

องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ

ปริญญาโท
ของ
ประนอม สุขเกื้อ

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี

เมษายน 2545

ลิขสิทธิ์เป็นของ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ

บทคัดย่อ
ของ
ประนอม สุขเกษ

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี

เมษายน 2545

h 201120

ประนอม สุขเกื้อ (2545), องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ ปริญญานิพนธ์ กศ.ม. (เคมี).

กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม ;

รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พินิติ ระตะนานุกุล.

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ (*Crataeva nurvala* Ham.) พบว่าในสารสกัดชั้น hexane และสารสกัดชั้น MeOH พบสารประกอบกรดคาร์บอกซิลิกชนิดสายโซ่ยาว lupeol และ 30-norlupan-3 β -ol-20-one ส่วนผสมของ β -sitosterol กับ stigmasterol และ glucocapparin โดยที่ 30-norlupan-3 β -ol-20-one ยังไม่เคยพบในพืชชนิดนี้มาก่อน และพบว่าสารสกัดชั้น hexane และ 30-norlupan-3 β -ol-20-one แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคอย่างอ่อนที่ MIC 200 μ g/mL

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *CRATEVA*
NURVALA HAM. STEM BARK

AN ABSTRACT
BY
PRANOM SOOKKUA

Presented in partial fulfillment of the requirements
for Master of Education degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
April 2002

Pranom Sookkua. (2002). *Chemical Constituents of Crateva nurvala Ham. Stem Bark.*

Master thesis, M.Ed. (Chemistry). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee : Assoc. Prof. Dr.Sunit Suksamrarn, Assist. Prof. Dr. Piniti Ratananukul.


Phytochemical investigation of the hexane and methanol extracts of *Crateva nurvala* Ham. stem bark led to the isolation of a long chain unsaturated carboxylic acid, lupeol, 30-norlupan-3 β -ol-20 one, a mixture of β -sitosterol and stigmasterol and glucocapparin, in which 30-norlupan-3 β -ol-20-one has never been previously isolated from this plant. Both the hexane extract and 30-norlupan-3 β -ol-20-one possessed weak antimycobacterial activity with the MIC of 200 μ g/mL.

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง


องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ

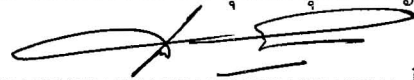
ของ
นางประนอม สุขเกื้อ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

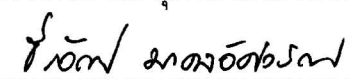

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.นภาพร หะวานนท์)
วันที่ ๓๐ เมษายน พ.ศ. ๒๕๔๕

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์


..... ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พินิต ระตะนากุล)


..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภลักษณ์ ประัชชญาสิทธิกุล)


..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีรวัดน์ มงคลอัครวัฒน์)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจากรองศาสตราจารย์ ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ ประธานควบคุมปริญญาานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิณิตี รัตนานุกูล กรรมการควบคุมปริญญาานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องในการทำปริญญาานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อคิดที่มีคุณค่าแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัครวัฒน์ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญาานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการแก้ไขปริญญาานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัยจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีที่ให้บริการเป็นอย่างดี และน้องๆนิสิตปริญญาโททุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความกรุณาตรวจเอกลักษณ์ของพืชที่ใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณคุณนิติรัตน์ ฉิมน้อย แห่งสถาบันวิจัยจุฬารณิการบันทึก mass spectra ขอกราบขอบพระคุณ ดร.บงกช ธารชมพู ในการบันทึกข้อมูล ^1H NMR (400 MHz) และขอขอบคุณ Thailand –Tropical Diseases Research Program (T-2) ในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรค

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวของคุณเสนาะ อินศิริ ที่ช่วยรับภาระเลี้ยงดูให้ในช่วงที่เรียนปริญญาโท ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และท้ายสุดขอขอบคุณอาจารย์ฉัตรพงษ์ สุขเกษ์ ที่สนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำปริญญาานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

คุณค่าของปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแต่ บิดา มารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ประนอม สุขเกษ์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับ <i>C. nurvala</i> Ham.....	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล <i>Crateva</i>	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ <i>C. nurvala</i> Ham.....	8
ฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในสกุล <i>Crateva</i> และ <i>C. nurvala</i> Ham.....	11
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	12
พืชที่ใช้ในงานวิจัย.....	12
การสกัดสารจากเปลือกต้น การแยก การทำให้บริสุทธิ์.....	12
วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์/เครื่องมือ.....	12
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	13
การศึกษาสมบัติทางกายภาพ และสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	14
เครื่องมือ.....	14
แผนภูมิการสกัดและการแยกสาร.....	15
4 ผลการวิจัย.....	19
ผลการสกัดสารจากเปลือกต้นกุ่มน้ำ.....	19
ผลการแยกสารสกัดชั้น hexane และการทำให้บริสุทธิ์.....	19
ผลการแยกสารสกัดชั้น MeOH และการทำให้บริสุทธิ์.....	24
การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	24

