาสกัดด้วย hexane จากนั้นนำสารสกัดไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ ได้สารประกอบพวก diterpenes 2 ชนิด ได้แก่ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)-*Z*-dien-15,16-olide (30) และ 16-oxo-cleroda-3,13(14)*E*-dien-15-oic acid (72) นำสารประกอบทั้ง 2 ชนิดไปทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่าสารประกอบ 30 มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดี เช่น *Escherichia coli* *Klebsiella aerogenes* *Pseudomonas aeruginosa* และ *Sarcina lutea* โดยมีค่า MICs ตั้งแต่ 0.78-1.5 $\mu\text{g/mL}$ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus polymyxa* *B.subtilis* โดยมีค่า MIC < 2 $\mu\text{g/mL}$ ส่วนสารประกอบ 72 มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 25-50 $\mu\text{g/mL}$

Polyalthia longifolia* var. *pendula

ปี ค.ศ. 1996 ราซิด และคณะ (Rashid, et al. 1996 : 79 - 81) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้นอโศกพม่า (*Polyalthia longifolia* var. *pendula*) ทำการสกัดด้วย petroleum ether โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัดที่ได้ไปแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธี vacuum liquid chromatography (VLC) ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบพวก diterpenes 3 ชนิด ได้แก่ cleroda-3,13(14)*E*-dien-15-oic acid (47) 16-oxo-cleroda-3,13(14)*E*-dien-15-oic acid (72) และ 16 β -hydroxy-cleroda-3,13-dien-15,16-olide (102) จากการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่าสารประกอบ 72 สามารถออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารประกอบ 47 และ 102 โดยที่สารประกอบ 72 มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *Staphylococcus aureus* *Streptococcus β -haemolyticus* *Sarcina lutea* *Bacillus cereus* *B. subtilis* *B. polymyxa* และ *B. megaterium* และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Shigella dysenteriae* *S. shiga* *S. boydii* *S. sonnei* *Escherichia coli* *Vibrio cholerae* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella typhi* A *S. typhi* B *S. typhi* B-52 *S. typhi* B-56 และ *S. typhi* B-62 โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 8-64 $\mu\text{g/mL}$ และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา พบว่าสารประกอบ 72 และ 102 ที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/disc}$ สามารถยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus fumigatus* *Saccharomyces caulbequence* *S. cerevaceae* *S. rosea* และ *Candida albicans* ได้

ต่อมาปี ค.ศ. 2000 เซน และคณะ (Chen, et al. 2000 : 1475 – 1478) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบของต้นโศกพม่า (*Polyalthia longifolia* var. *pendula*) โดยการสกัดด้วย methanol และนำสารสกัด methanol ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สารประกอบชนิดใหม่ 2 กลุ่ม คือกลุ่ม halimane diterpene ได้แก่ $3\beta,5\beta,16\alpha$ -trihydroxyhalima-13(14)-en-15,16-olide (**103**) และกลุ่ม oxoprotoberberine alkaloid ได้แก่ (-)-8-oxopolyalthiaine (**104**) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่นๆอีก ได้แก่ liriodenine (**6**) (-)-anonaine (**9**) (-)-asimilobine (**13**) (-)-stepholidine (**25**) β -sitosterol (**37**) stigmasterol (**50**) cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**98**) 16α -hydroxy-cleroda-3,13-dien-15,16-olide (**105**) 16-hydroxy-cleroda-3,13-dien-15-oic acid (**106**) 3,12*E*-kolavadien-15-oic acid-16-al (**107**) (4 $\rightarrow$ 2)-abeo-16*R*-2,13*Z*-kolavadien-15,16-olide-3-al (**108**) (4 $\rightarrow$ 2)-abeo-16*S*-2,13*Z*-kolavadien-15,16-olide-3-al (**109**) labd-13*E*-en-8-ol-15-oic acid (**110**) 1-aza-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydro-9,10-anthracenedione (**111**) 5-hydroxy-6-methoxyonychine (**112**) 6-hydroxy-7-methoxyonychine (**113**) oxoxylopine (**114**) (-)-norboldine (**115**) (+)-norboldine (**116**) (-)-norpallidine (**117**) และ *p*-hydroxybenzoic acid (**118**) จากการนำสารทั้งหมดที่แยกได้ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด คือ AGS (human gastric cancer cell) DLD1 (human colon cancer cell) HA59T (human hepatoma cell) HepG2 (human hepatoma cell) พบว่าสารประกอบ **105** มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง AGS และ HA59T ได้ในระดับปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} เป็น 26.9 และ 23.6 μ M และสารประกอบ **112** มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HA59T ได้ในระดับดี โดยมีค่า IC_{50} เป็น 21.7 μ M ส่วนสารประกอบ **9** มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด โดยมีค่า IC_{50} เป็น 8.6 , 28.9 , 16.4 และ 20.8 μ M ตามลำดับ

จนกระทั่งปี ค.ศ. 2003 ไฟซิ และคณะ (Faizi, et al. 2003 : 350 - 355) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากรากของต้นโศกพม่า (*Polyalthia longifolia* var. *pendula*) โดยการสกัดด้วย methanol จากนั้นนำสารสกัด methanol ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธี vacuum liquid chromatography (VLC) ควบคู่กับการทำ flash column chromatography (FCC) ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม alkaloids 3 ชนิด ได้แก่ pendulamine A (**119**) pendulamine B (**120**) penduline (**121**) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ stigmasterol 3-*O*- β -D-glucoside (**122**) และ allantoin (**123**) สารในกลุ่ม diterpene ได้แก่ cleroda-3,13(14)*E*-dien-15-oic acid (**47**) และสารกลุ่ม azafluorene alkaloid ได้แก่ isoursuline (**124**) จากนั้นนำ

สารประกอบที่แยกได้ทั้งหมดไปทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ พบว่าสารประกอบ **119** และ **120** มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus subtilis* *Corynebacterium hoffmanii* *Staphylococcus aureus* *Streptococcus faecalis* *Streptococcus pyogenes* *Streptococcus viridans* *Micrococcus lysodicklycus* โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 0.02-20 $\mu\text{g}/\text{disc}$ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae* *Pseudomonas aeruginosa* *Proteus mirabilis* *Salmonella paratyphi A* *Salmonella paratyphi B* *Salmonella typhi* โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 0.02-2 $\mu\text{g}/\text{disc}$

Polyalthia macropoda

ปี ค.ศ. 1990 ลาโวลต์ และคณะ (Lavault, et al. 1990 : 3845 - 3847) ได้นำส่วนเปลือกของลำต้น *Polyalthia macropoda* มาทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH จากนั้นสกัดด้วย chloroform แยกชั้น chloroform ออกมาแล้วระเหยให้แห้งได้สารสกัดหยาบแอลคาลอยด์ นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบ 4 ชนิด อยู่ในกลุ่ม aporphine alkaloids 3 ชนิด ได้แก่ liriodenine (**6**) (-)-oliveroline (**125**) และ (-)-N-oxyoliverine (**126**) และอยู่ในกลุ่ม benzyloquinoline alkaloid 1 ชนิด คือ (-)-coclaurine (**127**)

ต่อมาปี ค.ศ. 1991 ริคอมมี และคณะ (Richomme, et al. 1991 : 552 - 554) ได้ศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia macropoda* โดยนำมาสกัดไขมันออกด้วย hexane นำสารสกัด hexane มากรองตะกอนออกแล้วตกผลึกใน methanol ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม diterpene ได้แก่ (4S,9R,10R) methyl 18-carboxy-labda-8,13E-dien-15-oate (**128**) พบว่า สารประกอบ **128** สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อโปรโตซัว *Leishmania donovani donovani* ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองได้ 100% ที่ความเข้มข้น 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ โดยมีค่า LD_{50} เป็น 0.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$

***Polyalthia oliveri* Engl.**

ปี ค.ศ. 1974 ฮามองนิเช่, เลอเบิฟ และกาเว้ (Hamonniere, Leboeuf & Cave. 1974 : 921 - 924) ได้สกัดสารจากส่วนเปลือกของลำต้น *Polyalthia oliveri* นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ oliveridine (**129**) และ oliverine (**130**) ต่อมาปี ค.ศ. 1976 ฮามองนิเช่ และคณะ (Hamonniere, et al. 1976 : 1045 - 1047) นำสารสกัด petroleum ether จากส่วนเปลือกของลำต้นไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม triterpene ชื่อ polycarpol (15 α -hydroxyagnosterol) (**131**) และในปีเดียวกันนี้ เลอเบิฟ, ฮามองนิเช่

และกาเว้ (Leboeuf, Hamonniere & Cave. 1976 : 3559 - 3562) ทำการสกัดและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia oliveri* ได้สารประกอบชนิดใหม่ ได้แก่ polyalthenol (132)

Polyalthia sclerophylla

ปี ค.ศ. 1996 กอนซาเลซ, เซนแทนด์วู และคณะ (Gonzalez, Sentandreu, et al. 1996 : 1361 - 1364) ได้ทำการแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia sclerophylla* โดยนำมาสกัดด้วย methanol จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาแบ่งส่วนการละลาย ระหว่าง hexane และ methanol นำส่วนที่ละลายใน methanol มาสกัดด้วย dichloromethane จากนั้นนำสารสกัด dichloromethane ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบคือ polycerasoidin (38) polycerasoidol (39) (6E,10E)-isopolycerasoidol (40) และ trans-asarone (133)

Polyalthia stenopetala

ปี ค.ศ. 1990 ลาโวลต์ และคณะ (Lavault, et al. 1990 : 3845 - 3847) ได้นำส่วนเปลือกของลำต้น *Polyalthia stenopetala* มาทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH จากนั้นสกัดด้วย chloroform แยกชั้น chloroform ออกมาแล้วระเหยให้แห้งได้สารสกัดหยาบแอลคาลอยด์ นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบ 5 ชนิด อยู่ในกลุ่ม aporphine alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ liriodenine (6) และ oxostephanine (58) กลุ่ม azafluorene alkaloid 1 ชนิด ได้แก่ isoursuline (124) และอยู่ในกลุ่ม tetrahydroprotoberberines alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ (-)-discretamine (134) และ (-)-thaipetaline (135) โดยที่สารประกอบ 135 เป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่

***Polyalthia suaveolens* Engl. & Diels**

ปี ค.ศ. 1978 กาเว้ และคณะ (Cave, et al. 1978 : 243 - 250) ทำการสกัดสารจากส่วนเปลือกของลำต้น *Polyalthia suaveolens* พบสารประกอบกลุ่ม alkaloids 11 ชนิด ได้แก่ oxostephanine (58) oliveridine (129) oliverine (130) oliveroline (136) guatterine (137) pachypodanthine (138) polyalthine (139) polysuavine (140) noroliverine (141) lysicamine (142) และ olyveoline (143) จนกระทั่งปี ค.ศ. 1980 โอโโกไร (Okorie. 1980 : 2005 - 2008) สกัดและแยกสารจากลำต้น *Polyalthia suaveolens* ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม indolosesquiterpene alkaloids 3 ชนิด ได้แก่ polyavolensin (144) polyavolensinol (145) และ polyavolensinone (146) และต่อมาในปี ค.ศ. 1982 ฮาซาน, ฮีลเลย์ และวอเตอร์แมน (Hasan, Healey & Waterman. 1982 : 2807 - 2812) ได้นำส่วนเปลือกของลำต้น *Polyalthia suaveolens* มาสกัดด้วย light-petroleum จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำการแยกด้วยเทคนิค

preparative TLC ได้สารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่ คือ greenwayodendrin-3-one (147) ซึ่งทำการพิสูจน์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค X-ray crystallography

Polyalthia suberosa

ปี ค.ศ. 1985 แदन และคณะ (Dan, et al. 1985 : 73 - 76) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากใบและลำต้นของ *Polyalthia suberosa* โดยสกัดด้วย alcohol ใช้เครื่อง soxhlet จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายใน ether นำส่วนที่ละลายใน ether มาเติมกรด นำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบกลุ่ม coumarin คือ scopoletin (148) จากนั้นนำสารสกัดส่วนที่ไม่ละลายใน ether มาละลายด้วย ethyl acetate แล้วนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบ β -sitosterol (37) และ β -sitosterol- β -D-glucoside (149)

ปี ค.ศ. 1993 ลี และคณะ (Li, et al. 1993 : 1130 - 1133) ได้ศึกษาการแยกสารประกอบจากลำต้นและใบของ *Polyalthia suberosa* โดยนำมาสกัดด้วย ethanol และนำสารสกัด ethanol ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบสารชนิดใหม่ในกลุ่ม lanostane triterpene ได้แก่ suberosol (49) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มของเชื้อ HIV ในเซลล์ lymphocyte H9 มีค่า EC_{50} เป็น $3 \mu\text{g/mL}$

ปี ค.ศ. 1996 ซาไฮ และคณะ (Sahai, et al. 1996 : 510 - 511) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia suberosa* โดยสกัดด้วย petroleum ether และ methanol ใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัด methanol มาแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบ alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ 1-carbamoylpyrrolidin-2-one (150) และ tetrahydropalmatine (151)

ปี ค.ศ. 2000 ตูจินดา, พรหมโคตร และคณะ (Tuchinda, Pohmakotr, et al. 2000 : 1079 - 1082) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากลำต้น *Polyalthia suberosa* โดยการสกัดด้วย methanol ได้สารสกัด methanol ซึ่งนำมาสกัดอีกครั้งด้วย acetone ที่ร้อนโดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัด acetone ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ควบคู่กับ preparative PLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม azaanthracene alkaloid 1 ชนิด ได้แก่ 1-aza-9,10-dimethoxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroanthracene (kalasinamide) (152) นอกจากนี้ยังสามารถแยกสารประกอบได้อีก 2 ชนิด คือ *N-trans-feruloyltyramine* (153) และ *N-trans-coumaroyltyramine* (154) ต่อมาปี ค.ศ. 2001 ตูจินดา, รัชญาเจริญ และคณะ (Tuchinda, Thanyachareon, et al. 2001 : 572 - 575) ได้ทำการศึกษาต่อเนื่องโดยนำลำต้น *Polyalthia suberosa* มาทำการสกัดด้วย methanol ได้สารสกัด methanol ทำการสกัดซ้ำอีก

ครั้งด้วย acetone ที่ร้อนโดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัด acetone ที่ได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ควบคู่กับ preparative PLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม 2-substituted furans 2 ชนิด ได้แก่ 1-(2-furyl)pentacos-16,18-diyne (**155**) และ 23-(2-furyl)tricos-5,7-diyneic acid (**156**) จากนั้นนำสารประกอบทั้ง 2 ชนิด ที่แยกได้ในครั้งนี้และสารประกอบ **152**, **153** และ **154** ที่แยกได้ในครั้งก่อนไปทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase และความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัส $\Delta\text{Tat/Rev}$ MC99 พบว่าสารประกอบ **152**, **153** และ **156** สามารถยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase โดยมีค่า IC_{50} เป็น 153.9 $\mu\text{g/mL}$, 9.6 $\mu\text{g/mL}$ และ 39.9 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าสารประกอบทั้งหมดสามารถยับยั้งเชื้อไวรัส $\Delta\text{Tat/Rev}$ MC99 ได้ โดยสารประกอบ **152**, **153**, **154**, **155** และ **156** มีค่า ED_{50} เป็น 7.3 $\mu\text{g/mL}$, 3.2 $\mu\text{g/mL}$, < 3.9 $\mu\text{g/mL}$, 43.3 $\mu\text{g/mL}$ และ 8.9 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

Polyalthia sumatrana

ปี ค.ศ. 2001 อี และคณะ (Ee, et al. 2001 : 27 - 30) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia sumatrana* โดยสกัดด้วย hexane และ methanol นำสารสกัด hexane และสารสกัด methanol ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของ *Aedes aegypti* ได้ในระดับปานกลาง โดยที่สารสกัด hexane มีค่า LC_{50} เป็น 72.3 $\mu\text{g/mL}$ และสารสกัด methanol มีค่า LC_{50} เป็น 100.4 $\mu\text{g/mL}$ จึงนำสารสกัด hexane ไปแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สารผสมของ sesquiterpenes เป็นส่วนใหญ่จึงนำของผสมเหล่านี้ไปแยกต่อโดยใช้เครื่อง GC ได้สารประกอบพวก sesquiterpenes 14 ชนิด ได้แก่ α -amorphene (**59**) α -calacorene (**61**) viridifloral (**64**) α -curcumene (**157**) β -selinene (**158**) α -selinene (**159**) α -muurolene (**160**) β -bisabolene (**161**) 1S,cis-calamenene (**162**) azulene (**163**) γ -gurjunene (**164**) azulene-4-ol (**165**) α -cadinol (**166**) และ (+)-aromadendrene (**167**)

Polyalthia viridis

ปี ค.ศ. 1989 คิวโจว, พินโตและเฮิร์ต (Kijjoa, Pinto & Herz. 1989 : 205 - 206) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบจากเปลือกของลำต้น *Polyalthia viridis* โดยสกัดด้วย methanol นำสารสกัด methanol มาละลายใน chloroform กรองและระเหยให้แห้ง ทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (**30**) ต่อมาปี ค.ศ. 1990 คิวโจว, ตันติเสวี และคณะ (Kijjoa, Tantisewie, et al. 1990 : 653 - 655) ทำการศึกษาและแยกสารประกอบ

จากเปลือกลำต้นของ *Polyalthia viridis* โดยสกัดด้วย methanol นำสารสกัดที่ได้มาสกัดซ้ำด้วย chloroform นำสารสกัด chloroform ไปสกัดซ้ำอีกครั้งด้วย hexane ร้อน ระเหยให้แห้ง นำสารสกัด hexane ที่ได้ไปแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบกลุ่ม clerodane diterpenes ที่รู้จักแล้ว 2 ชนิด ได้แก่ 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide (**30**) และ cleroda-3,13(14)E-dien-15-oic acid (**47**) และสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่มเดียวกันอีก 5 ชนิด ได้แก่ (4 $\rightarrow$ 2)-abeo-16R-2,13Z-kolavadien-15,16-olide-3-al (**108**) (4 $\rightarrow$ 2)-abeo-16S-2,13Z-kolavadien-15,16-olide-3-al (**109**) 14,15-bisnor-3,11E-kolavadien-13-one (**168**) 16R-3,13Z-kolavadien-16,15-olide-2-one (**169**) และ 16S-3,13Z-kolavadien-16,15-olide-2-one (**170**)

จนกระทั่งปี ค.ศ. 1993 คิวโจว, พินโฮ และคณะ (Kijjoa, Pinho, et al. 1993 : 457 - 460) ทำการศึกษาต่อเนื่องจาก คิวโจว, พินโตและเอิร์ต โดยการนำ fraction ที่ได้จากการชะด้วย CHCl₃-hexane (9 : 1) รวมกับ fraction ที่ได้จากการชะด้วย CHCl₃-Me₂CO (19 : 1) จากนั้นทำการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ควบคู่กับการทำ preparative TLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม clerodane diterpene คือ 3,12E-kolavadien-15-oic acid-16-al (**107**)

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล *Polyalthia* spp. สามารถสรุปได้ในตาราง 3 และแสดงตัวอย่างโครงสร้างของสารที่สำคัญในกลุ่มต่าง ๆ ดังภาพประกอบ 2 3 และ 4

ตาราง 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล *Polyalthia* spp. บางชนิด