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5	สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ..... 27
	การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบ A 27
	การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบ B..... 29
	การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบ C..... 30
	การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบ D..... 32
	การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบ E..... 38
	ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ..... 40
	ข้อเสนอแนะ..... 40
	บรรณานุกรม..... 41
	ภาคผนวก..... 46
	อภิธานศัพท์..... 69
	ประวัติย่อผู้วิจัย..... 72

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในสกุล <i>Crateva</i>	11
2	แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของ <i>C.nurvala</i>	11
3	ผลการแยกส่วนที่เป็นของเหลวหนืดจากสารสกัดชั้น hexane.....	19
4	ผลการแยกสารกลุ่ม HF 1.....	20
5	ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.....	20
6	ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.3.....	21
7	ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.3.5.....	21
8	ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.4.....	22
9	ผลการแยกส่วนที่เป็นของแข็งจากสารสกัดชั้น hexane.....	23
10	ผลการแยกสารกลุ่ม HS 6.....	23
11	แสดงข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR และ DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ C.....	31
12	เปรียบเทียบ ^1H และ ^{13}C NMR chemical shift ของ lupeol, สารประกอบ D และ 30-norlupan-3 β -ol-20-one ใน CDCl_3	34
13	แสดงข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ D.....	36
14	แสดงข้อมูล ^1H NMR ที่สัมพันธ์กับ COSY และ HMBC ของสารประกอบ D.....	37
15	แสดงข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ E.....	39
16	แสดงข้อมูล ^1H NMR ที่สัมพันธ์กับ COSY และ HMBC ของสารประกอบ E.....	39

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1	กุ่มน้ำ (<i>Crateva nurvala</i> Ham.)..... 4
2	แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก <i>C. adansonii</i> 5
3	แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก <i>C. religiosa</i> 7
4	แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก <i>C. tapia</i> 8
5	แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก <i>C. nurvala</i> Ham..... 10
6	แผนภูมิการสกัดสารจากเปลือกต้นกุ่มน้ำ..... 15
7	แผนภูมิการแยกส่วนที่เป็นของเหลวหนึ่งจากสารสกัดชั้น hexane..... 16
8	แผนภูมิการแยกส่วนที่เป็นของแข็งจากสารสกัดชั้น hexane..... 17
9	แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้น MeOH..... 18
10	แสดง fragmentation ของสารประกอบ A..... 28
11	แสดงความสัมพันธ์ของ HMBC ที่สำคัญของสารประกอบ D..... 33
12	แสดง fragmentation ของสารประกอบ D..... 35
13	FT IR spectrum ของสารประกอบ A..... 47
14	¹ H NMR spectrum ของสารประกอบ A..... 48
15	¹³ C NMR spectrum ของสารประกอบ A..... 49
16	FT IR spectrum ของสารประกอบ B..... 50
17	¹ H NMR spectrum ของสารประกอบ B..... 51
18	¹ H NMR spectrum ของสารประกอบ C..... 52
19	FT IR spectrum ของสารประกอบ D..... 53
20	¹ H NMR spectrum ของสารประกอบ D..... 54
21	¹³ C NMR spectrum ของสารประกอบ D..... 55
22	DEPT 90 และ DEPT 135 NMR spectrum ของสารประกอบ D..... 56
23	HMQC spectrum ของสารประกอบ D..... 57
24	COSY spectrum ของสารประกอบ D..... 58
25	ส่วนหนึ่งของ HMBC spectrum ของสารประกอบ D..... 59
26	Mass spectrum ของสารประกอบ D..... 60

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
27 FT IR spectrum ของสารประกอบ E.....	61
28 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ E.....	62
29 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ E.....	63
30 DEPT 90 และ DEPT 135 NMR spectrum ของสารประกอบ E.....	64
31 HMQC spectrum ของสารประกอบ E.....	65
32 COSY spectrum ของสารประกอบ E.....	66
33 HMBC spectrum ของสารประกอบ E.....	67
34 Mass spectrum ของสารประกอบ E.....	68

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

มนุษย์ได้ใช้ประโยชน์จากพืชมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยการนำมาเป็นอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ที่อยู่อาศัย และยารักษาโรค ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของมนุษย์ โดยเฉพาะยารักษาโรค โดยนำส่วนต่างๆของพืชมาใช้รักษาโรคทั้งโดยตรงหรือโดยประกอบ เป็นเครื่องยา ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีทางการแพทย์และเภสัชวิทยาได้เจริญก้าวหน้ามากขึ้น มีการผลิตยาสำเร็จรูปมาใช้รักษาโรคต่างๆได้รวดเร็ว แต่พบว่าการใช้ยาแผนปัจจุบันเป็นเวลานานอาจมีผลข้างเคียง และเกิดอาการดื้อยาได้ สมุนไพรนับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก นอกจากนี้สมุนไพรยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อาหารเสริมสุขภาพ ยาปราบศัตรูพืช (วันดี กฤษณพันธ์. 2536 : 8) การใช้สมุนไพรในรูปของสารบริสุทธิ์สามารถปรับขนาดการใช้ได้ง่าย และให้ผลแน่นอนกว่าการใช้สมุนไพรโดยนำส่วนต่างๆของพืชทั้งหมดมาใช้ ทั้งยังกำจัดอาการข้างเคียงที่อาจเกิดจากสารอื่นที่มีในสมุนไพรได้ จึงมีการศึกษาทางเภสัชวิทยา การศึกษาทางเคมีเกี่ยวกับการแยกสารสำคัญ การทำสารที่แยกได้ให้บริสุทธิ์ และการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารเพื่อเป็นข้อมูลที่จะนำสมุนไพรไปใช้อย่างคุ้มค่าและเป็นประโยชน์สูงสุด

กุ่มน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crateva nurvala* Ham. หรือ *C. magna* (Lour.) DC. มีชื่อพื้นเมืองเรียกแตกต่างกันแต่ละท้องถิ่น (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 95) ในตำราแพทย์แผนไทยใช้ส่วนต่างๆของกุ่มน้ำในการรักษาโรค เช่น เปลือกเป็นยาระงับพิษที่ผิวหนัง แก้ไข้ ขับน้ำเหลือง เป็นยาบำรุง ไบมีกลิ่นหอม รสขม เป็นยาเจริญอาหาร แก้อัมพาต ขับเหงื่อ ดอกแก้เจ็บคอ ใช้ครันเนื้อครันตัว รากแก้ปวดท้อง บำรุงธาตุ ขับหนองให้กระจาย แก้นิว (นันทวัน นุณยะประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539 : 277) ในประเทศอินเดียมีการศึกษาพบสารในกุ่มน้ำมีฤทธิ์ด้านการเกิดนิว (Anand, et al. 1994 : 417-421) กระตุ้นเอนไซม์ pyrophosphatase ยับยั้งเอนไซม์ 4 ชนิด คือ acid phosphatase alkaline phosphatase glycolate oxidase lactate dehydrogenase และด้านการเกิด oxalate ในปัสสาวะ (Varalakshmi, Shamila & Latha. 1990 : 313-321)

จะเห็นได้ว่ากุ่มน้ำเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาได้หลากหลาย ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะโรคในเขตร้อนอย่างเช่นวัณโรค ในการศึกษาครั้งนี้จะได้ข้อมูลในการสกัด การแยก การทำให้บริสุทธิ์ การศึกษาสูตรโครงสร้างและ

ฤทธิ์ในการต้านเชื้อวัณโรคของสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในกุ่มน้ำ เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาด้านเภสัชวิทยาต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยก และการทำให้บริสุทธิ์ของสารที่เป็นองค์ประกอบบางชนิดจากเปลือกต้นของกุ่มน้ำ และนำสารที่ได้บางชนิดไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อวัณโรค
2. เพื่อศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบวิธีการสกัด การแยก และการทำสารให้บริสุทธิ์
2. ทำให้ทราบสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์
3. เป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปสู่การศึกษาด้านอื่น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการใช้สมุนไพรให้ก้าวหน้ายิ่งขึ้น
4. สามารถนำความรู้ ทักษะ และประสบการณ์ในการวิจัยครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนและงานวิจัย

ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้ส่วนเปลือกต้นที่แห้งของกุ่มน้ำ ซึ่งเก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี โดยซื้อผ่านทางร้านไท้อันจัน
2. การสกัดสารจากเปลือกต้นของกุ่มน้ำ ใช้ตัวทำละลาย hexane และ MeOH ตามลำดับ
3. นำสารสกัดชั้น hexane และชั้น MeOH มาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟี และ/หรือการตกผลึก
4. การศึกษาสูตรโครงสร้างใช้วิธีทางสเปกโทรสโคปี ได้แก่ อินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (Infrared spectroscopy) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy) และแมสสเปกโทรสโคปี (Mass spectroscopy)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

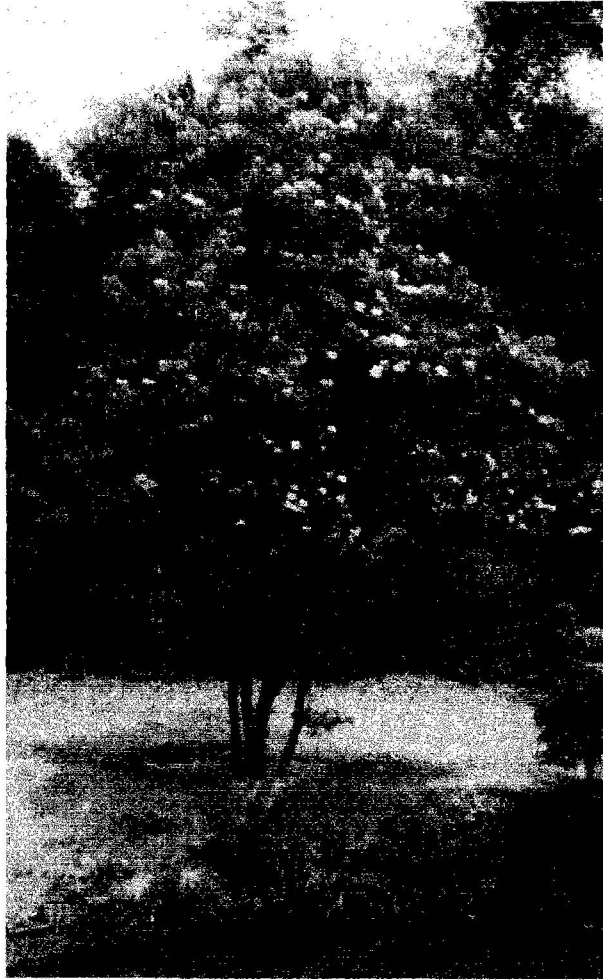
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับ *C. nurvala* Ham.