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia acuminata</i>	ลำต้น และใบ	1-29				(Abuzarga & Shamma. 1982 : 471-475)
<i>Polyalthia barnesii</i>	เปลือกของลำต้น		30-32		เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง A431, BC1, Col2, Mel2, KBV+, U373 KBV, Lu1, ZR75-1, HT P-388, KB, และ LNCaP	(Ma, et al. 1994 : 1659-1662)
<i>Polyalthia bullata</i>	เปลือกของลำต้น	33-35				(Connolly, Haque & Kadir. 1996 : 295-297)
<i>Polyalthia cerasoides</i>	ลำต้น และใบ		36,37			(Dan, et al. 1985 : 73-76)
	เปลือกของลำต้น			38,39		(Gonzalez, Serrano, et al. 1995 : 1278-1284)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia</i> <i>cerasoides</i>	เปลือก ของ ลำต้น			40,41		(Gonzalez, Sentandreu, et al. 1996 : 1361-1364)
	เปลือก ของ ลำต้น			42	มีฤทธิ์ยับยั้ง ลูกโซ่การ หายใจของ สัตว์เลี้ยงลูก ด้วยนมโดย ขัดขวางการ ขนส่ง อิเล็กตรอน ของไมโท คอนเดรีย	(Zafra-Polo, et al. 1996 : 913-916)
	เปลือก ของ ลำต้น	43,44				(Gonzalez, Zafra-Polo, et al. 1997 : 108-110)
<i>Polyalthia</i> <i>cheliensis</i>	เปลือก ของ ลำต้น		30,45-47		เป็นพิษต่อ เซลล์มะเร็ง KB	(Hao, et al. 1995 : 447- 448)
<i>Polyalthia</i> <i>debilis</i>	ราก		37,48-50			(เกษตรแก้ว บุตรวงศ์. 2545 : บทคัดย่อ)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia debilis</i>	ราก	51-54			มีฤทธิ์ต้านเชื้อ มาลาเรีย	(Kanokmed hakul, Yodbuddee, et al. 2003 : 616-619)
<i>Polyalthia evecta</i>	ราก			55	สารสกัด hexane มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา	(Kanokmed hakul, Hotani, et al. 1998 : 131-133)
<i>Polyalthia insignis</i>	เปลือกของลำต้น	5,6,13, 56-58				(Lee, Chuah & Goh. 1997 : 1253-1256)
<i>Polyalthia jenkensii</i>	เปลือกของลำต้น		59-66		สารสกัด hexane และสารสกัด methanol มีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของ <i>Aedes aegypti</i>	(Ee, et al. 2001 : 27-30)
<i>Polyalthia lancilimba</i>	เปลือกของลำต้น		49,67			(Lue, et al. 1998 : 2053-2056)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia longifolia</i>	ใบ		37,50, 68-71		มีฤทธิ์ใน การยับยั้ง แบคทีเรีย แกรมบวก และแกรม ลบ	(Goyal & Gupta. 1987 : 216-220)
	ใบ		30,72			(Phadnis, et al. 1988 : 2899-2901)
	ใบ	6,73-79				(Wu. 1989 : 463-475)
	เปลือก ของ ลำต้น	80-83				(Chakrabarty & Patra. 1990 : 394- 395)
	ลำต้น	6,82-86			สารสกัด CHCl ₃ มี ความเป็น พิษต่อ เซลล์มะเร็ง KB	(Wu & Duh. 1990 : 1327- 1331)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia longifolia</i>	เปลือก ของ ลำต้น		30,47,87		สามารถ ยับยั้งการ เจริญเติบโต ของเนื้องอก ในโรคมะเร็ง เตตและมี ความเป็น พิษต่อ เซลล์มะเร็ง A-549, MCF-7, HT-29	(Zhao, et al. 1991 : 380- 383)
	เปลือก ของ ลำต้น		88			(Chakra- barty & Nath. 1992 : 256- 258)
	เปลือก ของ ลำต้น		45,89-101			(Hara, et al. 1995 : 189- 194)
	เมล็ด		30,72		-มีฤทธิ์ใน การยับยั้ง แบคทีเรีย แกรมบวก และแกรมลบ -มีฤทธิ์ต้าน เชื้อรา	(Murthy, et al. 2005 : 336-339)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia longifolia</i> var. <i>pendula</i>	เปลือก ของ ลำต้น		47,72,102		-มีฤทธิ์ใน การยับยั้ง แบคทีเรีย แกรมบวก และแกรม ลบ -มีฤทธิ์ต้าน เชื้อรา	(Rashid, et al. 1996 : 79-81)
	ใบ	6,9,13, 25,104, 111-117	37,50,98, 103, 105-110	118	มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง AGS,DLD1, HA59T และ HepG2	(Chen, et al. 2000 : 1475-1478)
	ราก	119-121, 123,124	47,122		มีฤทธิ์ใน การยับยั้ง แบคทีเรีย แกรมบวก และแกรม ลบ	(Faizi, et al. 2003 : 350-355)
<i>Polyalthia macropoda</i>	เปลือก ของ ลำต้น	6, 125-127				(Lavault, et al. 1990 : 3845-3847)

ตาราง 3 (ต่อ)

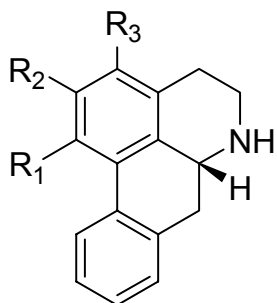
ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia macropoda</i>	เปลือกของลำต้น		128		สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อโปรโตซัว	(Richomme, et al. 1991 : 552-554)
<i>Polyalthia oliveri</i> Engl.	เปลือกของลำต้น	129,130				(Hamonniere, Leboeuf & Cave. 1974 : 921-924)
	เปลือกของลำต้น		131			(Hamonniere, et al. 1976 : 1045 - 1047)
	เปลือกของลำต้น	132				(Leboeuf, Hamonniere & Cave. 1976 : 3559-3562)
<i>Polyalthia sclerophylla</i>	เปลือกของลำต้น			38-40, 133		(Gonzalez, Sentandreu, et al. 1996 : 1361-1364)
<i>Polyalthia stenopetala</i>	เปลือกของลำต้น	6,58,124, 134,135				(Lavault, et al. 1990 : 3845-3847)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia</i> <i>suaveolens</i> Eng.& Diels	เปลือก ของ ลำต้น	58,129, 130, 136-143				(Cave, et al. 1978 : 243- 250)
	ลำต้น	144-146				(Okorie. 1980 : 2005-2008)
	เปลือก ของ ลำต้น	147				(Hasan, Healey & Waterman. 1982 : 2807- 2812)
<i>Polyalthia</i> <i>suberosa</i>	ลำต้น และใบ ลำต้น และใบ		37,149	148		(Dan, et al. 1985 : 73-76)
			49		มีฤทธิ์ในการ ยับยั้งการ เพิ่มของเชื้อ HIV ในเซลล์ lymphocyte H9	(Li, et al. 1993 : 1130- 1133)
	เปลือก ของ ลำต้น ลำต้น	150,151 152-154				(Sahai, et al. 1996 : 510- 511)
					-ยับยั้งเชื้อ HIV-1 -ยับยั้งเชื้อ ไวรัส	(Tuchinda, Pohmakotr, et al. 2000 : 1079-1082)

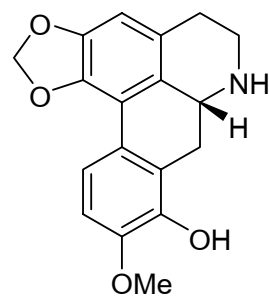
ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วน	สารที่พบ			ฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		alkaloids	terpenoids	กลุ่มอื่นๆ		
<i>Polyalthia suberosa</i>	ลำต้น			155,156	-ยับยั้งเชื้อ HIV-1 -ยับยั้งเชื้อไวรัส	(Tuchinda, Thanyacha reon, et al. 2001 : 572-575)
<i>Polyalthia sumatrana</i>	เปลือกของลำต้น		59,61,64, 157-167		สารสกัด hexane และสารสกัด methanol มีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของ <i>Aedes aegypti</i>	(Ee, et al. 2001 : 27-30)
<i>Polyalthia viridis</i>	เปลือกของลำต้น		30			(Kijjoa, Pinto & Herz. 1989 : 205-206)
	เปลือกของลำต้น		30,47,108, 109, 168-170			(Kijjoa, Tantisewie, et al. 1990 : 653-655)
	เปลือกของลำต้น		107			(Kijjoa, Pinho, et al. 1993 : 457-460)

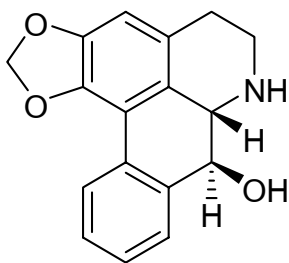


1 $R_1 = R_3 = \text{OMe}, R_2 = \text{OH}$

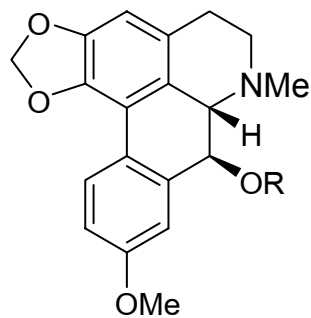
2 $R_1 = R_2 = \text{OMe}, R_3 = \text{OH}$



3

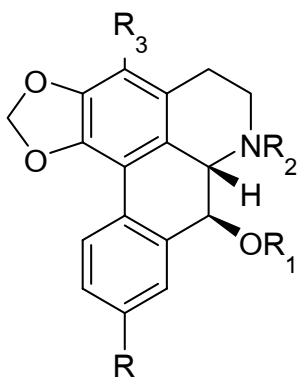


4



129 $R = \text{H}$

130 $R = \text{Me}$



136 $R = R_1 = R_3 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$

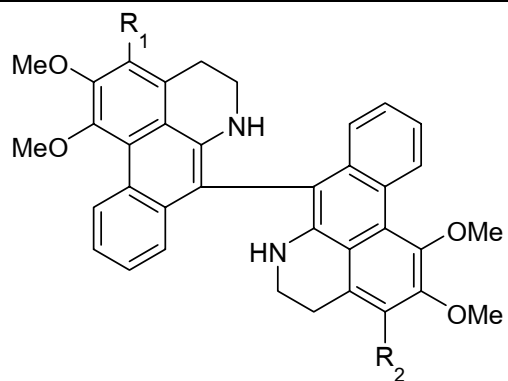
137 $R = R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}, R_3 = \text{OMe}$

138 $R = R_2 = R_3 = \text{H}, R_1 = \text{Me}$

139 $R = R_3 = \text{OMe}, R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$

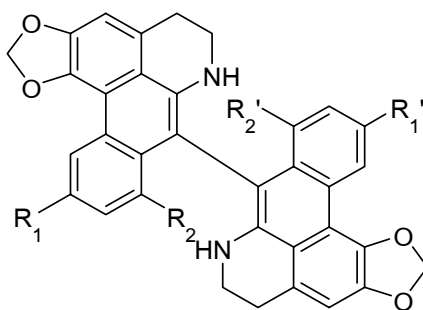
140 $R = \text{OH}, R_1 = R_2 = \text{Me}, R_3 = \text{H}$

141 $R = \text{OMe}, R_1 = \text{Me}, R_2 = R_3 = \text{H}$



33 $R_1 = R_2 = \text{OMe}$

34 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OMe}$

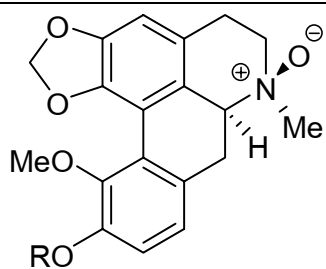


51 $R_1 = R_1' = R_2 = R_2' = \text{H}$

52 $R_1 = R_1' = R_2 = \text{H}, R_2' = \text{OMe}$

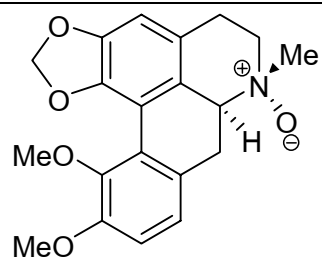
53 $R_1 = R_1' = \text{H}, R_2 = R_2' = \text{OMe}$

54 $R_1 = R_1' = \text{OMe}, R_2 = R_2' = \text{H}$



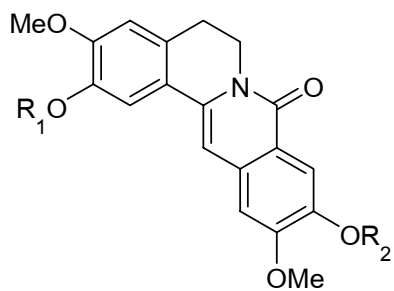
74 $R = \text{Me}$

76 $R = \text{H}$



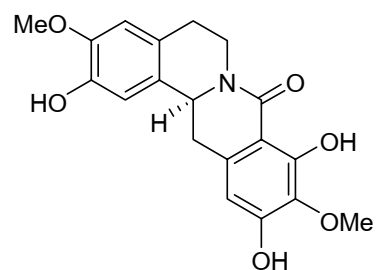
75

ภาพประกอบ 2 (ต่อ)

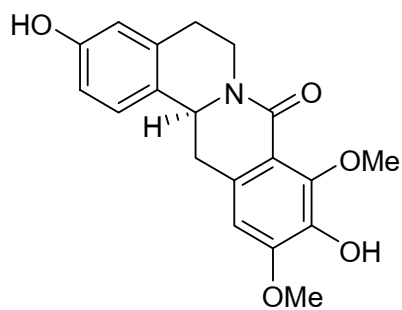


43 $R_1 = R_2 = H$

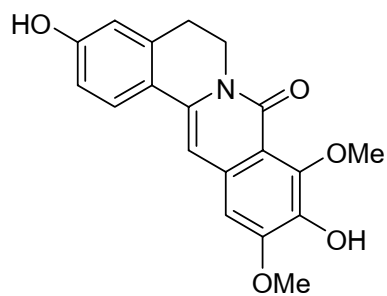
44 $R_1 = H, R_2 = Me$



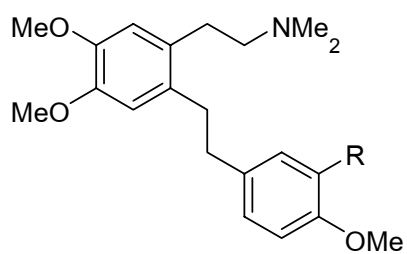
104



119

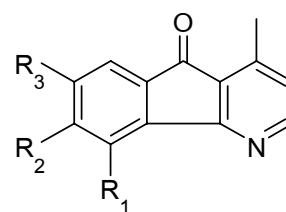


120



56 $R = H$

57 $R = OMe$

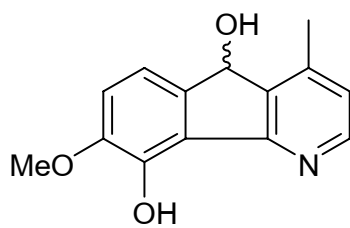


81 $R_1 = R_2 = R_3 = H$

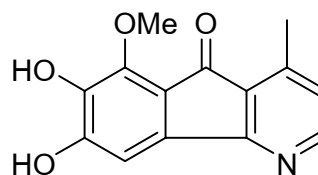
82 $R_1 = R_2 = OMe, R_3 = OH$

83 $R_1 = H, R_2 = R_3 = OMe$

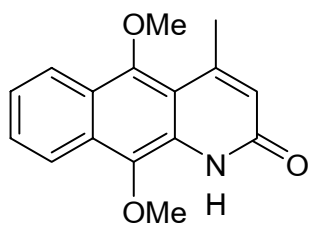
86 $R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = OH$