กุ่มน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Crateva nurvala* Ham. ชื่อพ้อง *C. magna* (Lour.) DC. เป็นพืชในวงศ์ Capparidaceae มีชื่อเรียกแตกต่างกันแต่ละท้องถิ่น เช่น กุ่มน้ำ (ทั่วไป) รอดะ (ละว้า - เชียงใหม่) เหาะเถาะ (กะเหรี่ยง - กาญจนบุรี) อ่ามอ (สุพรรณบุรี) (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 95) กุ่มน้ำมักพบขึ้นทั่วไปตามริมฝั่งแม่น้ำ ขอบบึง ตั้งแต่ความสูงระดับน้ำทะเลถึง 600 เมตร จัดเป็นไม้ต้น สูง 4-20 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 40 เซนติเมตร ใบเป็นช่อ ช่อหนึ่งมี 3 ใบ ลักษณะเป็นรูปหอกหรือรูปขนาน มีความกว้าง 1.5-6.5 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบแคบสอบ ใบที่อยู่ด้านข้างโคนใบจะเบี้ยวเล็กน้อย เนื้อใบค่อนข้างหนามันคล้ายแผ่นหนัง เส้นกลางใบสีค่อนข้างแดง เส้นใบมี 10-15 คู่ ผิวใบด้านล่างจะมีละอองสีเทาปกคลุมอยู่ ด้านบนมีสีเทาอมน้ำตาล มันเป็นเงา ก้านใบยาว 4-14 เซนติเมตร แข็ง มีร่องตามยาว ที่ปลายก้านจะมีต่อมน้ำตาล ขนาด 1 มิลลิเมตร ดอกออกเป็นช่อตรงปลายกิ่งที่มีใบหนาแน่น ช่อดอกยาวประมาณ 10-16 เซนติเมตร มีประมาณ 20-100 ดอก ก้านดอกย่อยยาว 4-7 เซนติเมตร กลีบรองดอกรูปไข่ ปลายแหลมกว่า 1.2-1.5 มิลลิเมตร ยาว 2-3.5 มิลลิเมตร กลีบดอกรูปค่อนข้างกลม สีเหลืองขมนมเปียกปน รุปรี หรือรูปไข่ ปลายมน โคนกลมสอบไปยังก้าน ตัวกลีบกว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ยาว 1.5-3 เซนติเมตร มีก้านของกลีบดอกยาว 5-12 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้มี 15-25 อัน ยาว 3.5-6 เซนติเมตร ก้านเกสรตัวผู้มีสีม่วง อับเรณูยาวประมาณ 2.3 มิลลิเมตร ยอดเกสรตัวเมียมีสีม่วงเข้ม ก้านชูรังไข่ยาว 3.5-5.5 เซนติเมตร เมื่อเป็นผลอาจจะยาวขึ้นอาจพบยาวถึง 10 เซนติเมตร ผลรูปรี ยาว 5-8 เซนติเมตร เปลือกผลหนา 4-5 มิลลิเมตร มีสะเก็ดบางๆ สีเหลืองอมเทากระจายอยู่ทั่วไป ในไม้ซ้าจะหลุดไป ผิวเกลี้ยง เมล็ดเป็นรูปเกือบกลม ยาว 6-9 มิลลิเมตร และหนา 2-3 มิลลิเมตร (ก่องกานดา ชยามฤต. 2528 : 307) (ภาพประกอบ 1)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชในสกุล *Crateva*

C. adansonii

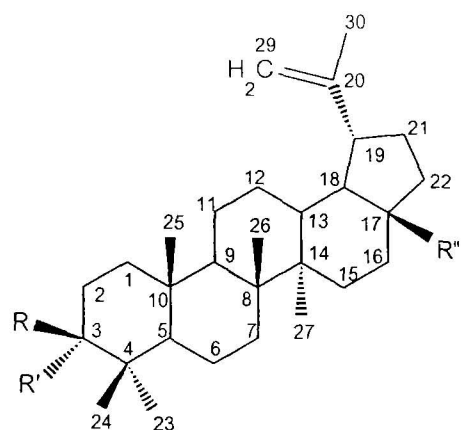
พัทธาน - เซทที และอับบราฮัม (Pattan-Shetty & Abraham. 1978 : 226) นำสารสกัดชั้น petroleum ether จากเปลือกต้นของ *C. adansonii* มาแยกได้สาร lupeol (1) β -sitosterol (2) ส่วนสารสกัดในชั้น EtOH แยกได้ flavonoid ซึ่งต่อมาผู้วิจัยกลุ่มเดิมได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือก



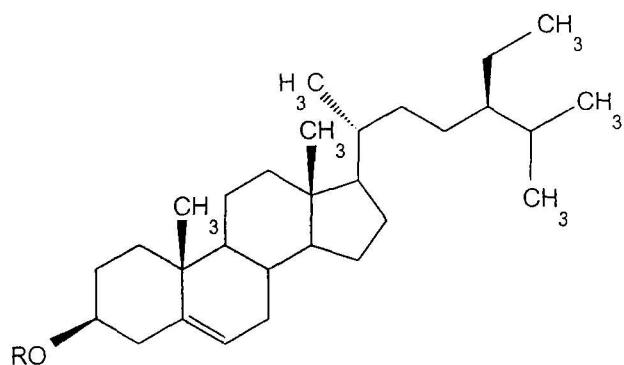
ดอก

ภาพประกอบ 1 กุ่มน้ำ (*Crateva nurvala* Ham.)

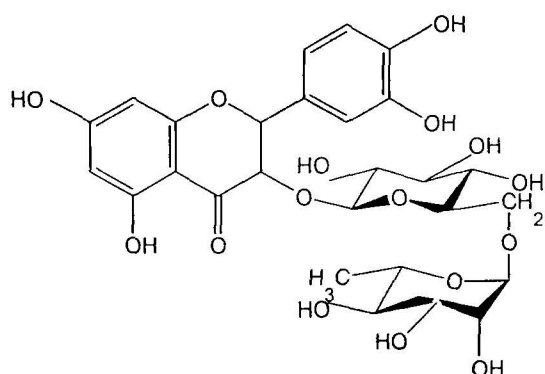
รากของพืชชนิดนี้พบสารที่เหมือนกับเปลือกต้น และพบว่า flavonoid นั้นคือ rutin (3) (Pattan-Shetty, Raj & Abraham. 1982 :16) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2



- (1) $R = OH, R' = H, R'' = CH_3$: lupeol
- (4) $R, R' = O, R'' = CH_3$: lupenone
- (9) $R = OH, R' = H, R'' = CO_2H$: betulinic acid
- (17) $R = OAc, R' = H, R'' = CH_3$: lupeol acetate
- (18) $R = H, R' = OH, R'' = CH_3$: *epi*-lupeol



- (2) $R = H$: β -sitosterol
- (12) $R = \text{Glucosyl}$: sitosterol glucoside
- (21) $R = \text{Ac}$: β -sitosterol acetate



(3) rutin

ภาพประกอบ 2 แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก *C. adansonii*

C. erythrocarpa

สุมานเสธรกุล (Sumanasrethakul. 1972 : 1-50) นำสารสกัดชั้น light petroleum จากเปลือกต้นของ *C. erythrocarpa* มาแยกได้สาร 4 ชนิด คือ lupeol (1) β -sitosterol (2) lupenone (4) และสารผสม long chain hydrocarbon และจากการแยกสารจากใบของพืชชนิดเดียวกันนี้พบสารชนิดเดียวกัน แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2

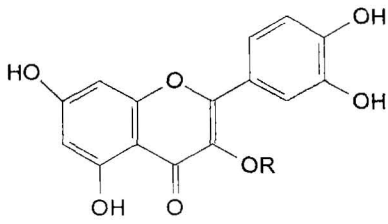
C. religiosa

โฮ และ เซน (Ho & Chen. 1959 : 14-20) นำสารสกัดชั้นน้ำจากใบและลำต้นของ *C. religiosa* มาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งโรคท้องเสียพบว่ายับยั้ง *Shigella dysenteriae* ได้ดี และพบว่าสารสกัดชั้นน้ำและชั้นแอลกอฮอล์จากใบแห้งมี tannin และ chlorophyll และเมื่อนำสารสกัดชั้นแอลกอฮอล์มาแยกต่อ พบ rutin (3) quercetin (5) และ isoquercitrin (6) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 3

เซธิ และธาเกอร์ (Shethi & Thakur. 1978 : 223-224) นำสารสกัดชั้น hexane จากเปลือกต้นของ *C. religiosa* มาแยกสารพบว่าเปลือกลำต้นอ่อนที่เก็บในเดือนมีนาคม พบว่ามี lupeol (1) β -sitosterol (2) และ diosgenin (7) ซึ่งเป็นครั้งแรกที่พบในพืชชนิดนี้ ส่วนเปลือกลำต้นแก่ที่เก็บในเดือนสิงหาคมถึงกันยายนมี lupeol (1) β -sitosterol (2) ceryl alcohol (8) และ betulinic acid (9) ในการแยกสารจากผลพบว่ามี tricontane tricontanol (10) ceryl alcohol (8) β -sitosterol (2) และ capparin (11) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 3