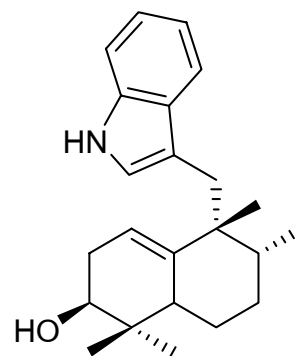
73



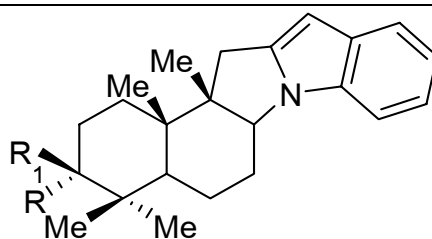
121



152



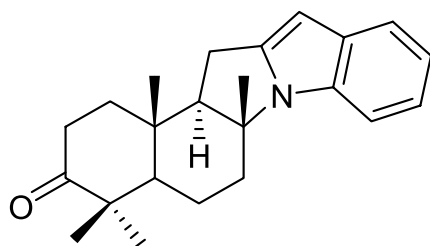
132



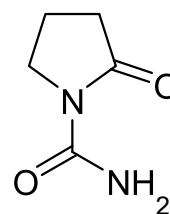
144 $R = \text{OAc}$, $R_1 = \text{H}$

145 $R = \text{OH}$, $R_1 = \text{H}$

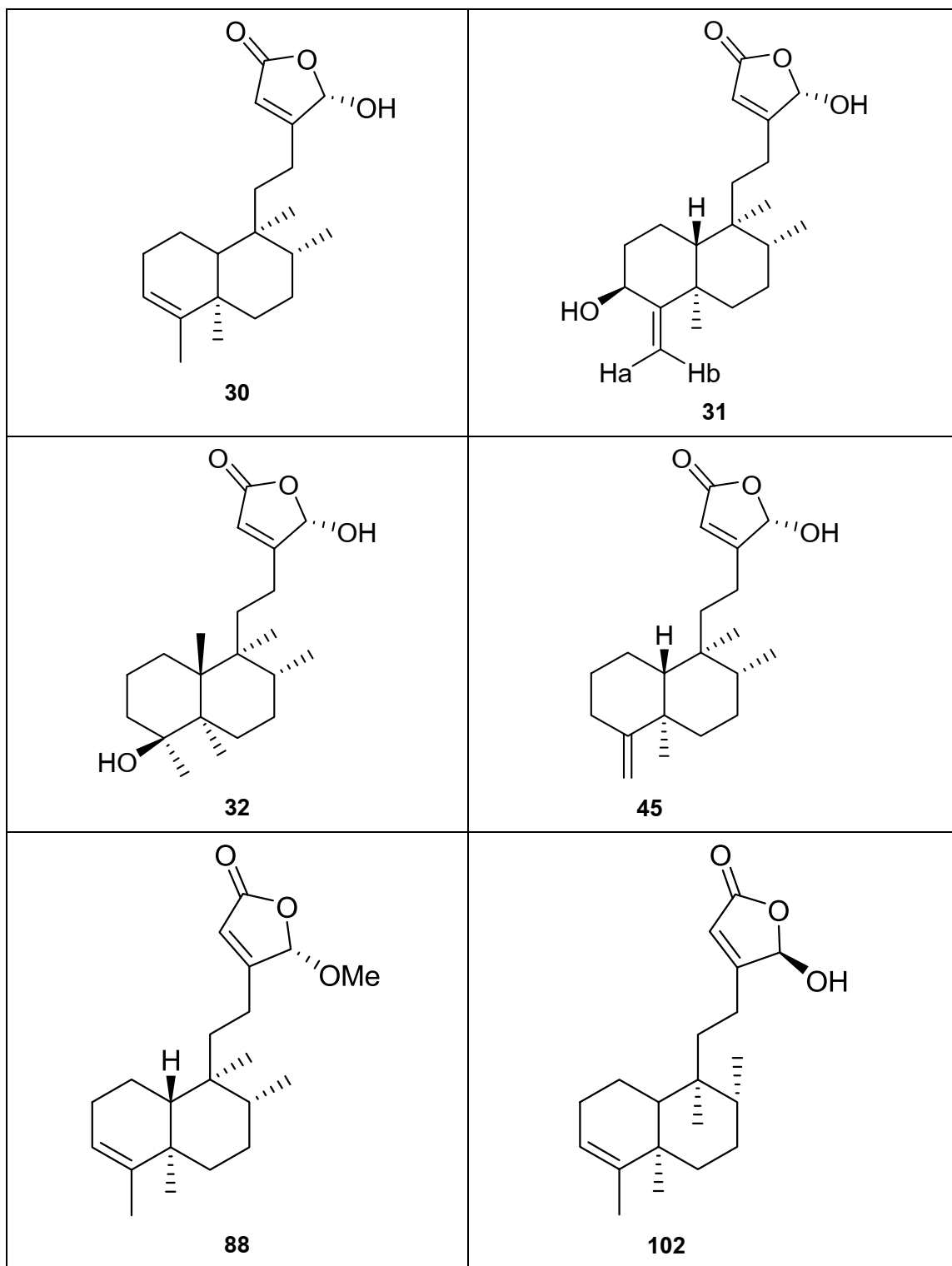
146 $R = R_1 = \text{O}$



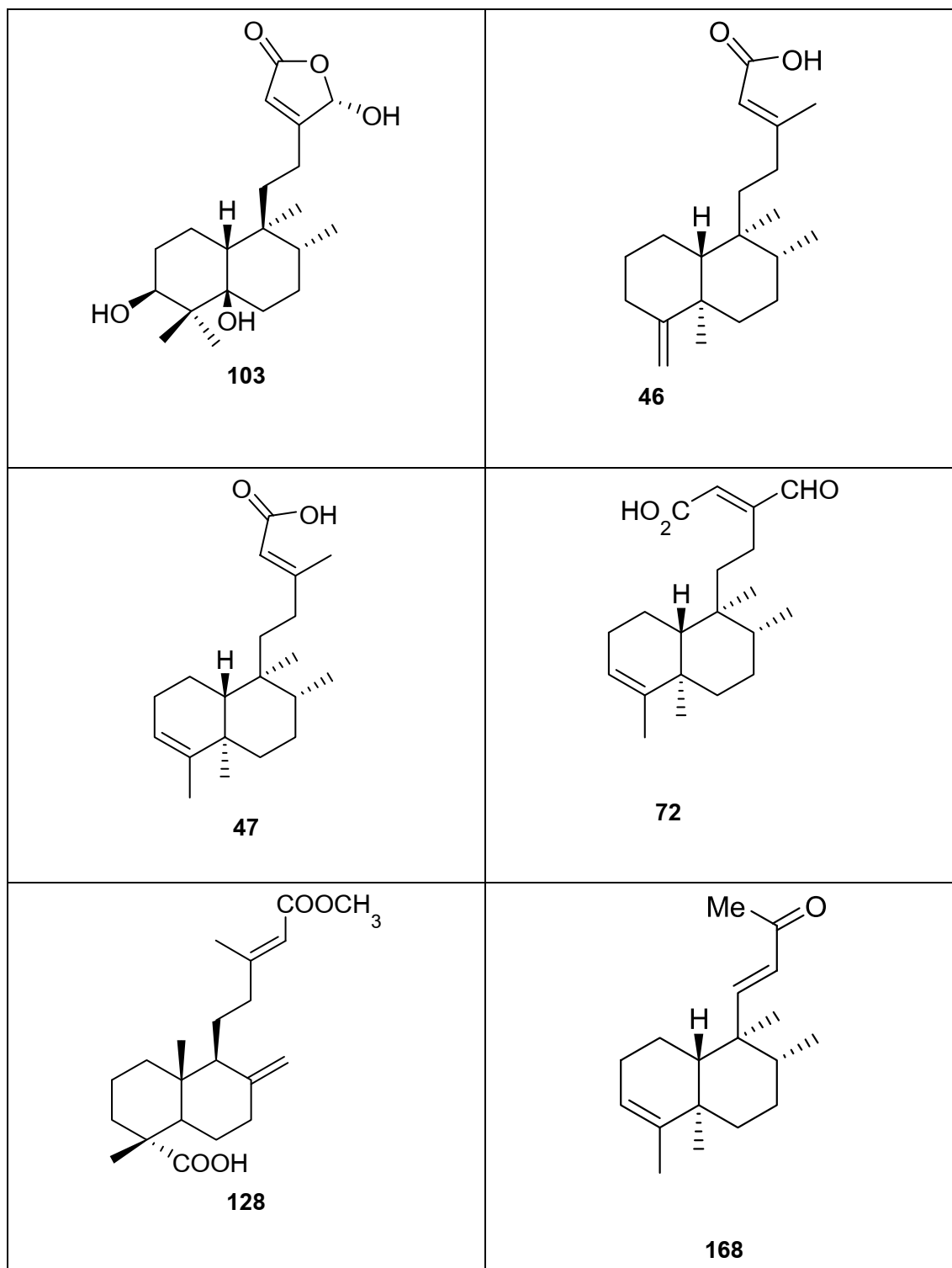
147

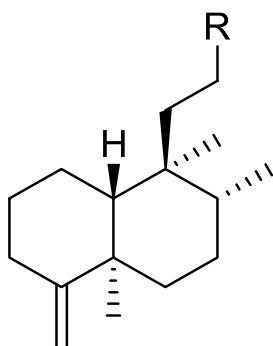
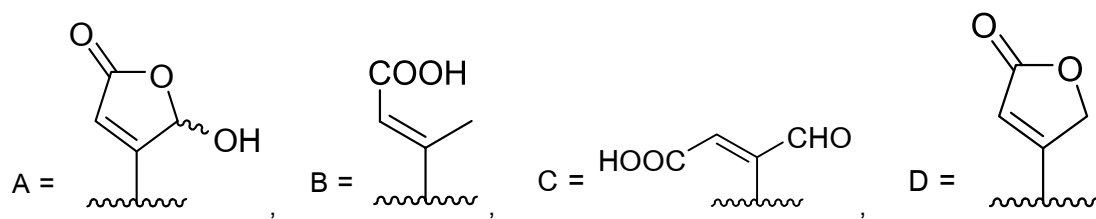


150



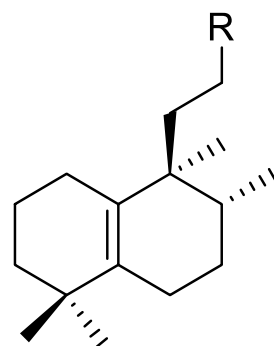
ภาพประกอบ 3 โครงสร้างของสารในกลุ่ม terpenes จากพืชสกุล *Polyalthia* spp. บางชนิด





89 $R = C$

90 $R = D$

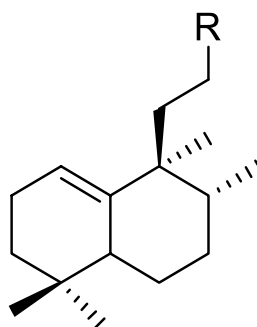


91 $R = A$

92 $R = B$

94 $R = C$

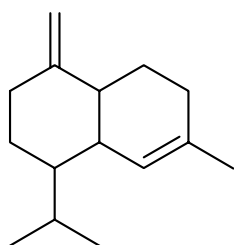
95 $R = D$



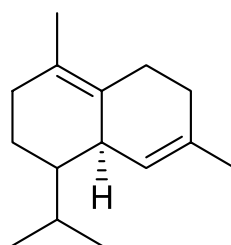
93 $R = B$

96 $R = D$

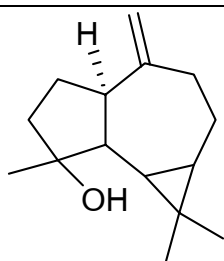
ภาพประกอบ 3 (ต่อ)



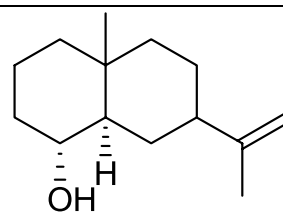
59



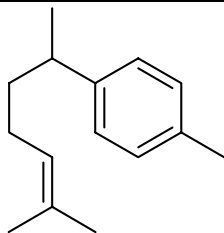
60



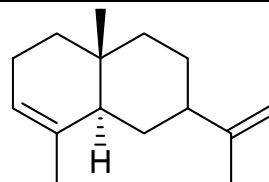
63



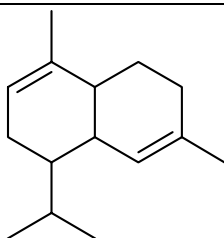
66



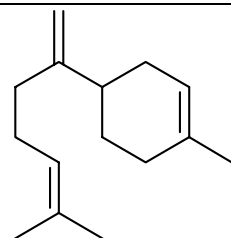
157



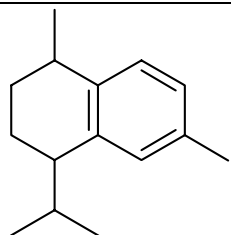
159



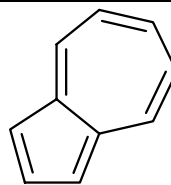
160



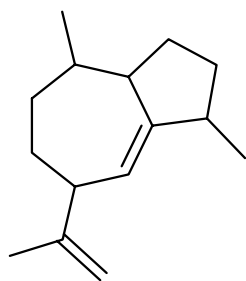
161



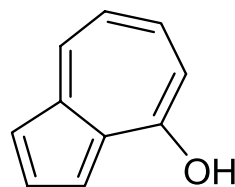
162



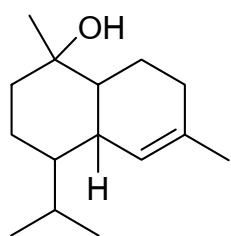
163



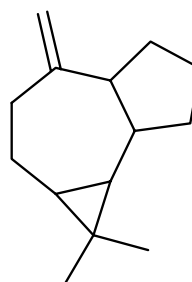
164



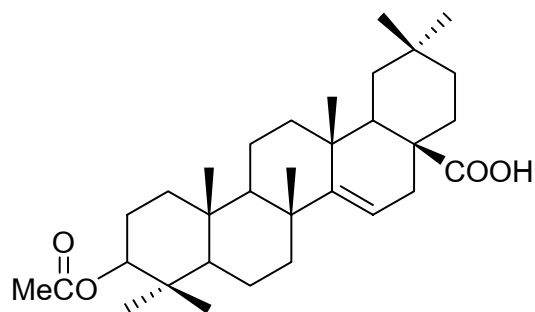
165



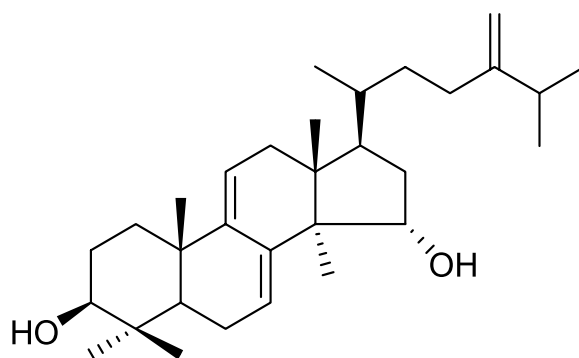
166



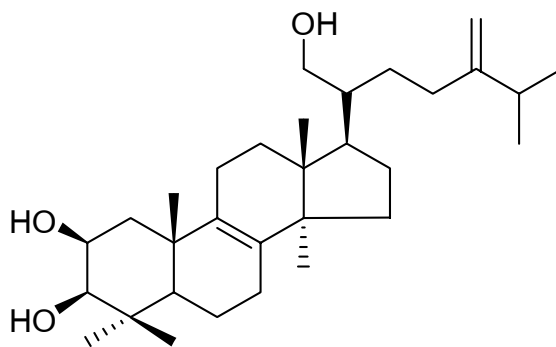
167



48

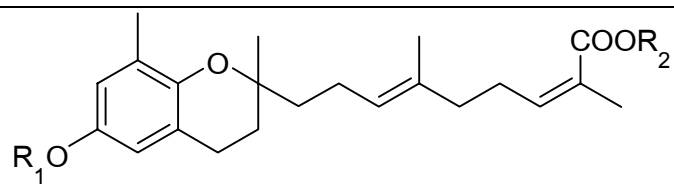


49



67

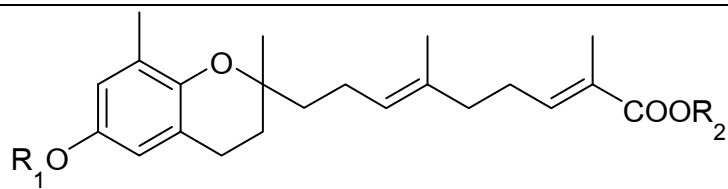
ภาพประกอบ 3 (ต่อ)



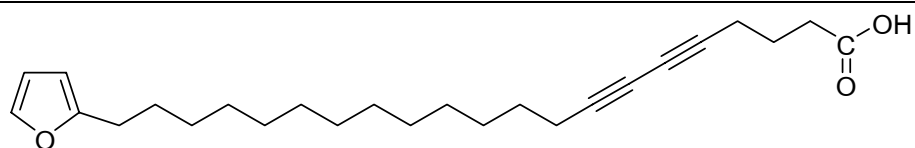
38 $R_1 = \text{Me}$, $R_2 = \text{H}$

39 $R_1 = R_2 = \text{H}$

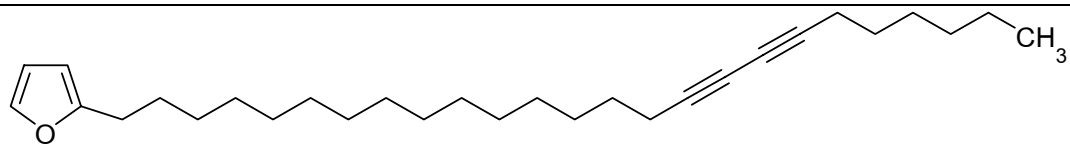
41 $R_1 = R_2 = \text{Me}$



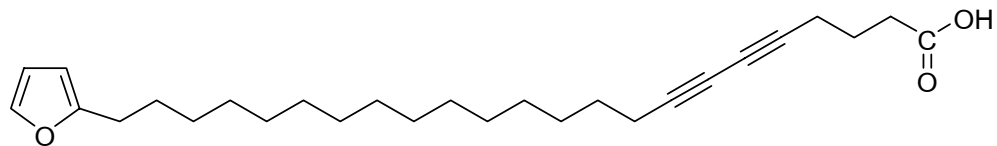
40 $R_1 = R_2 = \text{H}$



55



155



156

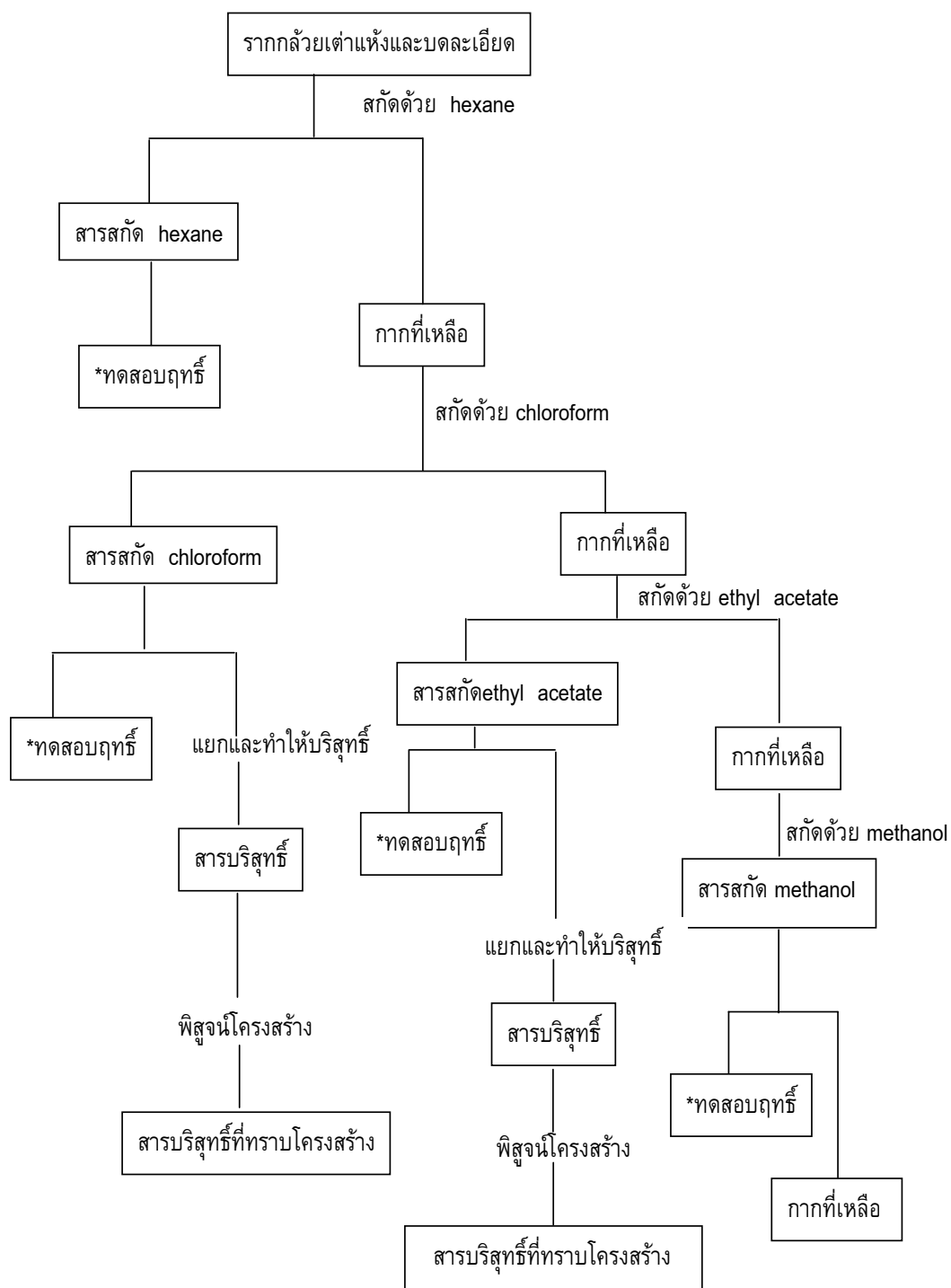
ภาพประกอบ 4 โครงสร้างของสารในกลุ่มอื่น ๆ จากพืชสกุล *Polyalthia* spp. บางชนิด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 3 ส่วน ดังนี้

1. การสกัดสารจากรากกล้วยเต่าโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ และนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งที่ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. นำสารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) และสารสกัดเอทิลแอซิเตต (PE) มาแยกและทำให้บริสุทธิ์
3. ศึกษาสมบัติทางกายภาพ และวิเคราะห์โครงสร้างของสารองค์ประกอบหลักที่แยกได้



*ทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ต้านเซลล์มะเร็งและต้านจุลชีพ

ภาพประกอบ 5 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี

วัสดุและสารเคมี

1. รากกล้วยเต่าแห้ง
2. ตัวทำละลายอินทรีย์(กลั่น)
3. silica gel
 - 3.1 สำหรับ column chromatography
 - silica gel (<0.063 mm, Merck 1.07729)
 - silica gel (0.063 – 0.200 mm, Merck 1.07734)
 - 3.2 silica gel สำหรับ thin – layer chromatography (TLC)
 - silica gel 60GF₂₅₄ (Merck 1.07730)
 - 3.3 silica gel สำหรับ quick column chromatography (QCC)
 - silica gel 60GF₂₅₄ (Merck 1.07730) (Pedersen & Rosenbohm. 2001 : 2431-2434)
4. developing reagent (anisaldehyde : conc.H₂SO₄ : glacial acetic acid : methanol ในอัตราส่วน 0.50 : 8.00 : 10.00 : 85.00) (Jork, et al. 1990 : 196)
5. pre-coated TLC aluminium sheets of silica gel 60GF₂₅₄ (Merck 1.05554)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน
2. คอลัมน์แก้วขนาดต่างๆ
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. หลอดอัลตราไวโอเลต (Spectroline ENF – 260 C/F)
5. เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Griffin)
6. เครื่องบดสมุนไพร
7. Glass drying oven (Buchi B-580)
8. Rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-114)
9. UV-VIS Spectrophotometer (Shimadzu UV-2401PC)
10. Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (Perkin Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer)
11. Mass Spectrometer (Finnigan MAT 90, Finnigan MAT GCQ)
12. Nuclear Magnetic Resonance spectrometer (Bruker Avance 300 MHz และ Bruker Avance 600 MHz)

การสกัดสารจากรากกล้วยเต่าแห้ง การแยกและการทำสารให้บริสุทธิ์

1. วิธีการสกัดสาร

ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยแช่รากกล้วยเต่าแห้งบดละเอียด 6 กิโลกรัมใน ตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ (ภาพประกอบ 5)

1.1 การสกัดสารด้วยเฮกเซน

แช่รากกล้วยเต่าแห้งบดละเอียด 6 กิโลกรัม ในเฮกเซน 6 ลิตร 7 วัน กรอง สารละลายที่ได้แล้วทำให้เข้มข้นโดยระเหยเฮกเซนออกด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิห้อง ได้สารสกัดเฮกเซน นำกากที่เหลือมาแช่ในเฮกเซน ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมสารสกัดเฮกเซน ทั้งหมดเข้าด้วยกัน ชั่งน้ำหนักสารสกัดเฮกเซน (PH)

1.2 การสกัดสารด้วยคลอโรฟอร์ม

กากที่เหลือจากการสกัดด้วยเฮกเซน นำมาแช่ในคลอโรฟอร์ม ดำเนินการ เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ชั่งน้ำหนักสารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC)

1.3 การสกัดสารด้วยเอทิลแอซิเตต

กากที่เหลือจากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม นำมาแช่ในเอทิลแอซิเตต ดำเนินการ เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ชั่งน้ำหนักสารสกัดเอทิลแอซิเตต (PE)

1.4 การสกัดสารด้วยเมทานอล

กากที่เหลือจากการสกัดด้วยเอทิลแอซิเตต นำมาแช่ในเมทานอล ดำเนินการ เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ชั่งน้ำหนักสารสกัดเมทานอล (PM)

1.5 นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ที่ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะ เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2. วิธีการแยกสาร และการทำสารให้บริสุทธิ์

การวิจัยนี้จะศึกษาการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเอทิลแอซิเตต

2.1 การแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มและทำสารให้บริสุทธิ์ (ภาพประกอบ 6

และ ตาราง 5)

นำสารสกัดคลอโรฟอร์ม 100 กรัม มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ขนาด 10 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร) 1,000 กรัม แล้วชะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล โดยเพิ่ม สภาพชั่วคราวละ 10% จนถึง 100% เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 786 fractions นำแต่ละส่วนที่ได้รวมเป็นกลุ่มๆ ตรวจสอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (TLC) การหาตำแหน่งของสารบนแผ่น TLC ทราบได้จากการมองเห็นภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV ; 254 และ/หรือ 365 นาโนเมตร) หรือการแสดงผลกับ developing reagent บนแผ่น TLC

เมื่อนำไปให้ความร้อนที่ 80-120 °C นาน 1-2 นาที จะปรากฏสีที่แตกต่างกัน รวมส่วนที่ ให้ผล TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำสารแต่ละกลุ่มที่รวมได้ไประเหยตัวทำละลายให้แห้ง และนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (CC) สารทั้งหมดที่ได้ 9 กลุ่ม ดังนี้

2.1.1 กลุ่ม PC-1 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง (0.06 กรัม) ะออกมา ด้วยเฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (40 : 60)

2.1.2 กลุ่ม PC-2 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (0.99 กรัม) ะออกมาด้วย เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (30 : 70)

2.1.3 กลุ่ม PC-3 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (1.5 กรัม) ะออกมาด้วย ไดคลอโรมีเทน นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ขนาด 3 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 25 กรัม ะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน - ไดคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 320 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย (ตาราง 6)

สารกลุ่มย่อย PC-3.3 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง (259.7 มิลลิกรัม) ะออกมาด้วย เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (50 : 50) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ คอลัมน์ ขนาด 2 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 12 กรัม ะ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-เอทิลแอซิเตต โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึง เมทานอล เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 144 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต รวมสารที่ แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 11 กลุ่มย่อย (ตาราง 7)

สารกลุ่มย่อย PC-3.3.6 (14.5 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสี ขาว ได้จากการะออกมาด้วย เฮกเซน-เอทิลแอซิเตต (97 : 3) ซึ่งเป็นสารผสม **IA** และ **IB**

สารกลุ่มย่อย PC-3.5 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองปนเขียว (422.3 มิลลิกรัม) ะออกมาด้วย เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (46 : 54) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ ขนาด 3 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 25 กรัม ะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึง เมทานอล เก็บส่วนละ 20 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 172 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต รวมสารที่ แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย (ตาราง 8)

สารกลุ่มย่อย PC-3.5.1 (30.4 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสี ขาว ได้จากการะออกมาด้วย เฮกเซน- ไดคลอโรมีเทน (80 : 20) ซึ่งเป็นสารผสม **IA** และ **IB**

2.1.4 กลุ่ม PC-4 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (5.2 กรัม) ซะออกมาด้วย ไคคลอโรมีเทน-เอทิลแอซิเตต (90 : 10)

2.1.5 กลุ่ม PC-5 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (5.1 กรัม) ซะออกมาด้วย ไคคลอโรมีเทน-เอทิลแอซิเตต (90 : 10) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 5 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร) 200 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเอทิลแอซิเตต เก็บส่วนละ 50 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 116 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย (ตาราง 9)

สารกลุ่มย่อย PC-5.2 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล (2.5 กรัม) ซะออกมาด้วย เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน (20 : 80) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 4 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 50 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 50 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 100 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย (ตาราง 10)

สารกลุ่มย่อย PC-5.2.3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (188.0 มิลลิกรัม) ซะออกมาด้วย เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน (73 : 27) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 2 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 10 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 3 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 391 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 12 กลุ่มย่อย (ตาราง 11)

สารกลุ่มย่อย PC-5.2.3.1 (6.7 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้จากการซะออกมาด้วย เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน (80 : 20) ซึ่งเป็นสารผสม **IA** และ **IB**

2.1.6 กลุ่ม PC-6 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (17.0 กรัม) ซะออกมาด้วย ไคคลอโรมีเทน-เอทิลแอซิเตต (80 : 20) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 7 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (0.063-0.200 มิลลิเมตร) 600 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-ไคคลอโรมีเทน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 361 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย (ตาราง 12)

สารกลุ่มย่อย PC-6.6 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล (15.1 กรัม) ซะออกมาด้วย ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (99 : 1) แบ่งมา 5 กรัม นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 5 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 55 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-อะซีโตน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 70 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 160 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 11 กลุ่มย่อย (ตาราง 13)

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.2 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง (6.6 มิลลิกรัม) ซะออกมาด้วย เฮกเซน-อะซีโตน (98 : 2) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 1 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 1.5 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-อะซีโตน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 2 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 36 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 3 กลุ่มย่อย (ตาราง 14)

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.2.1 (1.5 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ได้จากการชะออกมาด้วย เฮกเซน-อะซีโตน (98 : 2) ซึ่งเป็นสารประกอบ II

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.3 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง (5.9 มิลลิกรัม) ซะออกมาด้วย เฮกเซน-อะซีโตน (98 : 2) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 1 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 1.5 กรัม ซะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เฮกเซน-อะซีโตน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 2 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 31 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย (ตาราง 15)

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.3.1 (1.7 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ได้จากการชะออกมาด้วย เฮกเซน-อะซีโตน (95 : 5) ซึ่งเป็นสารประกอบ III

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.7 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีส้ม (350.0 มิลลิกรัม) ซะออกมาด้วยเฮกเซน-อะซีโตน (92 : 8) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ขนาด 2.5 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 20 กรัม ซะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-อะซีโตน โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 140 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย (ตาราง 16)

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.7.1 (237.0 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้จากการชะออกมาด้วย เฮกเซน-อะซีโตน (90 : 10) ซึ่งเป็นสารประกอบ **IV**

2.1.7 กลุ่ม PC-7 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (17.4 กรัม) ชะออกมาด้วย ไดคลอโรมีเทน-เอทิลเอซิเตต (70 : 30)

2.1.8 กลุ่ม PC-8 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีดำ (3.6 กรัม) ชะออกมาด้วย ไดคลอโรมีเทน-เอทิลเอซิเตต (20 : 80)

2.1.8 กลุ่ม PC-9 มีลักษณะเป็นของแข็งสีดำ (28.7 กรัม) ชะออกมาด้วย เอทิลเอซิเตต-เมทานอล (80 : 20)

2.2 การแยกสารสกัดเอทิลเอซิเตต และทำให้บริสุทธิ์ (ภาพประกอบ 7 และตาราง 17)

นำสารสกัดเอทิลเอซิเตต 36.0 กรัม มีลักษณะเป็นสารเหนียวสีน้ำตาลดำ มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยคิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄ , 120 กรัม) แล้วชะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลเอซิเตต และเมทานอล โดยเพิ่มสภาพขั้วครั้งละ 10% จนถึง 100% เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 230 fractions นำแต่ละส่วนที่เก็บได้รวมเป็นกลุ่มๆ ตรวจสอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (TLC) การหาตำแหน่งของสารบนแผ่น TLC ทราบได้จากการมองเห็นภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV ; 254 และ/หรือ 365 นาโนเมตร) หรือการแสดงผลกับ developing reagent บนแผ่น TLC เมื่อนำไปให้ความร้อนที่ 80-120 °C นาน 1-2 นาที จะปรากฏสีที่แตกต่างกัน รวมส่วนที่ให้ผล TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน แต่ละกลุ่มที่รวมได้ นำไประเหยตัวทำละลายให้แห้ง กลุ่มสารต่างๆที่ได้นำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (CC) กลุ่มสารทั้งหมดที่แยกได้มี 5 กลุ่มใหญ่

2.2.1 กลุ่ม PE-1 มีลักษณะเป็นสารคล้ายขี้ผึ้งสีเหลืองอ่อน (0.2 กรัม) ชะออกมาด้วย เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (70 : 30)

2.2.2 กลุ่ม PE-2 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล (1.3 กรัม) ชะออกมาด้วยเฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (60 : 40)

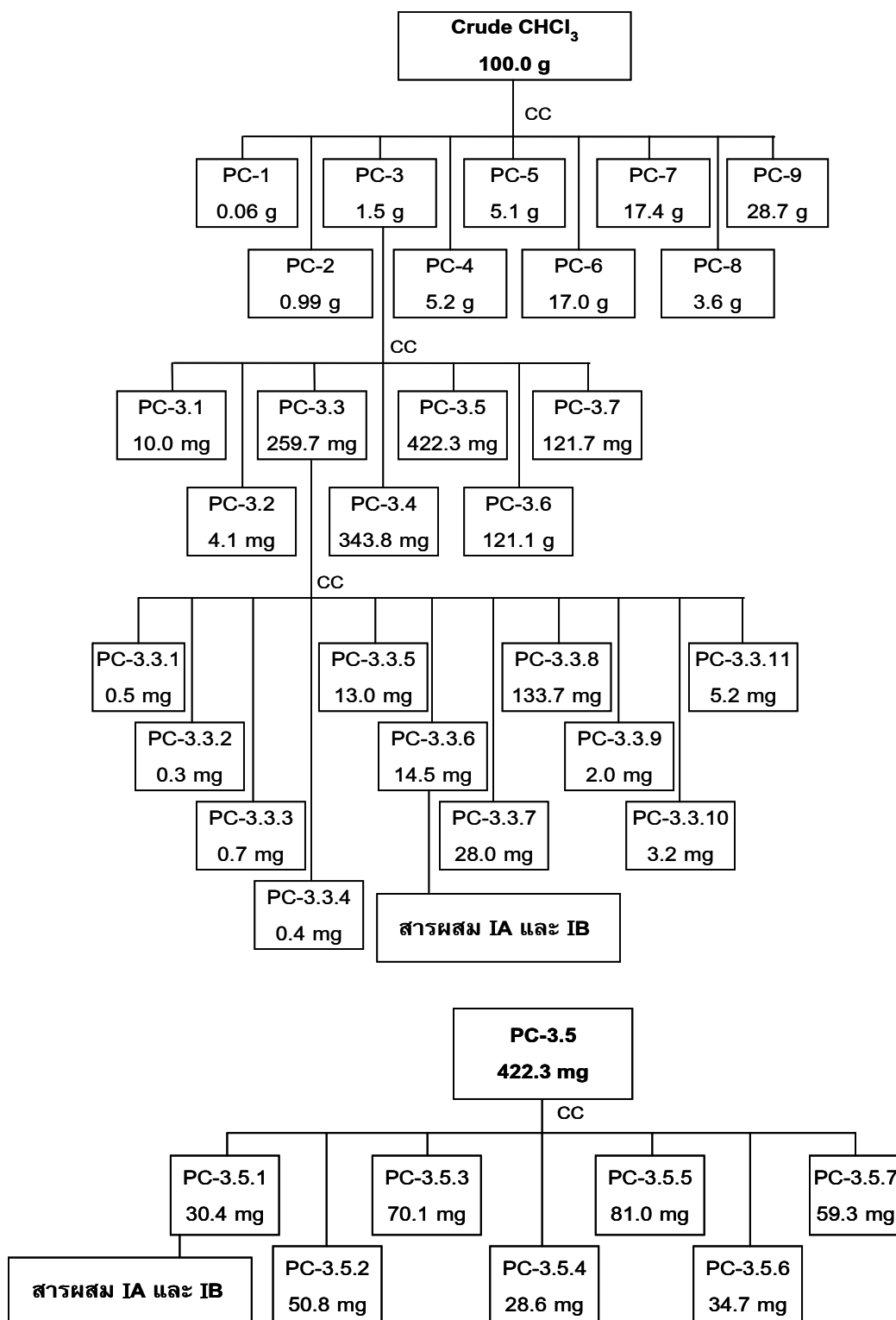
2.2.3 กลุ่ม PE-3 มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล (4.0 กรัม) ชะออกมาด้วยเฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (40 : 60) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ขนาด 5 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (0.063-0.200 มิลลิเมตร) 200 กรัม ชะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอทิลเอซิเตต โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 50 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 478 fractions เมื่อตรวจสอบด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต รวมสารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 8 กลุ่มย่อย (ตาราง 18)

สารกลุ่มย่อย PE-3.3 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง (131.2 มิลลิกรัม) ะออกมามีด้วย เฮกเซน-เอทิลแอลกอฮอล์ (94 : 6) นำมาแยกต่อโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ คอลัมน์ ขนาด 2 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจล (ขนาด < 0.063 มิลลิเมตร) 10 กรัม ะ ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน-เอทิลแอลกอฮอล์ โดยค่อยๆเพิ่มขั้วตัวทำละลาย ไปจนถึงเมทานอล เก็บส่วนละ 2 มิลลิลิตร ได้สารทั้งหมด 164 fractions เมื่อตรวจสอบ ด้วย TLC โดยการแสดงผลกับ developing reagent และภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต รวม สารที่แสดงผลเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 12 กลุ่มย่อย (ตาราง 19)

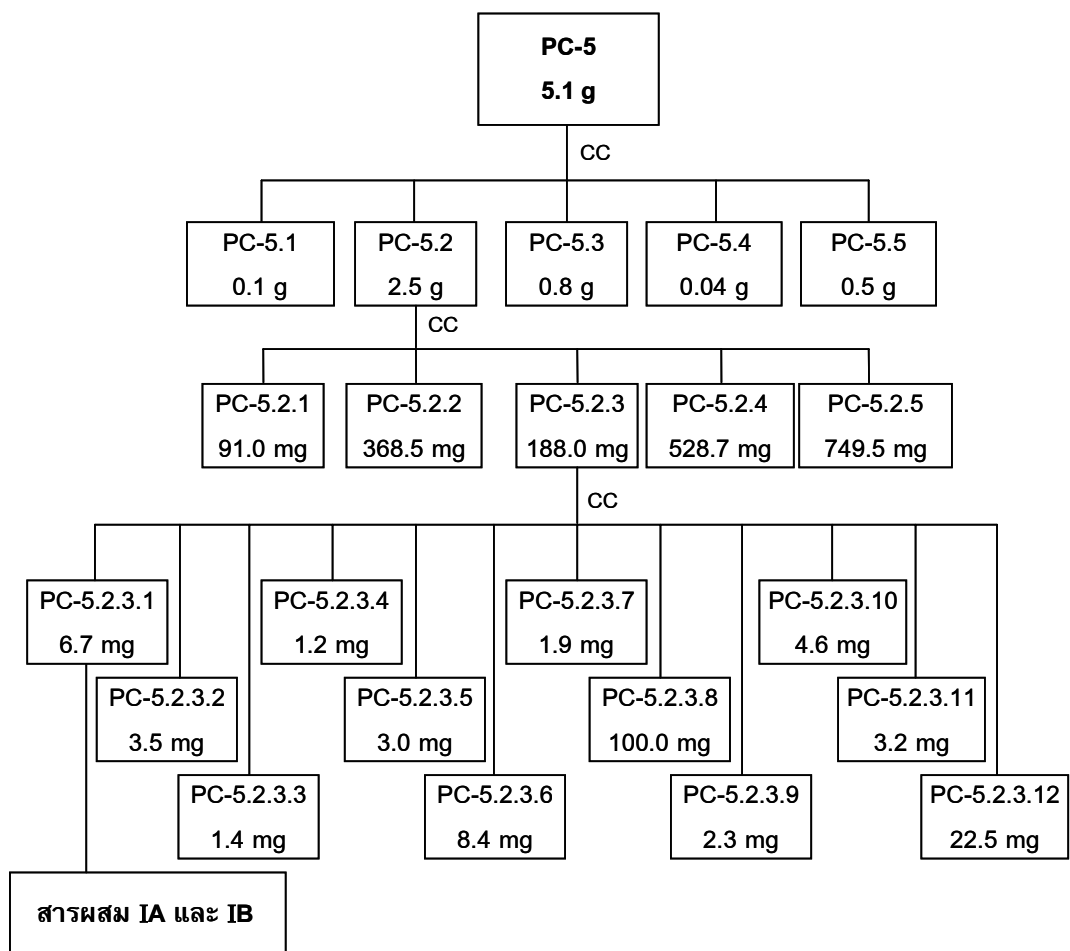
สารกลุ่มย่อย PE-3.3.6 (14.6 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสี ขาว ได้จากการะออกมามีด้วย ไดคลอโรมีเทน-เอทิลแอลกอฮอล์ (98 : 2) ซึ่งเป็นสารผสม **IA** และ **IB**

2.2.4 กลุ่ม PE-4 มีลักษณะเป็นสารเหนียวสีดำ (5.0 กรัม) ะออกมา ด้วย ไดคลอโรมีเทน-เอทิลแอลกอฮอล์ (70 : 30)

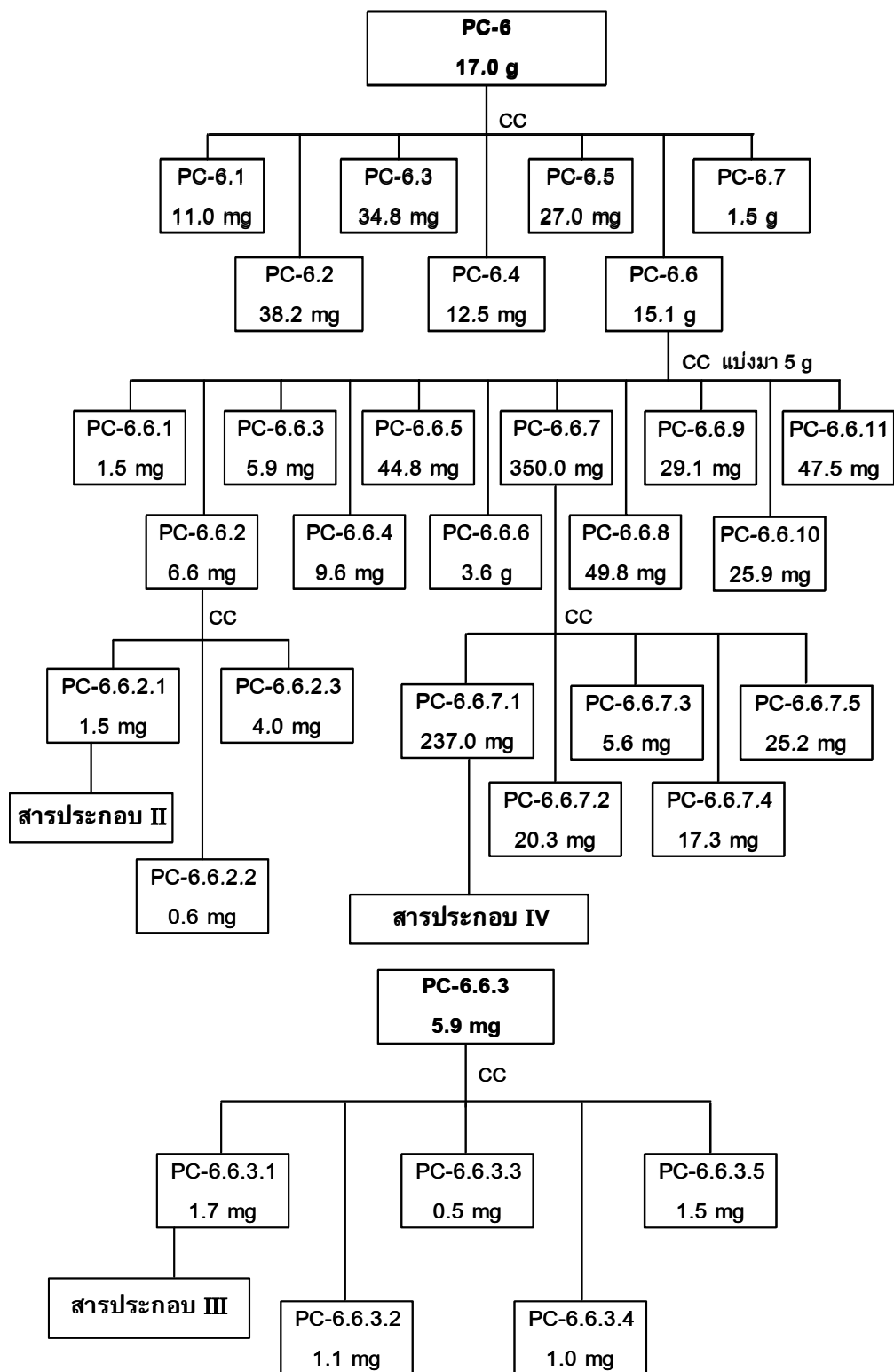
2.2.5 กลุ่ม PE-5 มีลักษณะเป็นสารเหนียวสีดำ (15.0 กรัม) ะออกมา ด้วย เอทิลแอลกอฮอล์-เมทานอล (80 : 20)