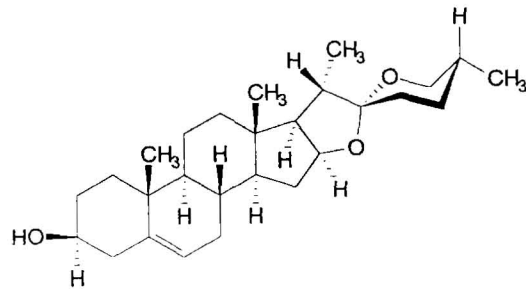
เซธิ และคณะ (Sethi, et al. 1984 : 2402-2403) นำเปลือกต้นของ *C. religiosa* Frost.f. มาสกัดด้วย petroleum ether และ EtOH ตามลำดับ นำสารสกัดชั้น EtOH มา partition ด้วย benzene EtOAc และ n-BuOH ตามลำดับ ส่วนที่เป็นชั้น EtOAc นำมาแยกได้สาร 4 ชนิด คือ sitosterol glucoside (12) (-)-epiafzelechin (13) (-)-epiafzelechin -5-O- β -D-glucoside (14) และ (-)-catechin (15) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 3

กรอสเวนเนอร์ ซูปรियोโน และเกร (Grosvenor, Supriono & Gray. 1995 : 97-111) นำสารสกัดชั้น MeOH จากใบและต้นของ *C. religiosa* มาทดสอบพบว่ามียุทธียับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดีแต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Saccharomyces cerevisiae* และ *Fusarium oxysporum*

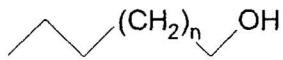


(5) R = H ; quercetin

(6) R = Glucosyl ; isoquercitrin

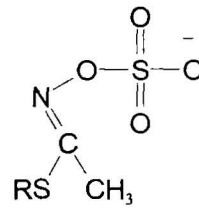


(7) diosgenin



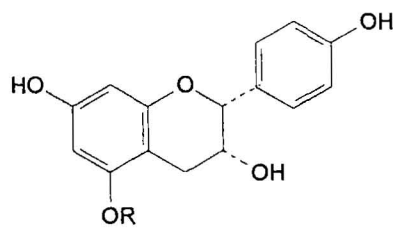
(8) n = 22 : ceryl alcohol

(10) n = 26 : tricontanol



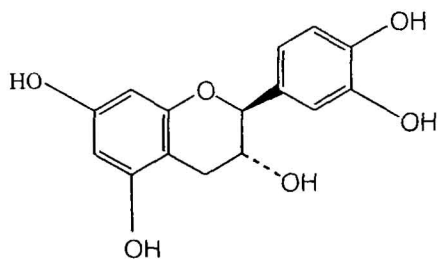
(11) R = H : caparin

(25) R = glucosyl : glucocapparin



(13) R = H ; (-)-epiafzelechin

(14) R = Glu ; (-)-epiafzelechin -5-O-β-D-glucoside

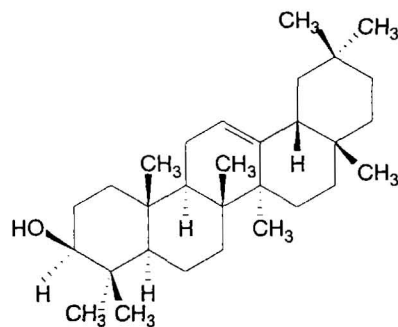


(15) (-) catechin

ภาพประกอบ 3 แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก *C. religiosa*

C. tapia

โซซา และคณะ (Souza, et al. 1970 : 67-70) แยกสารจากพืชพื้นเมือง 3 ชนิด คือ *Byrsonima sericea* *Crataeva tapia* และ *Curatella americana* พบสาร triterpenoid ที่เหมือนกันคือ β -amyrin (16) lupeol (1) และ betulinic acid (9) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 4

(16) β -amyrin

ภาพประกอบ 4 แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก *C. tapia*

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ *C. nurvala* Ham.

ลักษมี และชาวฮาน (Lakshmi & Chauhan. 1975 : 254-256) นำสารสกัดชั้น benzene จากเปลือกรกของ *C. nurvala* มาแยก ได้สาร 8 ชนิด โดยสารหลักได้แก่ lupeol (1) β -sitosterol (2) lupeol acetate (17) 3-*epi*-lupeol (18) α -spinasterol acetate (19) และ taraxasterol (20) ส่วนสารรองได้แก่ lupenone (4) และ β -sitosterol acetate (21) นับเป็นครั้งแรกที่พบสารใหม่ 6 ชนิดจากพืชชนิดนี้ นอกจาก lupeol และ β -sitosterol ซึ่งเคยพบมาแล้ว แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 5

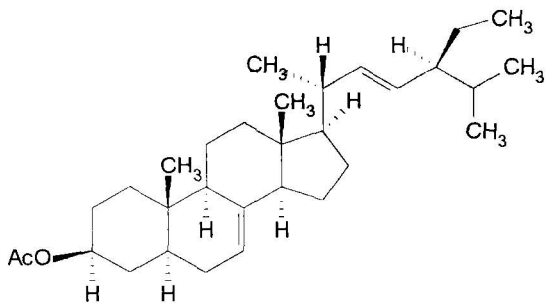
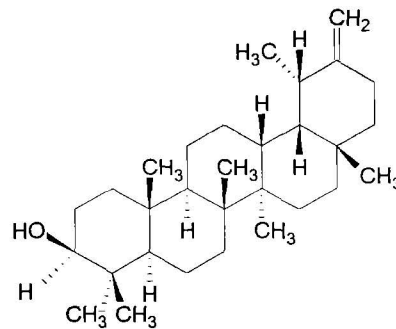
ลักษมี และชาวฮาน (Lakshmi & Chauhan. 1977 : 214-216) นำสารสกัดชั้น petroleum ether จากเปลือกรกของ *C. nurvala* มาแยกได้สารชนิดใหม่เป็น pentacyclic triterpene alcohol คือ lupa-21,20 (29) diene-3 β -ol (22) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 5