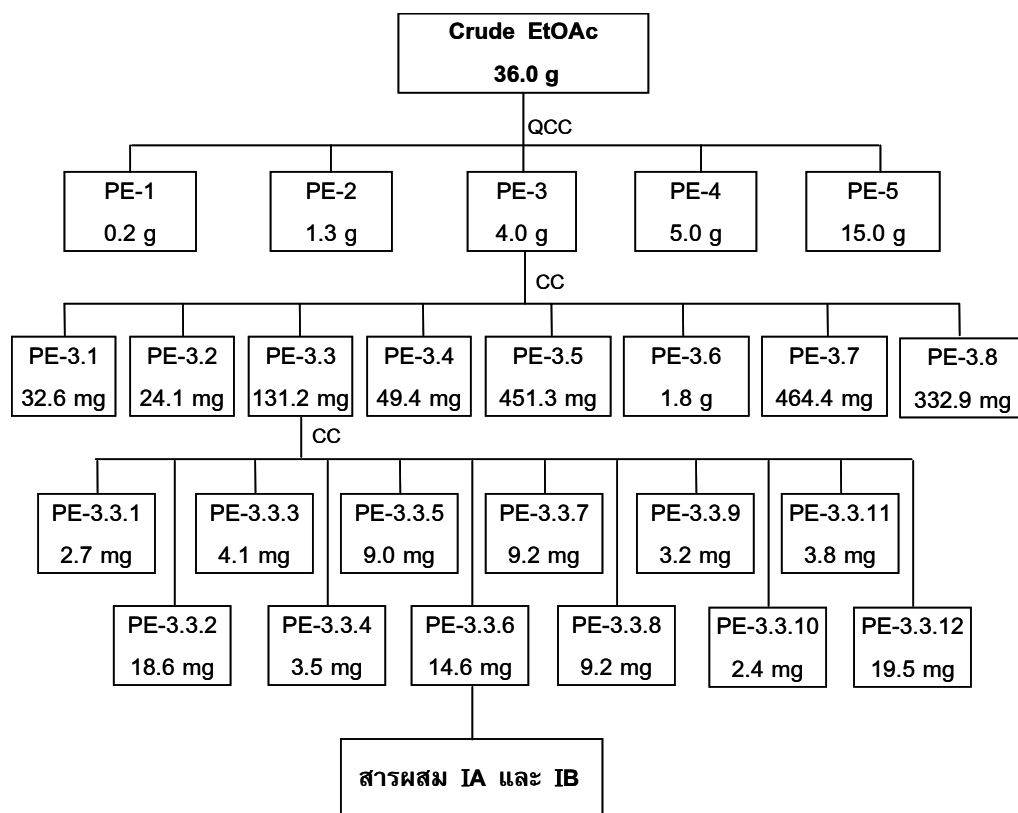
ภาพประกอบ 6 แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์ม



ภาพประกอบ 6 (ต่อ)



ภาพประกอบ 6 (ต่อ)



ภาพประกอบ 7 แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้นเอทิลแอซิเตต

3. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นการศึกษาเบื้องต้น โดยนำสารสกัดเอทิลแอซิเตต (PE) สารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) สารสกัดเมทานอล (PM) สารกลุ่มย่อยต่างๆ และสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพิจารณาจากข้อมูลเบื้องต้น คือ ข้อมูลจาก ^1H NMR spectrum และปริมาณของสาร

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

การเลี้ยงเซลล์

ใช้เซลล์เม็ดเลือดแดงของคน (หมู่ O) infected ด้วยเชื้อ *Plasmodium falciparum* สายพันธุ์ 94 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อยา 94 chloroquine (chloroquine sensitive) ที่เลี้ยงด้วยวิธีของ Trager และ Jensen (Trager & Jensen. 1976 : 673-675) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คือ RPMI 1640 (Gibco, USA) ซึ่งเติม 25 mM HEPES (Sigma, USA) 40 mg/mL gentamicin sulfate (Government Pharmaceutical Organization, Thailand) และ 10% serum ก่อนการทดสอบต้องเตรียมเชื้อให้อยู่ในรูป ring form อย่างเดียวโดยใช้ sorbital hemolysis (Lambors &

Vanderberg. 1979 : 418-420) นำไปเลี้ยงในตู้เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาเติมสี Geimsa เพื่อหาจำนวน % Parasitemia

การทดสอบฤทธิ์

นำเซลล์ suspension ที่อยู่ในรูป ring form (0.5-1%) เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 15% serum เพื่อให้มีจำนวนเซลล์เป็น 10% cell suspension จากนั้นนำ cell suspension ที่ได้ไปเติมลงใน microtiter plate ชนิด 96 หลุม โดยแต่ละหลุมให้มีปริมาตร 50 μ l แล้วเติมสารละลายยาที่ต้องการทดสอบอีก 50 μ l แล้วนำไปเลี้ยงในตู้เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C ในบรรยากาศ 5% CO₂ 94% N₂ และ 1% O₂ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปนับจำนวนเซลล์ %Parasitemia โดยการ fixed-methanol แล้วย้อมด้วยสี Geimsa แล้วนำมาคำนวณหาค่า IC₅₀ โดยที่ สารที่มีค่า IC₅₀ ที่ 100 - 1000 μ g/mL แสดงว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ในระดับปานกลาง สารที่มีค่า IC₅₀ ที่ 10 - < 100 μ g/mL แสดงว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ในระดับดี สารที่มีค่า IC₅₀ ที่ 1 - < 10 μ g/mL แสดงว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ในระดับดีมาก สารที่มีค่า IC₅₀ ที่ < 1 μ g/mL แสดงว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ในระดับดีเยี่ยม สารที่มีค่า IC₅₀ ที่ > 1 mg/mL แสดงว่า ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (inactive)

3.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic assay)

เซลล์มะเร็งที่ใช้ในการทดสอบมีสองชนิด คือ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (HuCCA-1) และ เซลล์มะเร็งในช่องปาก (KB) เป็นเซลล์มะเร็งของคน ซึ่งมีการเจริญเติบโตเป็นแบบ monolayer ในการทำ cytotoxic assay จะทำการทดสอบใน 96-well plate โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์เป็นจำนวน 3 X 10⁵ cells/mL หรือใช้เซลล์เป็นจำนวน 3 X 10⁴ เซลล์ใน 100 μ l ต่อหลุม เซลล์จะถูกนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน 5% CO₂ incubator เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ การเตรียมสาร จะละลายสารใน น้ำ หรือ DMSO หลังจากนั้นจึงนำมาละลายต่อใน Media หรือ อาหารเลี้ยงเซลล์ ให้ได้ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 100 μ g/mL และ ทำการ dilute สารต่อด้วย dilution 1 : 10 และ 1 : 2 ใน media นำสารที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 μ l ใส่ลงในหลุมแต่ละหลุม หลังจากนั้น incubate plate ต่ออีก 48 ชั่วโมง จากนั้นนำแต่ละ plate มาล้างด้วย phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2) 3 ครั้ง เพื่อล้างเซลล์ที่ตายออก จึงทำการย้อมเซลล์ที่เหลืออยู่ ด้วยสี crystal violet และใช้ 100 μ l ของ 100 mM HCl ใน absolute methanol ละลายสี crystal violet นำไปวัด OD (optical density) โดยใช้เครื่อง microplate reader (Titertek, Multiskan MCC/340) ซึ่งวัดที่ความยาวคลื่น 540 nm โดยทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 4 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย แล้วนำไปคำนวณหาค่า ED₅₀ (ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ได้ร้อยละ 50)

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยวิธี agar dilution (Baron, Peterson and Finegold 1994 : 168) โดยนำแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงใน tryptic soy broth

ปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard เบอร์ 1 แล้ว inoculate ลงใน Müller-Hinton plate ที่มีความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบตามที่ปรับไว้ (ในช่วงความเข้มข้น 2-256 $\mu\text{g/mL}$) โดยใช้ automatic multipoint inoculator นำไปอบที่ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยเทียบกับ control Müller-Hinton plate ที่เตรียมโดยวิธีเดียวกันแต่ไม่มีสารที่ต้องการทดสอบ โดยเกรดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใน control plate เป็น 4 แล้วลดลงตามปริมาณเชื้อที่ขึ้นในแต่ละ plate เป็น 3 2 1 และ 0 (เมื่อไม่เห็นเชื้อขึ้น) ตามลำดับ

4. การศึกษาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาหาจุดหลอมเหลว และศึกษาโครงสร้างโดยวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ Ultraviolet spectroscopy (UV) Infrared spectroscopy (IR) Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (NMR) และ Mass spectrometry (MS)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่า

รากกล้วยเต่าแห้งบดละเอียด 6 กิโลกรัม เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ ได้สารสกัดในชั้นต่างๆ ดังนี้

ตาราง 4 ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่าด้วยตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	สารสกัดชั้น	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
เฮกเซน	สารสกัดชั้นเฮกเซน (PH)	41.6	สารเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม
คลอโรฟอร์ม	สารสกัดชั้นคลอโรฟอร์ม (PC)	100.0	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
เอทิลแอซิเตต	สารสกัดชั้นเอทิลแอซิเตต (PE)	36.0	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	สารสกัดชั้นเมทานอล (PM)	120.8	สารเหนียวหนืดสีดำ

2. ผลการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์

2.1 ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์ม และการทำให้บริสุทธิ์

2.1.1 นำสารสกัดคลอโรฟอร์ม 100.0 กรัม มาแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ โดยเพิ่มสภาพขั้วครั้งละ 10% จนถึง 100% เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 9 กลุ่มใหญ่ ดังตาราง 5

ตาราง 5 ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (40 : 60)	PC-1	0.06	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (30 : 70)	PC-2	0.99	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂	PC-3	1.5	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม

ตาราง 5 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (90 : 10)	PC-4	5.2	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (90 : 10)	PC-5	5.1	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (80 : 20)	PC-6	17.0	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (70 : 30)	PC-7	17.4	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (20 : 80)	PC-8	3.6	สารเหนียวหนืดสีดำ
EtOAc : MeOH (80 : 20)	PC-9	28.7	ของแข็งสีดำ

สารกลุ่ม PC-3 (1.5 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้มนำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย ดังตาราง 6

ตาราง 6 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-3.1	10.0	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-3.2	4.1	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-3.3	259.7	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (48 : 52)	PC-3.4	343.8	ของแข็งสีเหลืองปนเขียว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (46 : 54)	PC-3.5	422.3	ของแข็งสีเหลืองปนเขียว
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (95 : 5)	PC-3.6	121.1	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (93 : 7)	PC-3.7	121.7	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม

สารกลุ่มย่อย PC-3.3 (259.7 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองนำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 11 กลุ่มย่อย ดังตาราง 7

ตาราง 7 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก(มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : EtOAc (99 : 1)	PC-3.3.1	0.5	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (99 : 1)	PC-3.3.2	0.3	คราบสีเหลือง
Hexane : EtOAc (99 : 1)	PC-3.3.3	0.7	ของแข็งสีส้ม
Hexane : EtOAc (99 : 1)	PC-3.3.4	0.4	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (98 : 2)	PC-3.3.5	13.0	ของแข็งสีเหลือง
Hexane : EtOAc (97 : 3)	PC-3.3.6	14.5	ของแข็งสีขาว
Hexane : EtOAc (97 : 3)	PC-3.3.7	28.0	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (97 : 3)	PC-3.3.8	133.7	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (96 : 4)	PC-3.3.9	2.0	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (96 : 4)	PC-3.3.10	3.2	น้ำมันสีเหลือง
EtOAc	PC-3.3.11	5.2	น้ำมันสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-3.3.6 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ^1H NMR พบว่าเป็นสารผสม **IA** และ **IB**หนัก 14.5 มิลลิกรัม

สารกลุ่มย่อย PC-3.5 (422.3 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองปนเขียว นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย ดังตาราง 8

ตาราง 8 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-3.5 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH_2Cl_2 (80 : 20)	PC-3.5.1	30.4	ของแข็งสีขาว
Hexane : CH_2Cl_2 (55 : 45)	PC-3.5.2	50.8	สารเหนียวสีเหลืองปนน้ำตาล
Hexane : CH_2Cl_2 (50 : 50)	PC-3.5.3	70.1	ของแข็งสีน้ำตาล
Hexane : CH_2Cl_2 (50 : 50)	PC-3.5.4	28.6	ของแข็งสีเขียวปนดำ

ตาราง 8 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-3.5.5	81.0	ของแข็งสีเหลืองปนน้ำตาล
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (47 : 53)	PC-3.5.6	34.7	ของแข็งสีเหลืองปนน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂	PC-3.5.7	59.3	ของแข็งสีเหลืองปนน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-3.5.1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ¹H NMR พบว่าเป็นสารผสม **IA** และ **IB**หนัก 30.4 มิลลิกรัม

สารกลุ่ม PC-5 (5.1 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้มนำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย ดังตาราง 9

ตาราง 9 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (20 : 80)	PC-5.1	0.1	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (20 : 80)	PC-5.2	2.5	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (20 : 80)	PC-5.3	0.8	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (20 : 80)	PC-5.4	0.04	สารเหนียวสีเทาอมม่วง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (10 : 90)	PC-5.5	0.5	สารเหนียวสีเทาอมม่วง

สารกลุ่มย่อย PC-5.2 (2.5 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลนำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย

ดังตาราง 10

ตาราง 10 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5.2 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก(มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (93 : 7)	PC-5.2.1	91.0	สารคล้ายขี้ผึ้งสีขาว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (75 : 25)	PC-5.2.2	368.5	ของแข็งสีขาว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (73 : 27)	PC-5.2.3	188.0	ของแข็งสีขาว

ตาราง 10 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก(มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (40 : 60)	PC-5.2.4	528.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂	PC-5.2.5	749.5	สารเหนียวสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-5.2.3 (188.0 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 12 กลุ่มย่อย ดังตาราง 11

ตาราง 11 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-5.2.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (80 : 20)	PC-5.2.3.1	6.7	ของแข็งสีขาว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (78 : 22)	PC-5.2.3.2	3.5	ของแข็งสีขาว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (78 : 22)	PC-5.2.3.3	1.4	คราบสีเหลืองปนดำ
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (75 : 25)	PC-5.2.3.4	1.2	คราบสีเหลืองปนดำ
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (73 : 27)	PC-5.2.3.5	3.0	ของแข็งสีน้ำตาลปนเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (70 : 30)	PC-5.2.3.6	8.4	ของแข็งสีน้ำตาลปนเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (60 : 40)	PC-5.2.3.7	1.9	ของแข็งสีน้ำตาลปนเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-5.2.3.8	100.0	ของแข็งสีขาว
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (98 : 2)	PC-5.2.3.9	2.3	สารเหนียวสีดำ
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (95 : 5)	PC-5.2.3.10	4.6	สารเหนียวสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (90 : 10)	PC-5.2.3.11	3.2	สารเหนียวสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (80 : 20)	PC-5.2.3.12	22.5	สารเหนียวสีดำ

สารกลุ่มย่อย PC-5.2.3.1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ¹H NMR พบว่าเป็นสารผสม **IA** และ **IB**หนัก 6.7 มิลลิกรัม

สารกลุ่ม PC-6 (17.0 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 7 กลุ่มย่อย ดังตาราง 12

ตาราง 12 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (50 : 50)	PC-6.1	11.0	สารคล้ายขี้ผึ้งสีขาว
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (10 : 90)	PC-6.2	38.2	สารคล้ายขี้ผึ้งสีเหลือง
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (10 : 90)	PC-6.3	34.8	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂	PC-6.4	12.5	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (99 : 1)	PC-6.5	27.0	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (99 : 1)	PC-6.6	1.5x10 ⁴	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (95 : 5)	PC-6.7	1.5x10 ³	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-6.6 (15.1 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล แบ่งมา 5.0 กรัม นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 11 กลุ่มย่อย ดังตาราง 13

ตาราง 13 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : Acetone (99 : 1)	PC-6.6.1	1.5	คราบสีขาว
Hexane : Acetone (98 : 2)	PC-6.6.2	6.6	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : Acetone (98 : 2)	PC-6.6.3	5.9	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : Acetone (98 : 2)	PC-6.6.4	9.6	น้ำมันสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (96 : 4)	PC-6.6.5	44.8	น้ำมันสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (94 : 6)	PC-6.6.6	3.6x10 ³	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : Acetone (92 : 8)	PC-6.6.7	350.0	น้ำมันสีส้ม
Hexane : Acetone (88 : 12)	PC-6.6.8	49.8	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (80 : 20)	PC-6.6.9	29.1	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (70 : 30)	PC-6.6.10	25.9	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (55 : 45)	PC-6.6.11	47.5	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.2 (6.6 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 3 กลุ่มย่อย ดังตาราง 14

ตาราง 14 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.2 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : Acetone (98 : 2)	PC-6.6.2.1	1.5	ของแข็งสีเหลือง
Hexane : Acetone (98 : 2)	PC-6.6.2.2	0.6	คราบสีเหลือง
Hexane : Acetone (95 : 5)	PC-6.6.2.3	4.0	ของแข็งสีเหลืองปนดำ

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.2.1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ^1H NMR พบว่าเป็นสารประกอบ II น้ำหนัก 1.5 มิลลิกรัม

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.3 (5.9 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง นำไปแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย ดังตาราง 15

ตาราง 15 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : Acetone (95 : 5)	PC-6.6.3.1	1.7	ของแข็งสีเหลือง
Hexane : Acetone (95 : 5)	PC-6.6.3.2	1.1	น้ำมันสีขาว
Hexane : Acetone (95 : 5)	PC-6.6.3.3	0.5	น้ำมันสีขาว
Hexane : Acetone (90 : 10)	PC-6.6.3.4	1.0	คราบสีเหลือง
Hexane : Acetone (90 : 10)	PC-6.6.3.5	1.5	น้ำมันสีเหลือง

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.3.1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ^1H NMR พบว่าเป็นสารประกอบ III น้ำหนัก 1.7 มิลลิกรัม

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.7 (350.0 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีส้ม นำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย ดังตาราง 16

ตาราง 16 ผลการแยกสารกลุ่ม PC-6.6.7 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : Acetone (90 : 10)	PC-6.6.7.1	237.0	ของแข็งสีขาว
Hexane : Acetone (90 : 10)	PC-6.6.7.2	20.3	น้ำมันสีส้ม
Hexane : Acetone (70 : 30)	PC-6.6.7.3	5.6	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : Acetone (50 : 50)	PC-6.6.7.4	17.3	น้ำมันสีน้ำตาล
Hexane : Acetone (50 : 50)	PC-6.6.7.5	25.2	น้ำมันสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PC-6.6.7.1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ^1H NMR พบว่าเป็นสารประกอบ **IV** น้ำหนัก 237.0 มิลลิกรัม

2.2 ผลการแยกสารสกัดเอทิลเอซิเตต และการทำให้บริสุทธิ์

2.2.1 นำสารสกัดเอทิลเอซิเตต 36.0 กรัม มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยคอกคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄, 120 กรัม) แล้วชะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไตคลอโรมีเทน เอทิลเอซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ โดยเพิ่มสภาพขั้วครั้งละ 10% จนถึง 100% เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 5 กลุ่มใหญ่ ดังตาราง 17

ตาราง 17 ผลการแยกสารสกัดเอทิลเอซิเตต โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (70 : 30)	PE-1	0.2	สารคล้ายขี้ผึ้งสีเหลืองอ่อน
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (60 : 40)	PE-2	1.3	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Hexane : CH ₂ Cl ₂ (40 : 60)	PE-3	4.0	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (70 : 30)	PE-4	5.0	สารเหนียวสีดำ
EtOAc : MeOH (80 : 20)	PE-5	15.0	สารเหนียวสีดำ

สารกลุ่ม PE-3 (4.0 กรัม) มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาล นำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 8 กลุ่มย่อย ดังตาราง 18

ตาราง 18 ผลการแยกสารกลุ่ม PE-3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
Hexane : EtOAc (97 : 3)	PE-3.1	32.6	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (95 : 5)	PE-3.2	24.1	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (94 : 6)	PE-3.3	131.2	น้ำมันสีเหลือง
Hexane : EtOAc (90 : 10)	PE-3.4	49.4	สารเหนียวสีน้ำตาล
Hexane : EtOAc (89 : 11)	PE-3.5	451.3	สารเหนียวสีดำ
Hexane : EtOAc (93 : 17)	PE-3.6	1.8×10^3	สารเหนียวสีดำ
Hexane : EtOAc (55 : 45)	PE-3.7	464.4	สารเหนียวสีดำ
Hexane : EtOAc (20 : 80)	PE-3.8	332.9	สารเหนียวสีดำ

สารกลุ่ม PE-3.3 (131.2 มิลลิกรัม) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง นำไปแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้กลุ่มสารทั้งหมด 12 กลุ่มย่อย ดังตาราง 19

ตาราง 19 ผลการแยกสารกลุ่ม PE-3.3 โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก(มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
CH ₂ Cl ₂	PE-3.3.1	2.7	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂	PE-3.3.2	18.6	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂	PE-3.3.3	4.1	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (99 : 1)	PE-3.3.4	3.5	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (99 : 1)	PE-3.3.5	9.0	ของแข็งสีขาว
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (98 : 2)	PE-3.3.6	14.6	ของแข็งสีขาว
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (98 : 2)	PE-3.3.7	9.2	ของแข็งสีขาว
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (98 : 2)	PE-3.3.8	9.2	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (95 : 5)	PE-3.3.9	3.2	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (94 : 6)	PE-3.3.10	2.4	น้ำมันสีเหลือง

ตาราง 19 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	กลุ่มสาร	น้ำหนัก(มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (93 : 7)	PE-3.3.11	3.8	น้ำมันสีเหลือง
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc (90 : 10)	PE-3.3.12	19.5	น้ำมันสีน้ำตาล

สารกลุ่มย่อย PE-3.3.6 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC และจากข้อมูล ¹H NMR พบว่าเป็นสารผสม **IA** และ **IB** น้ำหนัก 14.6 มิลลิกรัม

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ได้ศึกษาทั้งสารสกัด สารกลุ่มย่อยและสารบริสุทธิ์ รวม 16 ชนิด ได้ผลแสดงดังตาราง 20

ตาราง 20 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

ลำดับที่	สาร	ค่า IC ₅₀ (μg/mL)
1	PH	10 - < 100
2	PC	100 - 1000
3	PE	100 - 1000
4	PM	100 - 1000
5	PC-2	100 - 1000
6	PC-3	100 - 1000
7	PC-4	100 - 1000
8	PC-5	100 - 1000
9	PC-6	100 - 1000
10	PC-7	100 - 1000
11	PC-8	100 - 1000
12	PC-9	100 - 1000
13	PE-4	100 - 1000
14	PE-5	100 - 1000
15	PE-3.6	10 - < 100
16	สารประกอบ IV	100 - 1000

3.2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และเซลล์มะเร็งในช่องปาก ของ สารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดเห็กเซน (PH) สารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) สารสกัดเอทิล แอซีเตต (PE) และสารสกัดเมทานอล (PM) พบว่า สารสกัดเห็กเซน (PH) และ สารสกัด คลอโรฟอร์ม (PC) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/mL}$

3.3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ ทำการทดสอบกับสาร 8 ชนิด ได้ผลดังตาราง 21

ตาราง 21 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสาร

ที่	รหัส	เชื้อ	ค่า MIC ($\mu\text{g/mL}$)
1	PH	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	256
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 10356	256
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	≤ 64
2	PC	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	≤ 64
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 10356	≤ 64
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	256
3	PE	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	128
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 10356	≤ 64
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	256
4	PM	inactive	-
5 และ 6	PC-7 และ PC-8	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	64
		<i>Branhamella catarrhalis</i>	64
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 10356	64
		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	64
		<i>Bacillus cereus</i>	64
7	PC-9	<i>Branhamella catarrhalis</i>	64
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 10356	64
		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	64
		<i>Bacillus cereus</i>	64
8	สารประกอบ IV	<i>Branhamella catarrhalis</i>	64

4. ผลการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ นำมาศึกษาสูตรโครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี

สารผสม **IA** และ **IB** (น้ำหนัก 66.2 มิลลิกรัม)

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 128-130 °C

ค่า $R_f = 0.75$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : EtOAc, 9 : 1)

IR (UATR-Solid) $\nu_{\max}$: 3423, 2933, 2864, 1462, 1381, 1052 cm⁻¹

¹H NMR (CDCl₃) δ_H (ppm)

สารประกอบ **IA**

0.67-1.06	<i>m</i>	18H	(6 x CH ₃)
1.06-2.26	<i>m</i>	29H	(11 x CH ₂ , 7 x CH)
3.50	<i>m</i>	1H	(H-3)
5.33	<i>br d</i>	1H	(H-6, <i>J</i> = 4.47 Hz)

สารประกอบ **IB**

0.67-1.06	<i>m</i>	18H	(6 x CH ₃)
1.06-2.26	<i>m</i>	25H	(9 x CH ₂ , 7 x CH)
3.50	<i>m</i>	1H	(H-3)
4.99	<i>dd</i>	1H	(H-22, <i>J</i> = 15.14 , 8.42 Hz)
5.13	<i>dd</i>	1H	(H-23, <i>J</i> = 15.14 , 8.42 Hz)
5.33	<i>br d</i>	1H	(H-6, <i>J</i> = 4.47 Hz)

¹³C NMR (CDCl₃) แสดงในตาราง 23

EIMS *m/z* (% relative intensity)

สารประกอบ **IA**

m/z (% relative intensity) : 414 [M]⁺ (100), 399 (28), 396 (46), 273 (48), 271 (50), 255 (88), 231 (58), 213 (80)

สารประกอบ **IB**

m/z (% relative intensity) : 412 [M]⁺ (87), 397 (27), 273 (48), 271 (50), 255 (88), 231 (58), 213 (80)

สารประกอบ II (น้ำหนัก 1.5 มิลลิกรัม)

มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 124-126 °C, lit. mp. 125-127 °C (Nitta, Ohnuma & Iino. 1991 : 1115-1118), mp. 125-129 °C (Goulart, et al. 1986 : 1691-1695), mp. 133-135 °C (Koyama, Sugita & Suzata. 1979 : 1017-1019)

ค่า R_f = 0.95 (silica gel GF₂₅₄, hexane : acetone, 9 : 1)

UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) : 252 (4.16), 279 (3.87), 289 (3.88), 307 (3.42) nm

IR (UATR-Solid) $\nu_{\max}$: 2925, 1702, 1596, 1564, 1448, 1371, 756 cm⁻¹

¹H NMR และ ¹³C NMR (acetone-*d*₆) แสดงในตาราง 25

TOFMS m/z 196.0761 [M+H]⁺, calcd. for [C₁₃H₉NO+H]⁺ 196.0757

EIMS m/z (% relative intensity) : 195 [M]⁺ (72), 167 (9), 166 (7), 139 (6)

สารประกอบ III (น้ำหนัก 1.7 มิลลิกรัม)

มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 175-178 °C, lit. mp. 179 °C (Tadic, Cassels & Cave. 1988 : 407-421)

ค่า R_f = 0.81 (silica gel GF₂₅₄, hexane : acetone, 9 : 1)

UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) : 264 (4.50), 293 (3.88), 312 (3.64), 326 (3.53) nm

IR (UATR-Solid) $\nu_{\max}$: 2923, 1711, 1596, 1563, 1290, 1228, 797 cm⁻¹

¹H NMR และ ¹³C NMR (acetone-*d*₆) แสดงในตาราง 28

TOFMS m/z 226.0855 [M+H]⁺, calcd. for [C₁₄H₁₁NO₂+H]⁺ 226.0863

EIMS m/z (% relative intensity) : 225 [M]⁺ (100), 210 (7), 182 (8), 154 (14)

สารประกอบ IV (น้ำหนัก 237.0 มิลลิกรัม)

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 63-65 °C

ค่า R_f = 0.73 (silica gel GF₂₅₄, hexane : acetone, 8 : 2)

UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) : 214 (4.33), 253 (4.14), 267 (4.30), 283 (4.21) nm

IR (UATR-Solid) $\nu_{\max}$: 3469, 3077, 2918, 2849, 2156, 1768, 1641, 947 cm⁻¹

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากการนำสารสกัดต่างๆ ของรากกล้วยเต่า ได้แก่ สารสกัดเฮกเซน (PH) สารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) สารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ (PE) สารสกัดเมทานอล (PM) และสารในกลุ่มต่างๆ ที่แยกได้ มาทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่ามีผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนี้ คือ

- ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย พบว่าสารสกัดเฮกเซน (PH) และสารที่แยกได้กลุ่ม PE-3.6 แสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรียอยู่ในระดับที่ดีคือ มีค่า $IC_{50} < 100 \mu g/mL$ ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ สารสกัดเมทานอล และสารที่แยกได้กลุ่ม PC-2 PC-3 PC-4 PC-5 PC-6 PC-7 PC-8 PC-9 PE-4 PE-5 และสารประกอบ IV มีฤทธิ์ในการต้านมาลาเรียอยู่ในระดับปานกลางคือ มี $IC_{50} > 100 \mu g/mL$

- ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และเซลล์มะเร็งในช่องปาก พบว่าสารสกัดเฮกเซน (PH) และ สารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ด้วยความเข้มข้น $50 \mu g/mL$

- ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่า สารสกัดเฮกเซน (PH) มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 *C. diphtheriae* NCTC 10356 มีค่า MIC $256 \mu g/mL$ และ *S. pyogenes* มีค่า $MIC \leq 64 \mu g/mL$ สารสกัดคลอโรฟอร์ม (PC) มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 *C. diphtheriae* NCTC 10356 มีค่า $MIC \leq 64 \mu g/mL$ และ *S. pyogenes* มีค่า MIC $256 \mu g/mL$ สารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ (PE) มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 มีค่า MIC $128 \mu g/mL$ *C. diphtheriae* NCTC 10356 มีค่า $MIC \leq 64 \mu g/mL$ และ *S. pyogenes* มีค่า MIC $256 \mu g/mL$ ส่วนสารสกัดเมทานอลไม่แสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย สารที่แยกได้กลุ่ม PC-7 และ PC-8 มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *P. shigelloides* *B. catarrhalis* *C. diphtheriae* NCTC 10356 *B. subtilis* ATCC 6633 และ *B. cereus* มีค่า MIC $64 \mu g/mL$ สารที่แยกได้กลุ่ม PC-9 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. catarrhalis* *C. diphtheriae* NCTC 10356 *B. subtilis* ATCC 6633 และ *B. cereus* มีค่า MIC $64 \mu g/mL$ สารประกอบ IV มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *B. catarrhalis* มีค่า MIC $64 \mu g/mL$ เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวนี้สามารถทำให้เกิดโรคต่างๆ แสดงดังตาราง 22

ตาราง 22 เชื้อแบคทีเรียต่างๆ ที่ทำให้เกิดโรค

เชื้อ	ชนิด	โรค
<i>Bacillus subtilis</i> ¹	แบคทีเรียแกรมบวก	เป็นการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ²	แบคทีเรียแกรมบวก	โรคคอตีบ
<i>Streptococcus pyogenes</i> ³	แบคทีเรียแกรมบวก	โรคไฟลามทุ่ง ผิวหนังเป็นหนอง โลหิตเป็นพิษหลังคลอด โรคคอ อักเสบ
<i>Bacillus cereus</i> ⁴	แบคทีเรียแกรมบวก	อาหารเป็นพิษ ตาอักเสบ กระเพาะและลำไส้อักเสบ
<i>Plesiomonas shigelloides</i> ⁵	แบคทีเรียแกรมลบ	โรคทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในกระแสเลือด ไข่มองอักเสบในเด็กทารก
<i>Branhamella catarrhalis</i> ⁶	แบคทีเรียแกรมลบ	โรคติดเชื้อในกระแสเลือด โรคไข่มองอักเสบ โรคกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ หูอักเสบ เยื่อตาขาวอักเสบ กล่องเสียงอักเสบ และช่องปอดอักเสบ

¹ นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544 : 208.

² O' Leary. 1977 : 141-149.

³ นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544 : 54-55.

⁴ นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544 : 206.

⁵ นันทนา อรุณฤกษ์. 2537 : 327-328.

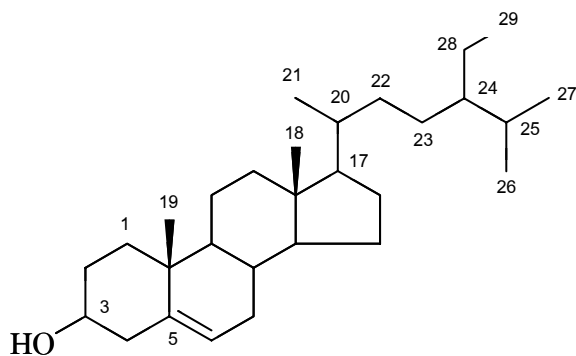
⁶ Wheatley. 1993 : 500-502.

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัด สารกลุ่มย่อยต่างๆ และสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ จะเห็นได้ว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการศึกษาทางเภสัชวิทยาต่อไป

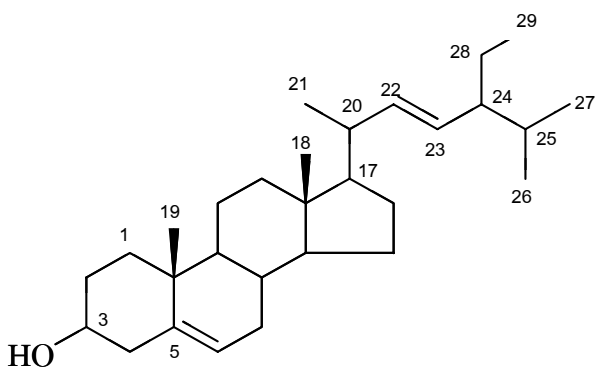
2. การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

จากการนำสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์มาทำการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 4 ชนิด (สารผสม **IA** และ **IB**

สาร **II** **III** และ **IV**) และทำการพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยใช้ข้อมูลสเปกโทรสโกปี (UV IR NMR และ MS) และทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีผู้รายงานไว้แล้ว



β -sitosterol (**IA**)



stigmasterol (**IB**)

สารผสม **IA** และ **IB** เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 128-130 °C

ค่า R_f = 0.75 (silica gel GF₂₅₄ , hexane : EtOAc, 9 : 1)

IR spectrum (UATR-Solid) แสดงแถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ $\nu_{\max}$ 3,423 cm^{-1} (OH) ที่ 2933, 2864 cm^{-1} (C-H สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3) ที่ 1462 cm^{-1} (C-H สั่นแบบงอของ CH_2 , CH_3) ที่ 1381 cm^{-1} (C-H สั่นแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin) ที่ 1052 cm^{-1} (C-O สั่นแบบยืดของ secondary alcohol)

สารประกอบ **IA**

จากข้อมูล ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของ methyl protons 6 สัญญาณ ที่ δ_{H} 0.67-1.06 มีลักษณะเป็น multiplet (*m*) สัญญาณของ methylene protons 11 สัญญาณ และ สัญญาณของ methine protons 7 สัญญาณ ที่ δ_{H} 1.06-2.26 มีลักษณะเป็น multiplet (*m*) สัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ δ_{H} 3.50 (1H, *m*, H-3) นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ methine olefinic proton ที่ δ_{H} 5.33 (1H, *br d*, $J = 4.47$ Hz, H-6)

จากข้อมูล ^{13}C NMR พิจารณาจาก DEPT spectrum ของสารประกอบ **IA** (ตาราง 23) พบสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 29 สัญญาณ โดยพบสัญญาณของ methyl carbons 6 สัญญาณ สัญญาณของ methylene carbons 11 สัญญาณ สัญญาณของ methine carbons 9 สัญญาณ และสัญญาณของ quaternary carbons 3 สัญญาณ

EIMS ของสารประกอบ **IA** ให้สัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ $414[\text{M}]^+$ (100) ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ แสดงการแตกพันธะที่ m/z 399 (28), 396 (46), 273 (48), 271 (50), 255 (88), 231 (58), 213 (80)

สารประกอบ **IB**

จากข้อมูลของ ^1H NMR spectrum พบว่าสารประกอบ **IB** มีสัญญาณเรโซแนนซ์เหมือนกับสัญญาณเรโซแนนซ์ของสารประกอบ **IA** แต่แตกต่างกันที่ สารประกอบ **IB** มีสัญญาณของ methylene protons 9 สัญญาณ และ สัญญาณของ methine protons 7 สัญญาณ ที่ δ_{H} 1.06-2.26 มีลักษณะเป็น multiplet (*m*) และยังพบสัญญาณของ methine olefinic protons ที่ δ_{H} 4.99 (1H, *dd*, $J = 15.14, 8.42$ Hz, H-22) และ 5.13 (1H, *dd*, $J = 15.14, 8.42$ Hz, H-23)

จากข้อมูล ^{13}C NMR พิจารณาจาก DEPT spectrum ของสารประกอบ **IB** (ตาราง 23) พบว่ามีสัญญาณเรโซแนนซ์เหมือนกับสัญญาณเรโซแนนซ์ของสารประกอบ **IA** แต่แตกต่างกันที่สารประกอบ **IB** มีสัญญาณของ methine carbons ที่ δ_{C} 138.31 (C-22) และ 129.29 (C-23) แทนที่ methylene carbons ที่ δ_{C} 33.96 (C-22) และ 26.10 (C-23) ของสารประกอบ **IA**

EIMS ของสารประกอบ **IB** ให้สัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ $412[\text{M}]^+$ (87) ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ แสดงการแตกพันธะที่ m/z 397 (27), 273 (48), 271 (50), 255 (88), 231 (58), 213 (80)

ตาราง 23 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ **IA** และ **IB** บันทึกใน CDCl_3

ตำแหน่ง	สารประกอบ IA			สารประกอบ IB		
	^{13}C NMR	DEPT 90	DEPT 135	^{13}C NMR	DEPT 90	DEPT 135
	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1	37.27		37.27	37.27		37.27
2	31.68		31.68	31.68		31.68
3	71.81	71.81		71.81	71.81	
4	42.22		42.22	42.32		42.32
5	140.77			140.77		
6	121.71	121.71		121.71	121.71	
7	31.92		31.92	31.92		31.92
8	31.92	31.92		31.92	31.92	
9	51.24	51.24		50.17	50.17	
10	35.88			36.52		
11	21.08		21.08	21.08		21.08
12	39.79		39.79	39.69		39.69
13	42.32			42.22		
14	56.78	56.78		56.88	56.88	
15	24.31		24.31	24.37		24.37
16	28.25		28.25	28.92		28.92
17	55.97	55.97		56.07	56.07	
18	11.86		11.86	12.05		12.05
19	19.40		19.40	19.40		19.40
20	36.15	36.15		40.49	40.49	
21	18.71		18.71	21.08		21.08
22	33.96		33.96	138.31	138.31	
23	26.10		26.10	129.29	129.29	
24	45.85	45.85		51.24	51.24	
25	29.17	29.17		31.92	31.92	
26	19.82		19.82	21.22		21.22
27	19.40		19.40	19.04		19.04
28	23.08		23.08	25.41		25.41
29	11.86		11.86	12.25		12.25

ตาราง 24 การเปรียบเทียบ ^{13}C NMR (CDCl_3) ของสารประกอบ **IA** และ **IB** กับ β -sitosterol และ stigmasterol ตามลำดับ

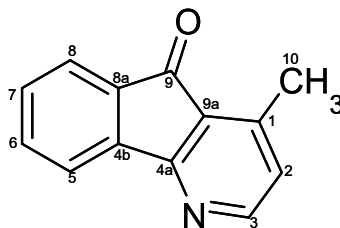
ตำแหน่ง	β -sitosterol ^a	สารประกอบ IA	stigmasterol ^b	สารประกอบ IB
	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1	37.33	37.27	37.31	37.27
2	31.63	31.68	31.69	31.68
3	71.73	71.81	71.81	71.81
4	42.20	42.22	42.35	42.32
5	140.71	140.77	140.80	140.77
6	121.63	121.71	121.69	121.71
7	31.96	31.92	31.94	31.92
8	31.81	31.92	31.94	31.92
9	51.13	51.24	50.20	50.17
10	36.43	35.88	36.55	36.52
11	21.09	21.08	21.11	21.08
12	39.79	39.79	39.74	39.69
13	42.37	42.32	42.35	42.22
14	56.75	56.78	56.91	56.88
15	24.15	24.31	24.39	24.37
16	28.25	28.25	28.96	28.92
17	56.02	55.97	56.06	56.07
18	11.84	11.86	12.07	12.05
19	19.46	19.40	19.42	19.40
20	36.07	36.15	40.54	40.49
21	18.68	18.71	21.11	21.08
22	33.95	33.96	138.37	138.31
23	26.10	26.10	129.32	129.29
24	45.82	45.85	51.29	51.24
25	29.15	29.17	31.94	31.92
26	19.77	19.82	21.26	21.22
27	19.21	19.40	19.02	19.04
28	23.13	23.08	25.44	25.41
29	11.04	11.86	12.27	12.25