อาห์มัด, ฟิซซา และคณะ (Ahmad, Fizza, et al. 1987 : 1186) นำสารสกัดชั้น EtOH จากเปลือกต้นของ *C. nurvala* มาแยกได้ alkaloid คือ cadabicine (23) และสารที่แยกได้จากธรรมชาติเป็นครั้งแรกคือ cadabicine diacetate (24) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 5

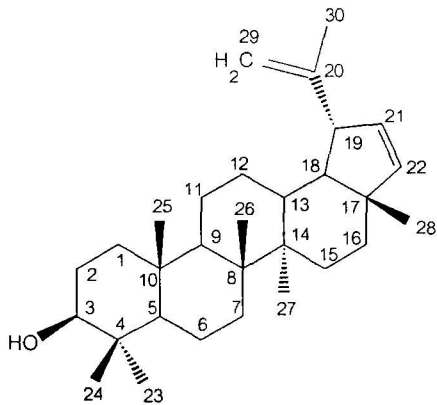
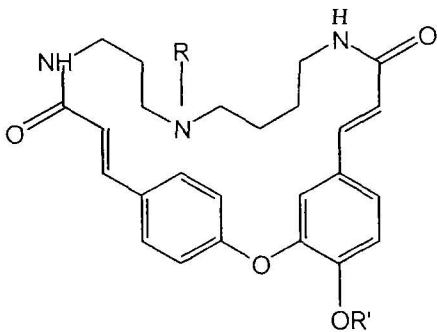
ชาร์มา และแพธยา (Sharma & Padhya. 1989 : 572-573) แยกสารจากเปลือกต้นของ *C. nurvala* พบ glucocapparin (25) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 3

อาห์มัด, แอมเบอร์ และคณะ (Ahmad, Amber, et al. 1992 :475-479) แยกสารจากเปลือกต้นของ *Cadaba farinosa*, Forssk. และ *C. nurvala* Bunch-Ham. ได้สารเหมือนกันเป็น spermidine alkaloid ชนิดใหม่ คือ cadabicine methyl ether (26) แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 5

วีระชาติ (Verachato. 1985 : 1-6) นำเปลือกต้นกุ่มน้ำมาแยกไขมันออกด้วย hexane แล้วนำมาสกัดด้วย EtOH สามารถแยกสารได้ 3 ชนิด ได้แก่ lupeol (1) glucocapparin (25) และ sucrose แสดงสูตรโครงสร้างในภาพประกอบ 2 และ 3

(19) α -spinasterol acetate

(20) taraxasterol

(22) lup-21,20 (29) diene-3 β -ol

(23) R = R' = H : cadabicine

(24) R = R' = Ac : cadabicine diacetate

(26) R = H, R' = me : cadabicine methyl ether

ภาพประกอบ 5 แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จาก *C. nurvala* Ham.

ตาราง 1 แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในสกุล *Crateva*

ประเภทสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	ส่วนของพืช	อ้างอิง
crude extract (EtOH และน้ำ)	การหดตัวของ กล้ามเนื้อท้อง	เปลือกต้นและใบของ <i>C. tapia</i>	Glauce., et al. 1970 : 116-122
alkaloid	ละลายก้อนนิ่ว	รากและเปลือกของ <i>C. religiosa</i>	Arseculeratue, Gunatilaka & Ralph. 1985 : 323-335
crude extract (EtOH)	ยับยั้งการเกิดตับ เป็นพิษ	รากและใบของ <i>C. adanosii</i>	Yang., et al. 1987 : 103-110
crude drug	เป็นยาคุมกำเนิด	ทุกส่วนของ <i>C. unilocularis</i>	Bhattarai. 1994 : 13-26
crude drug	แก้ปวดศีรษะ	ใบของ <i>C. religiosa</i>	Grosvenor., et al. 1995 : 75-95
crude extract (MeOH)	ยับยั้ง HSV-1	ใบของ <i>C. religiosa</i>	Hattori., et al. 1995 : 270-276
crude extract (MeOH)	ยับยั้งแบคทีเรีย	ใบและต้นของ <i>C. religiosa</i>	Grosvenor. Supriono & Gray. 1995 : 97-111