^a(Greca, Monaca & Previtera. 1990 : 1430-1435)

^b(Ikan. 1996 : 138-139)

จากข้อมูล ^{13}C NMR ของสารประกอบ **IA** และ **IB** เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ ^{13}C NMR ของ β -sitosterol (Greca, Monaca & Previtera. 1990 : 1430-1435) และ ^{13}C NMR ของ stigmasterol (Ikan. 1996 : 138-139) ดังตาราง 24 พบว่าสารประกอบ **IA** และ **IB** เป็นส่วนผสมระหว่าง β -sitosterol และ stigmasterol

β -sitosterol และ stigmasterol พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น β -sitosterol พบในส่วนใบและลำต้นของ *Polyalthia cerasoides* และ *Polyalthia suberosa* (Dan, et al. 1985 : 73-76) ในส่วนใบของ *Polyalthia longifolia* var. *pendula* (Chen, et al. 2000 : 1475-1478) และพบในส่วนรากของต้น *Nealchornea yapurenis* (Euphorbiaceae) (Gunasekera, Cordell & Farnsworth. 1980 : 285-287) stigmasterol พบในส่วนใบของ *Polyalthia longifolia* (Goyal & Gupta. 1987 : 216-220) และ *Polyalthia longifolia* var. *pendula* (Chen, et al. 2000 : 1475-1478) ส่วนสารผสมของ β -sitosterol และ stigmasterol พบในสารสกัดเมทานอลจากส่วนรากของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.) (เกศแก้ว บุตรวงศ์. 2545 : 83-87) ส่วนผสมของ β -sitosterol และ stigmasterol อัตราส่วน 2 : 1 พบใน rhizome ของ *Atractylodes chinense* (Ding, H.-Y. et al. 2000 : 561-566) และพบในเปลือกของราก *Ziziphus rugosa* Lam. (เจษฎา เนตรสว่างวิชา. 2548 : 55-56)



สารประกอบ II

สารประกอบ II เป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 124-126 °C, lit. mp. 125-127 °C (Nitta, Ohnuma & Iino. 1991 : 1115-1118), mp. 125-129 °C (Goulart, et al. 1986 : 1691-1695), mp. 133-135 °C (Koyama, Sugita & Suzata. 1979 : 1017-1019) ค่า $R_f = 0.95$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : acetone, 9 : 1)

IR Spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ $\nu_{\max}$ 2925 cm^{-1} เป็น CH สั่นแบบยืดของ CH_3 ที่ 1702 cm^{-1} เป็นแถบการดูดกลืนของ $\text{C}=\text{O}$ ของ ketone ที่ 1596, 1564, 1448 cm^{-1} เป็น $\text{C}=\text{C}$ สั่นแบบยืดของวงเบนซีน ที่ 1371 cm^{-1} เป็น CH สั่นแบบงอของ CH_3 ที่ 756 cm^{-1} เป็น CH แถบการงอของวงเบนซีนที่มีการแทนที่แบบ ortho-disubstitution และมีแถบการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ $\lambda_{\max}$ (log ϵ) : 252 (4.16), 279 (3.87), 289 (3.88), 307 (3.42) nm

ข้อมูล TOFMS m/z 196.0761 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $[\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}+\text{H}]^+$ 196.0757 ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}$

^1H NMR spectrum แสดงสัญญาณของ methyl proton ที่ δ_{H} 2.60 (3H, d, $J = 0.48$ Hz, H-10) และมีสัญญาณ α - และ β -protons ของ μ -methylpyridine unit ที่ δ_{H} 8.45 (1H, d, $J = 5.26$ Hz, H-3) และ 7.14 (1H, dd, $J = 5.26, 0.48$ Hz, H-2) ตามลำดับ นอกจากนี้ ^1H NMR spectrum ยังแสดงสัญญาณของ aromatic protons ที่ δ_{H} 7.84 (1H, dd, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-5), 7.67 (1H, td, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-6), 7.66 (1H, dd, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-8) และ 7.51 (1H, td, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-7)

จากข้อมูล ^{13}C NMR พิจารณาจาก DEPT spectrum ของสารประกอบ II (ตาราง 25) พบสัญญาณคาร์บอนทั้งหมด 13 สัญญาณ โดยพบสัญญาณของ methyl carbon 1 สัญญาณที่ δ_{C} 16.8 พบสัญญาณของ methine carbons 6 สัญญาณที่ δ_{C} 153.7 (C-3), 135.7 (C-6), 131.5 (C-7), 126.6 (C-2), 123.9 (C-8) และ 121.3 (C-5) และพบสัญญาณของ quaternary carbons 6 สัญญาณที่ δ_{C} 193.2 (C-9), 165.6 (C-4a), 147.9

(C-1), 143.9 (C-4b), 135.5 (C-8a) และ 126.2 (C-9a) โดยที่ δ_C 193.2 (C-9) เป็นสัญญาณของ carbonyl carbon ของหมู่ ketone

จากข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum (ตาราง 27) มีการ coupling กันระหว่าง H-2 กับ H-3 ที่ δ_H 8.45 (1H, d, $J = 5.26$ Hz, H-3) และ H-2 coupling กับ H-10 ที่ δ_H 2.60 (3H, d, $J = 0.48$ Hz, H-10), H-5 coupling กับ H-6 ที่ δ_H 7.67 (1H, td, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-6) และ H-5 coupling กับ H-7 ที่ δ_H 7.51 (1H, td, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-7), H-6 coupling กับ H-7 ที่ δ_H 7.51 (1H, td, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-7) และ H-6 coupling กับ H-8 ที่ δ_H 7.66 (1H, dd, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-8) และ H-7 coupling กับ H-8 ที่ δ_H 7.66 (1H, dd, $J = 7.43, 1.23$ Hz, H-8)

จากข้อมูล HMBC (ตาราง 27) พบความสัมพันธ์ที่สำคัญของ methyl proton ที่ δ_H 2.60 กับ C-1, C-2, C-9, C-9a ความสัมพันธ์ของ H-2 ที่ δ_H 7.14 กับ C-3, C-9, C-9a ความสัมพันธ์ของ H-3 ที่ δ_H 8.45 กับ C-1, C-2, C-4a ความสัมพันธ์ของ H-5 ที่ δ_H 7.84 กับ C-4a, C-7, C-8a ความสัมพันธ์ของ H-6 ที่ δ_H 7.67 กับ C-4b, C-5, C-8 ความสัมพันธ์ของ H-7 ที่ δ_H 7.51 กับ C-5, C-6, C-8 ความสัมพันธ์ของ H-8 ที่ δ_H 7.66 กับ C-4b, C-6, C-7, C-8a และ C-9

จากการเปรียบเทียบข้อมูล UV IR (Nitta, Ohnuma & Iino. 1991 : 1115-1118) ^1H NMR และ ^{13}C NMR (Cassels, et al. 1989 : 420-422) ของ 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) (ตาราง 26) กับสารประกอบ II พบว่าข้อมูลคล้ายคลึงกันสรุปได้ว่า สารประกอบ II คือ 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม azafluorene alkaloid สำหรับสารประกอบ 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) พบในเปลือกของลำต้น *Polyalthia longifolia* (Chakrabarty & Patra. 1990 : 394-395) และ *Unonopsis spectabilis* (Laprevote, et al. 1988 : 555-561) นอกจากนี้ยังพบในเปลือกกรากของ *Cleistopholis patens* ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* B 311 โดยมีค่า MIC 3.12 $\mu g/mL$ (Hufford, Liu & Clark. 1987 : 961-964) และจากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของ สารประกอบ 1-methyl-4-azafluoren-9-one (onychine) พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* NCTC 8530 และ *Bacillus subtilis* IFO 3007 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* IFO 3545 *Proteus vulgaris* IFO 3851 และ *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3080 สามารถยับยั้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* IFO 0203 *Schizosaccharomyces pombe* IFO 0342 *Candida utilis* OUT 6020 และ *Rhodotorula rubra* IFO 0001 และสามารถยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus niger* ATCC

6275 *Penicillium chrysogenum* IFO 4626 *Rhizopus chinensis* IFO 4768 และ *Mucor mucedo* IFO 7684 โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 50 ถึง > 100 $\mu\text{g/mL}$ (Koyama, et al. 2005 : 1079-1082)

ตาราง 25 ข้อมูล ^1H NMR ^{13}C NMR (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ II บันทึกใน acetone- d_6

สารประกอบ II				
ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$	DEPT 90 $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	DEPT 135 $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$
1	147.9			
2	126.6	7.14 (1H, <i>dd</i> , $J = 5.26, 0.48$ Hz)	126.6	
3	153.7	8.45 (1H, <i>d</i> , $J = 5.26$ Hz)	153.7	
4a	165.6			
4b	143.9			
5	121.3	7.84 (1H, <i>dd</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	121.3	
6	135.7	7.67 (1H, <i>td</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	135.7	
7	131.5	7.51 (1H, <i>td</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	131.5	
8	123.9	7.66 (1H, <i>dd</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	123.9	
8a	135.5			
9	193.2			
9a	126.2			
10	16.8	2.60 (3H, <i>d</i> , $J = 0.48$ Hz)		16.8

ตาราง 26 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ 1-methyl-4-azafluoren-9-one และของสารประกอบ II ตามลำดับ

ตำแหน่ง	1-methyl-4-azafluoren-9-one ^b		สารประกอบ II ^c	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	147.1		147.9	
2	125.5	6.87 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.6 Hz)	126.6	7.14 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 5.26, 0.48 Hz)
3	152.4	8.31 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.6 Hz)	153.7	8.45 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.26 Hz)
4a	164.8		165.6	
4b	142.7		143.9	
5	120.4	7.70 ^a (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.6 Hz)	121.3	7.84 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 7.43, 1.23 Hz)
6	134.6	7.50 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.6 Hz)	135.7	7.67 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 7.43, 1.23 Hz)
7	130.5	7.34 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.6 Hz)	131.5	7.51 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 7.43, 1.23 Hz)
8	123.3	7.58 ^a (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.6 Hz)	123.9	7.66 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 7.43, 1.23 Hz)
8a	134.5		135.5	
9	192.8		193.2	
9a	130.4		126.2	
10	17.0	2.54 (3H, <i>s</i>)	16.8	2.60 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 0.48 Hz)

^a Values in the same column with the same superscript are interchangeable.

^b ^1H NMR 360 MHz ^{13}C NMR 90.5 MHz in CDCl_3 (Cassels, et al. 1989 : 420-422)

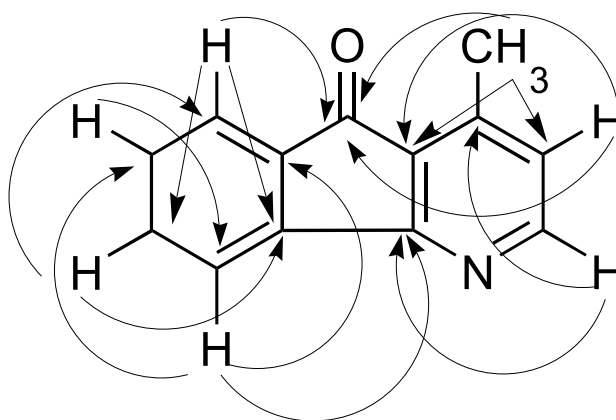
^c ^1H NMR 600 MHz ^{13}C NMR 150 MHz in acetone- d_6

ตาราง 27 ข้อมูล ^1H NMR COSY และ HMBC ของสารประกอบ II บันทึกใน $\text{acetone-}d_6$

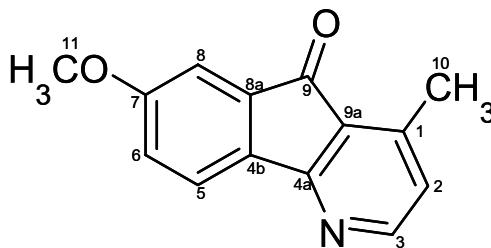
สารประกอบ II			
ตำแหน่ง	^1H NMR δ_{H} (ppm)	COSY ^a	HMBC ^b
2	7.14 (1H, <i>dd</i> , $J = 5.26, 0.48$ Hz)	H-3, H-10	C-3, C-9, C-9a
3	8.45 (1H, <i>d</i> , $J = 5.26$ Hz)	H-2	C-1, C-2, C-4a
5	7.84 (1H, <i>dd</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	H-6, H-7	C-4a, C-7, C-8a
6	7.67 (1H, <i>td</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	H-5, H-7, H-8	C-4b, C-5, C-8
7	7.51 (1H, <i>td</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	H-5, H-6, H-8	C-5, C-6, C-8
8	7.66 (1H, <i>dd</i> , $J = 7.43, 1.23$ Hz)	H-6, H-7	C-4b, C-6, C-7, C-8a, C-9
10	2.60 (3H, <i>d</i> , $J = 0.48$ Hz)	H-2	C-1, C-2, C-9, C-9a

^a proton-proton correlation

^b long-range heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation



ภาพประกอบ 8 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ II



สารประกอบ III

สารประกอบ III เป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 175-178 °C, lit. mp. 179 °C (Tadic, Cassels & Cave. 1988 : 407-421) ค่า $R_f = 0.81$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : acetone, 9 : 1)

IR Spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรด ที่ $\nu_{\max}$ 2923 cm^{-1} เป็นการสั่นแบบยืดของ CH_3 ที่ 1711 cm^{-1} เป็นแถบการยืดของ $\text{C}=\text{O}$ ของ ketone ที่ 1596, 1563 cm^{-1} เป็น $\text{C}=\text{C}$ สั่นแบบยืดของวงเบนซีน ที่ 1290, 1228 cm^{-1} เป็น $\text{C}=\text{O}$ สั่นแบบยืดของ $\text{C}-\text{CO}-\text{C}$ และที่ 797 cm^{-1} เป็น CH แถบการงอของวงเบนซีนที่มีการแทนที่แบบ ortho-disubstitution มีแถบการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) : 264 (4.50), 293 (3.88), 312 (3.64) และ 326 (3.53) nm

จากข้อมูล TOFMS m/z 226.0855 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $[\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2+\text{H}]^+$ 226.0863 ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$

ข้อมูล ^1H NMR spectrum (ตาราง 28) แสดงสัญญาณของ methyl proton ที่ δ_{H} 2.55 (3H, s, H-10) และแสดงสัญญาณของ methoxy proton 1 สัญญาณที่ δ_{H} 3.91 (3H, s, H-11) พบสัญญาณของ α - และ β -protons ของ γ -methylpyridine unit ที่ δ_{H} 8.35 (1H, d, $J = 5.30$ Hz, H-3) และ 7.02 (1H, d, $J = 5.30$ Hz, H-2) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ aromatic protons อีก 3 สัญญาณที่ δ_{H} 7.73 (1H, d, $J = 8.89$ Hz, H-5), 7.17 (1H, dd, $J = 8.89, 2.38$ Hz, H-6) และ 7.18 (1H, d, $J = 2.38$ Hz, H-8)

จากข้อมูล ^{13}C NMR พิจารณาจาก DEPT spectrum ของสารประกอบ III (ตาราง 28) พบสัญญาณคาร์บอนทั้งหมด 14 สัญญาณ โดยพบสัญญาณของ methyl carbon 1 สัญญาณ ที่ δ_{C} 16.1 สัญญาณของ methoxy carbon 1 สัญญาณ ที่ δ_{C} 55.4 พบสัญญาณของ methine carbons 5 สัญญาณ ที่ δ_{C} 152.9 (C-3), 124.8 (C-2), 122.0 (C-5), 120.1 (C-6) และ 108.8 (C-8) และพบสัญญาณของ quaternary carbons 7 สัญญาณ ที่ δ_{C} 192.4 (C-9), 165.4 (C-4a), 162.6 (C-7), 146.9 (C-1), 136.9 (C-8a)

135.5 (C-4b) และ 125.4 (C-9a) โดยที่ δ_c 192.4 (C-9) เป็น carbonyl carbon ของ หมู่ ketone

จากข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum (ตาราง 30) มีการ coupling กันระหว่าง H-2 กับ H-3 ที่ δ_H 8.35 (1H, d, $J = 5.30$ Hz, H-3) และ H-5 coupling กับ H-6 ที่ δ_H 7.17 (1H, dd, $J = 8.89, 2.38$ Hz, H-6) นอกจากนี้ยังมี long rang coupling ระหว่าง H-6 กับ H-8 ที่ δ_H 7.18 (1H, d, $J = 2.38$ Hz, H-8)

จากข้อมูล HMBC (ตาราง 30) พบความสัมพันธ์ของ methyl proton ที่ δ_H 2.55 กับ C-1, C-2 และ C-9a พบความสัมพันธ์ของ protons ที่อยู่ใน pyridine unit ของ H-2 กับ C-3, C-9, C-9a ความสัมพันธ์ของ H-3 กับ C-1, C-2, C-4a นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ของ protons ที่อยู่ในวง aromatic ของ H-5 กับ C-4a, C-6, C-7, C-8a ความสัมพันธ์ของ H-6 กับ C-4b, C-7, C-8 ความสัมพันธ์ของ H-8 กับ C-4b, C-6, C-7, C-9 และยังพบความสัมพันธ์ที่สำคัญของ methoxy proton ที่ δ_H 3.91 กับ C-7 ซึ่งทำให้กำหนดได้ว่า สารประกอบ III มีหมู่ methoxy เกาะกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 7

จากข้อมูลที่ได้อ้างมาข้างต้น เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลของ IR NMR spectrum ของสารประกอบ III กับสารประกอบ II พบว่า เป็นสารประกอบที่มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น 1-methyl-4-azafluoren-9-one เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่สารประกอบ III มีหมู่ methoxy 1 หมู่ ซึ่งจากการพิสูจน์โครงสร้างโดยใช้ข้อมูลต่างๆ ประกอบกัน พบว่า หมู่ methoxy เกาะอยู่กับคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และจากการเปรียบเทียบข้อมูล UV IR ^1H NMR (Tadic, Cassels & Cave. 1988 : 407-421) และ ^{13}C NMR (Cassels, et al. 1989 : 420-422) ของ 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one กับสารประกอบ III (ตาราง 29) พบว่า ข้อมูลคล้ายคลึงกัน สรุปได้ว่า สารประกอบ III คือ 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า สารประกอบ 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one เป็นสารประกอบกลุ่ม azafluorene alkaloid ที่ยังไม่เคยมีการรายงานพบในพืชมาก่อน แต่ได้มีการสังเคราะห์ขึ้นมาโดยใช้ปฏิกิริยา oxidative thermal rearrangement และปฏิกิริยา oxidation ของ 7-methoxyindan-1-one O-Crotyloximes เพื่อการศึกษาข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสารอนุพันธ์ของ onychine (1-methyl-4-azafluoren-9-one) ที่มีหมู่แทนที่ที่วงเบนซีนในตำแหน่งต่างๆกัน (Tadic, Cassels & Cave. 1988 : 407-421)

ตาราง 28 ข้อมูล ^1H NMR ^{13}C NMR (DEPT 90 และ DEPT 135) ของสารประกอบ III
บันทึกใน acetone- d_6

สารประกอบ III				
ตำแหน่ง	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	DEPT 90 δ_{C} (ppm)	DEPT 135 δ_{C} (ppm)
1	146.9			
2	124.8	7.02 (1H, <i>d</i> , $J = 5.30$ Hz)	124.8	
3	152.9	8.35 (1H, <i>d</i> , $J = 5.30$ Hz)	152.9	
4a	165.4			
4b	135.5			
5	122.0	7.73 (1H, <i>d</i> , $J = 8.89$ Hz)	122.0	
6	120.1	7.17 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.89, 2.38$ Hz)	120.1	
7	162.6			
8	108.8	7.18 (1H, <i>d</i> , $J = 2.38$ Hz)	108.8	
8a	136.9			
9	192.4			
9a	125.4			
10	16.1	2.55 (3H, <i>s</i>)		16.1
11	55.4	3.91 (3H, <i>s</i>)		55.4

ตาราง 29 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ 7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one และของสารประกอบ III ตามลำดับ

ตำแหน่ง	7-methoxy-1-methyl-4-azafluoren-9-one ^{bc}		สารประกอบ III ^d	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	147.3		146.9	
2	124.8	6.88 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.4 Hz)	124.8	7.02 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.30 Hz)
3	152.7	8.34 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.4 Hz)	152.9	8.35 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5.30 Hz)
4a	165.6		165.4	
4b	135.5 ^a		135.5	
5	122.1	7.33 (1H <i>d</i> , <i>J</i> = 8.2 Hz)	122.0	7.73 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.89 Hz)
6	120.4	7.07 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8.2, 2.4 Hz)	120.1	7.17 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8.89, 2.38 Hz)
7	162.3		162.6	
8	108.8	7.21 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.4 Hz)	108.8	7.18 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.38 Hz)
8a	136.9 ^a		136.9	
9	193.0		192.4	
9a	126.0		125.4	
10	17.3	2.60 (3H, <i>s</i>)	16.1	2.55 (3H, <i>s</i>)
11	55.8	3.88 (3H, <i>s</i>)	55.4	3.91 (3H, <i>s</i>)

^a Values in the same column with the same superscript are interchangeable.

^b ^{13}C NMR 90.5 MHz in CDCl_3 (Cassels, et al. 1989 : 420-422)

^c ^1H NMR 500 MHz in CDCl_3 (Tadic, Cassels & Cave. 1988 : 407-421)

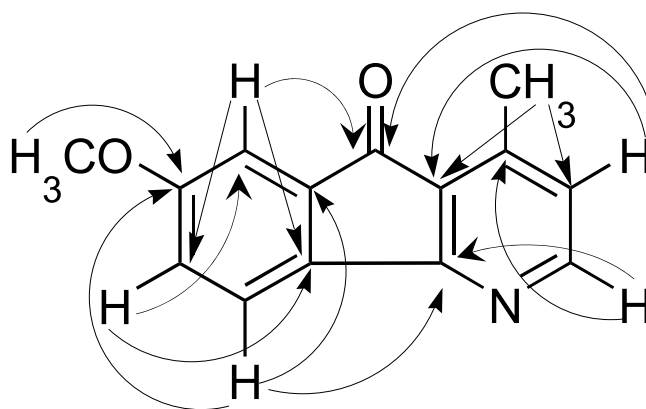
^d ^1H NMR 600 MHz ^{13}C NMR 150 MHz in acetone- d_6

ตาราง 30 ข้อมูล ^1H NMR COSY และ HMBC ของสารประกอบ III บันทึกใน acetone- d_6

สารประกอบ III				
ตำแหน่ง	^1H NMR δ_{H} (ppm)	COSY ^a	HMBC ^b	
2	7.02 (1H, <i>d</i> , $J = 5.30$ Hz)	H-3	C-3, C-9, C-9a	
3	8.35 (1H, <i>d</i> , $J = 5.30$ Hz)	H-2	C-1, C-2, C-4a	
5	7.73 (1H, <i>d</i> , $J = 8.89$ Hz)	H-6	C-4a, C-6, C-7, C-8a	
6	7.17 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.89, 2.38$ Hz)	H-5, H-8	C-4b, C-7, C-8	
8	7.18 (1H, <i>d</i> , $J = 2.38$ Hz)	H-6	C-4b, C-6, C-7, C-9	
10	2.55 (3H, <i>s</i>)		C-1, C-2, C-9a	
11	3.91 (3H, <i>s</i>)		C-7	

^a proton-proton correlation

^b long-range heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation



ภาพประกอบ 9 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ III

สารประกอบ IV

สารประกอบ **IV** เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วโดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากของแข็งสีขาวเป็นสารหนืดสีส้ม จึงทำให้ไม่สามารถพิสูจน์โครงสร้างที่แน่นอนได้ แต่จากข้อมูล IR คาดว่าเป็นสารกลุ่ม acetogenin ที่มี hydroxymethyl-lactone ring ต่อด้วย alkyl side chain

จากข้อมูล IR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรด ที่ $\nu_{\max}$ 3469 cm^{-1} เป็นแถบการสั่นแบบยืดของ OH ที่ 3077, 1641, 947 cm^{-1} เป็นแถบการสั่นแบบยืดของ exomethylene group ที่ 2918, 2849 cm^{-1} เป็น C-H สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3 ที่ 2156 cm^{-1} เป็นแถบการสั่นแบบยืดของ C=C ที่ 1768 cm^{-1} เป็นการสั่นแบบยืด C=O ของ lactone (Seidel, Bailleul & Waterman. 1999 : 1101-1103)

จากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้กล่าวมาทั้งหมด คาดว่าสารประกอบ **IV** เป็นสารกลุ่ม acetogenin

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่าสารประกอบ **IV** มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *Branhamella catarrhalis* โดยมีค่า MIC 64 $\mu\text{g/mL}$

ข้อเสนอแนะ

ควรนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ปริมาณมาก มาเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ต่างๆ เพื่อทำให้เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- เกศแก้ว บุตรวงศ์. (2545). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซนและเมทานอลจากรากกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) PINET & GAGNEP). วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เคมีชีวภาพ). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร. ถ่ายเอกสาร.
- เจษฎา เนตรสว่างวิชา. (2548). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกรากมะควิด (*Ziziphus rugosa* Lam.). วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เคมี) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.
- ชวลิต นิยมธรรม. (2538). อนุกรมวิธานพืช อักษร ก ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ : เพื่อนพิมพ์.
- เต็ม สมิตินันท์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544). กรุงเทพฯ : สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2544). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
- นันทนา อรุณฤกษ์. (2537). การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบัส. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, เอมอร โสมนะพันธ์ และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. (2534). “การวิเคราะห์หาอัลคาลอยด์ในสมุนไพรไทย ภาค 1.” วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 8(4) : 110.
- มาลี บรรจบ, และคณะ. (2543). สมุนไพรพื้นบ้านภาคอีสาน เล่ม 1. กรุงเทพฯ : ธนสินเจริญการพิมพ์.
- _____. (2543). สมุนไพรพื้นบ้านภาคอีสาน เล่ม 3. กรุงเทพฯ : เอส อาร์ พรินติ้ง แมสโปรดักส์ จำกัด.
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). ร่วมอนุรักษ์มรดกไทย สารานุกรมสมุนไพรรวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- Abuzarga, M.H. & Shamma, M. (1982). “A spectral method for the determination of the position of a phenolic group on ring A of an aporphine. Four new aporphines from *Polyalthia acuminata*,” *J. Nat. Prod.* 45(4) : 471–475.

- Baron, E.J., Peterson, L.R. & Finegold, S.M. (1994). In *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th ed. Saint Louis : Mosby.
- Cassels, B.K. et al. (1989). "¹³C-NMR spectra of azafluorenones," *J. Nat. Prod.* 52(2) : 420-422.
- Cave, A. et al. (1978). "Alkaloids of Annonaceae. **XVIII** : Alkaloids from trunk bark of *Polyalthia suaveolens* Engl. and Diels.," *Planta Med.* 33(3) : 243-250.
- Chakrabarty, M. & Patra, A. (1990). "6,7-Dimethoxyonychine and other alkaloids of *Polyalthia longifolia*," *Indian J. Chem.* 29B : 394-395.
- Chakrabarty, M. & Nath, A.C. (1992). "A new Clerodane – type butenolide diterpene from the bark of *Polyalthia longifolia*" *J. Nat. Prod.* 55(2) : 256–258.
- Chen, C.-Y. et al. (2000). "Cytotoxic constituents of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*," *J. Nat. Prod.* 63(11) : 1475–1478.
- Chuakul, W. et al. (1997). *Medicinal Plants in Thailand Volumn 11*. Bangkok : Amarin Printing and Publishing Public.
- Connolly, J.D., Haque, M.E. & Kadir, A.A. (1996). "Two 7,7'-bisdehydroaporphine alkaloids from *Polyalthia bullata*," *Phytochemistry*. 43(1) : 295-297.
- Dan, S. et al. (1985). "Chemical investigation of some Annonaceae species," *Int. J. Crude Drug Res.* 23(2) : 73-76.
- Ding, H.-Y. et al. (2000). "Phytochemical and pharmacological studies on Chinese changzhu," *J. Chin. Chem. Soc.* 47(3) : 561-566.
- Ee, G.C.L. et al. (2001). "Larvicidal terpenoids form *Polyalthia jenkinsii* and *Polyalthia sumatrana*" *J. Trop. Med. Plants.* 2(1) : 27-30.
- Faizi, S. et al. (2003). "New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*," *Planta Med.* 69 : 350-355.
- Gonzalez, M.C., Sentandreu, M.A. et al. (1996). "Prenylated benzopyran derivatives from two *Polyalthia* species," *Phytochemistry*. 43(6) : 1361-1364.
- Gonzalez, M.C., Serrano, A. et al. (1995). "Polycerasoidin and Polycerasoidol, Two new Prenylated benzopyran derivatives from *Polyalthia cerasoides*," *J. Nat. Prod.* 58(8) : 1278-1284.

- Gonzalez, M.C., Zafra-Polo, M.C. et al. (1997) "Cerasodine and Cerasonine : New oxoprotoberberine alkaloids from *Polyalthia cerasoides*," *J. Nat. Prod.* 60(2) : 108-110.
- Goulart, M.O.F. et al. (1986). "Azafluorenones and Azaanthraquinone from *Guatteria dielsiana*," *Phytochemistry*. 25(7) : 1691-1695.
- Goyal, M.M. & Gupta, A. (1987). "Antibacterial activity of some active principles of *Polyalthia longifolia* leaves" *Indian J. Pharmac.* 19 : 216-220.
- Greca, M.D., Monaco, P. & Previtera, L. (1990). "Stigmasterols from *Typha latifolia*," *J. Nat. Prod.* 53(6) : 1430-1435.
- Gunasekera, S.P., Cordell, G.A. & Farnsworth, N.R. (1980). "Constituents of *Nealchornea Yapurenis* (Euphorbiaceae)," *J. Nat. Prod.* 43(2) : 285-287.
- Hamonniere, M., Leboeuf, M. & Cave, A. (1974). "Oliveridine and oliverine. New aporphine alkaloids of *Polyalthia oliveri*," *C.R. Acad. Sci, Ser. C.* 278(13) : 921-924.
- Hamonniere, M. et al. (1976). "Polycarpol, a new triterpene from *Polyalthia oliveri* Engl. and *Meiocarpidium lepidotum* Engl. and Diels. Annonaceae," *C.R. Hebd. Seances. Acad. Sci. Ser.C.* 282(22) : 1045-1047.
- Hao, X.-J. et al. (1995). "Clerodane diterpenes from *Polyalthia cheliensis*," *Phytochemistry*. 39(2) : 447-448.
- Hara, N. et al. (1995). "Clerodane and *ent*-halimane diterpenes from *Polyalthia longifolia*," *Phytochemistry*. 38(1) : 189-194.
- Hasan, C.M., Healey, T.M. & Waterman, P.G. (1982). "Chemical studies on the Annonaceae. Part 9. Indolosesquiterpene and aporphine alkaloids from *Greenwayodendron* (*Polyalthia*) *suaveolens* stem bark. X-ray crystal structure of Greenwayodendrin-3-one," *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* : 2807-2812.
- Hufford, C.D., Liu, S. & Clark, A.M. (1987). "Anticandidal activity of Eupolauridine and onychine, alkaloids from *Cleistopholis patens*," 50(5) : 961-964.
- Ikan, A. (1996). *Natural products : a Laboratory Guide*. 2nd ed. New York USA : Academic Press.

- Jork, H. et al. (1990). *Thin Layer Chromatography Reagent and Detection Method*. Vol.19 VCH-Vehlag. Weinheim.
- Kanokmedhakul, S., Hotani, I.I. et al. (1998). "A diynoic acid from *Polyalthia evecta*," *Phytochemistry*. 47(1) : 131-133.
- Kanokmedhakul, S., Yodbuddee, D. et al. (2003). "New antimalarial bis-dehydroaporphine alkaloids from *Polyalthia debilis*," *J. Nat.Prod.* 66(5) : 616-619.
- Kijjoa, A., Pinho, P.M.M. et al. (1993). "Clerodanes from *Polyalthia viridis*," *Phytochemistry*. 34(2) : 457-460.
- Kijjoa, A., Pinto, M.M.M. & Herz, W. (1989). "16-Hydroxy-3,13Z-kolavadien-16,15-olide from *Polyalthia viridis*," *Planta Med.* 55 : 205-206.
- Kijjoa, A., Tantisewie, B. et al. (1990). "Clerodane derivatives from *Polyalthia viridis*," *Phytochemistry*. 29(2) : 653-655.
- Koyama, J., Sugita, T. & Suzuta, Y. (1979). "Synthesis of an alkaloid onychine and related compounds : revised structure of onychine," *Heterocycles*. 12(8) : 1017-1019.
- Koyama, J. et al. (2005). "Structure-activity relations of azafluorenone and azaanthraquinone as antimicrobial compounds," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 ; 1079-1082.
- Lambors, C. & Vanderberg, J.P. (1979). "Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture," *J. Parasitol.* 65(3) : 418-420.
- Laprevote, O. et al. (1988). "Alcaloïdes des Annonacées, 87. azafluorenones de L' *Unonopsis spectabilis*," *J. Nat. Prod.* 51(3) : 555-561.
- Lavault, M. et al. (1990). "(-) – Thaipetaline, a tetrahydropyprotoberberine from a Malayan Annonaceae," *Phytochemistry*. 29(12) : 3845-3847.
- Leboeuf, M., Hamonniere, M. & Cave, A. (1976). "The structure of Polyalthenol, an indolosesquiterpene," *Tetrahedron Letters*. 39 : 3559-3562.
- Lee, K.-H., Chuah, C.-H. & Goh, S.-H. (1997). "Seco-benzyltetrahydroisoquinolines from *Polyalthia insignis* (Annonaceae)," *Tetrahedron Lett.* 38(7) : 1253-1256.

- Li, H.-Y. et al. (1993). "Anti-AIDS Agents, 9. Suberosol, a New C₃₁ Lanostane-type triterpene and Anti-HIV principle from *Polyalthia suberosa*," *J. Nat. Prod.* 56(7) : 1130-1133.
- Lue, Y.P. et al. (1998). "24-Methylene tetracyclic triterpenes from *Polyalthia lancilimba*," *Phytochemistry* . 49(7) : 2053-2056.
- Ma, X. et al. (1994). "Cytotoxic clerodane diterpenes from *Polyalthia barnesii*," *Phytochemistry*. 37(6) : 1659-1662.
- Murthy, M.M. et al. (2005). "Antimicrobial activity of clerodane diterpenoids from *Polyalthia longifolia* seeds," *Fitoterapia*. 76 : 336-339.
- NAPRALERT. (2005, December). *Polyalthia* (online) Available E-mail : NAPALERT <1. pump. uic. edu>
- Nitta, M., Ohnuma, M. & Iino, Y. (1991). "On the reaction of *N*-Vinyliminophosphoranes. Part 16. A new synthesis of 5*H*-Indeno [1,2-*b*] pyridines and 5*H*-Indeno [1,2-*b*] pyridine-5-ones," *J. Chem. Soc. PERKIN TRANS I.* : 1115-1118.
- Okorie, D.A. (1980). "A new class of indolosesquiterpene alkaloids from *Polyalthia suaveolens*," *Tetrahedron*. 36(13) : 2005-2008.
- O' Leary, W.M. (1977). *Practical Handbook of Microbiology*. 2nd ed. Florida : CRC Press, Inc.
- Pedersen, D.S. & Rosenbohm, C. (2001). "Dry column vacuum chromatography," *Synthesis*. 16 : 2431-2434.
- Phadnis, A.P. et al. (1988). "Clerodane diterpenoids from *Polyalthia longifolia*," *Phytochemistry*. 27(9) : 2899-2901.
- Rashid, M.A. et al. (1996). "Antimicrobial diterpenes from *Polyalthia longifolia* var. *pendulla* (Annonaceae)," *Phytother. Res.* 10 : 79-81.
- Richomme, P. et al. (1991). "A novel Leishmanicidal Labdane from *Polyalthia macropoda*," *Planta Med.* 57 : 552-554.
- Sahai, M. et al. (1996). "Chemical constituents of *Polyalthia suberosa*, A one-pot synthesis of 1-carbamoylpyrrolidin-2-one, a constituent of the plant," *Indian J. Chem.* 35B : 510-511.

- Seidel, V. Bailleul, F. & Waterman, P.G. (1999). "Goniothalamusin, a linear acetogenin from *Goniothalamus gardneri*," *Phytochemistry*. 52 : 1101-1103.
- Tadic, D., Cassels, B.K. & Cave, A. (1988). "Spectral properties of ring-c-oxygenated 4-azafluorenes and 4-azafluorenones. The structures of natural onychine derivatives," *Heterocycles*. 27(2) : 407-421.
- Trager, W. & Jensen, J.B. (1976). "Human Malaria Parasites in Continuous Culture," *Science*. 193 : 673-675.
- Tuchinda, P., Pohmakotr, M. et al. (2000). "An azaanthracene alkaloid from *Polyalthia suberosa*," *Phytochemistry*. 53 : 1079-1082.
- Tuchinda, P., Thanyachareon, W. et al. (2001). "2-Substituted furans from *Polyalthia suberosa*," *Planta Med.* 67 : 572-575.
- Wheatley, C.H. (1993). *Foundations in Microbiology*. USA : Wm.C. Brown.
- Wu, Y.-C. (1989). "Azafluorene and aporphine alkaloids from *Polyalthia longifolia*," *Heterocycles*. 29(3) : 463-475.
- Wu, Y.-C. & Duh, C.-Y. (1990). "Two new natural azafluorene alkaloids and cytotoxic aporphine alkaloid from *Polyalthia longifolia*," *J. Nat. Prod.* 53(5) : 1327-1331.
- Zafra-Polo, M.C. et al. (1996). "Polyalthidin : New Prenylated benzopyran inhibitor of the mammalian mitochondrial respiratory chain," *J. Nat. Prod.* 59(10) : 913-916.
- Zhao, G. et al. (1991). "Cytotoxic clerodane diterpenes from *Polyalthia longifolia*," *Planta Med.* 57 : 380-383.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

developing reagent (Jork, et al. 1990 : 196) มีส่วนผสมดังนี้

1. anisaldehyde 0.50 mL
2. conc. H_2SO_4 8.00 mL
3. glacial acetic acid 10.00 mL
4. methanol 85.00 mL

เก็บ reagent ที่เตรียมไว้ในขวดสีชา

อภิธานศัพท์

อภินิหารศัพท์

d	= doublet
dd	= doublet of doublet
td	= triplet of doublet
t	= triplet
m	= multiplet
s	= singlet
J	= coupling constant
δ	= chemical shift
TMS	= tetramethylsilane
CDCl_3	= deuteriochloroform
Acetone- d_6	= deuterated acetone
mp	= melting point
Me	= methyl group
m/z	= mass to charge ratio
M^+	= molecular ion
EIMS	= electron impact mass spectrum
TOFMS	= time-of-flight mass spectrum
^1H NMR	= Proton Nuclear Magnetic Resonance
^{13}C NMR	= Carbon Nuclear Magnetic Resonance
MHz	= Mega Hertz
COSY	= ^1H -relayed correlated spectroscopy
DEPT	= Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
HMQC	= ^1H -detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC	= Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
FT IR	= Fourier Transform Infrared
UATR	= Universal Attenuated Total Reflectance
UV	= Ultraviolet

อภิธานศัพท์ (ต่อ)

λ_{max}	= maximum absorption wavelength
ν_{max}	= maximum absorption frequencies
cm^{-1}	= wave number
μg	= microgram
TLC	= thin layer chromatography
conc.	= concentrate
MIC	= minimum inhibitory concentration
IC ₅₀	= 50% inhibitory concentration
ED ₅₀	= a concentration of a compound which show 50% killing effect on cell when compared to that of a control

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวปทุมพร มานาม
วันเดือนปีเกิด	24 พฤษภาคม 2522
สถานที่เกิด	อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	15/2 หมู่ 1 ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี 12170
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2539	มัธยมศึกษาตอนปลาย (แผนกวิทย์-คณิต) โรงเรียนอัมพรไพศาล จังหวัดนนทบุรี
พ.ศ. 2543	วท.บ. (เคมี) สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาเขตกรรณ ในพระบรมราชูปถัมภ์
พ.ศ.2549	วท.ม. (เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