ตาราง 2 แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของ *C. nurvala*

ประเภทสาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	ส่วนของพืช	อ้างอิง
crude extract (น้ำ)	ละลายก้อนนิ่ว และรักษา โรคต่อมลูกหมากโต	เปลือกต้น	Deshpande, Sahu & Kumar. 1982 : 46-53
crude extract (EtOH)	ใช้คุมกำเนิด	เปลือกต้น	Sharma., et al. 1983 : 183-187
crude extract (น้ำ)	กระตุ้น enzyme และ ยับยั้งการเกิด oxalate	ทุกส่วน	Varalakshmi, Shamila & Latha. 1990 : 313-321
crude extract (น้ำ)	รักษาโรคที่เกิดจาก Guinea worm	ทุกส่วน	Joshi. 1991 : 33-38
lupeol	รักษานิวไนโต	เปลือกต้น	Malini, Baskar & Varalakshmi. 1995 : 211-220
Lupeol และ lupeol linoleate	ยับยั้งการเกิด ไขข้ออักเสบ	เปลือกต้น	Getha & Varalakshmi. 1999 : 495-497

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในการวิจัย

ใช้ส่วนเปลือกต้นของกุ่มน้ำ ซึ่งเก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี เมื่อ พ.ศ.2540 โดยซื้อผ่านทางร้านไท้อันจัน กรุงเทพมหานคร

การสกัดสารจากเปลือกต้น การแยก และการทำให้บริสุทธิ์

วัสดุและสารเคมี

1. เปลือกต้นกุ่มน้ำแห้งที่บดละเอียด
2. ตัวทำละลายอินทรีย์ (กลั่น) ได้แก่ hexane CHCl_3 EtOAc EtOH และ MeOH
3. silica gel 60 GF₂₅₄ (Merck 7730.1000) for thin-layer chromatography
4. silica gel 60 (Merck 1.07729.5000 และ 1.07734.2500) for column chromatography
5. silica gel 60 GF₂₅₄ (Merck 1.05554) TLC aluminium sheets for thin – layer chromatography
6. spray reagent (conc. sulfuric acid - anisaldehyde – methanol - glacial acetic acid ในอัตราส่วน 8.00 : 0.50 : 85.00 : 10.00) (Jork, et al. 1990 : 196)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa 240 A)
2. คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1 2.5 และ 10 เซนติเมตร
3. เครื่องบดสมุนไพร
4. rotary evaporator (Buchi Rotavapor R – 114)
5. UV lamp (Spectrolite ENF – 260 C/F)
6. glass drying oven (Buchi : TO 51)
7. hot plate (Framo M 21/1)

ขั้นตอนการวิจัย

1. การสกัด (ภาพประกอบ 6)

1.1 การสกัดด้วย hexane

นำเปลือกต้นกุ่มน้ำที่แห้งและบดละเอียดหนัก 4.5 kg แช่ใน hexane 20 L และอุ่นใน water bath 40-50 °C นาน 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองแล้วระเหย hexane ออกด้วย rotary evaporator ได้สารสกัดชั้น hexane กากที่เหลือนำมาแช่ใน hexane อีก 2 ครั้ง รวมสารสกัดชั้น hexane ทั้งหมดเข้าด้วยกันหนัก 41.4 g

1.2 การสกัดด้วย MeOH

กากที่เหลือจากการสกัดด้วย hexane นำมาตากให้แห้งแล้วแช่ใน MeOH 20 L ทำ 3 ครั้ง โดยทำเช่นเดียวกับการสกัดด้วย hexane รวมสารสกัดชั้น MeOH ทั้งหมดเข้าด้วยกันหนัก 160.2 g เมื่อตรวจสอบ TLC ของสารสกัดชั้น MeOH นี้พบว่า มีลักษณะคล้ายกับสารสกัดชั้น hexane จึงทำ partition ด้วย hexane ได้ส่วนที่เป็นสารสกัดชั้น hexane (M 1) และส่วนที่เป็นสารสกัดชั้น MeOH (M 2) ซึ่งพบว่ามีของแข็งใน M 2 จึงทำการกรองและล้างด้วย MeOH เล็กน้อย ได้ของแข็งสีครีม 10.0 g ส่วน filtrate นำไประเหยตัวทำละลายให้แห้ง ได้ของเหลวหนัก 136.5 g

2. การแยกและการทำให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดชั้น hexane (ภาพประกอบ 7, 8) และชั้น MeOH (ภาพประกอบ 9) มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (CC) โดยใช้อัตราส่วนของสาร : silica gel ประมาณ 1:25 โดยน้ำหนัก (Pavia, et al. 1995 : 732) ใช้วิธีบรรจุแบบเปียก แล้วชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เก็บสารละลายที่ผ่านจากคอลัมน์ออกเป็นส่วนๆ (fraction) นำแต่ละส่วนไปตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC การหาตำแหน่งของสารบน TLC ทราบได้จากการมองเห็นภายใต้แสง UV (254 และ/หรือ 365 nm) หรือใช้ spray reagent บนแผ่น TLC นำไปให้ความร้อนที่ 80-100 °C นาน 5 นาที จะปรากฏเป็นสีแตกต่างกัน รวมส่วนที่ให้ผล TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน จากนั้นมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย CC และ/หรือ prep.TLC (preparative thin-layer chromatography) และ/หรือการตกผลึก

3. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

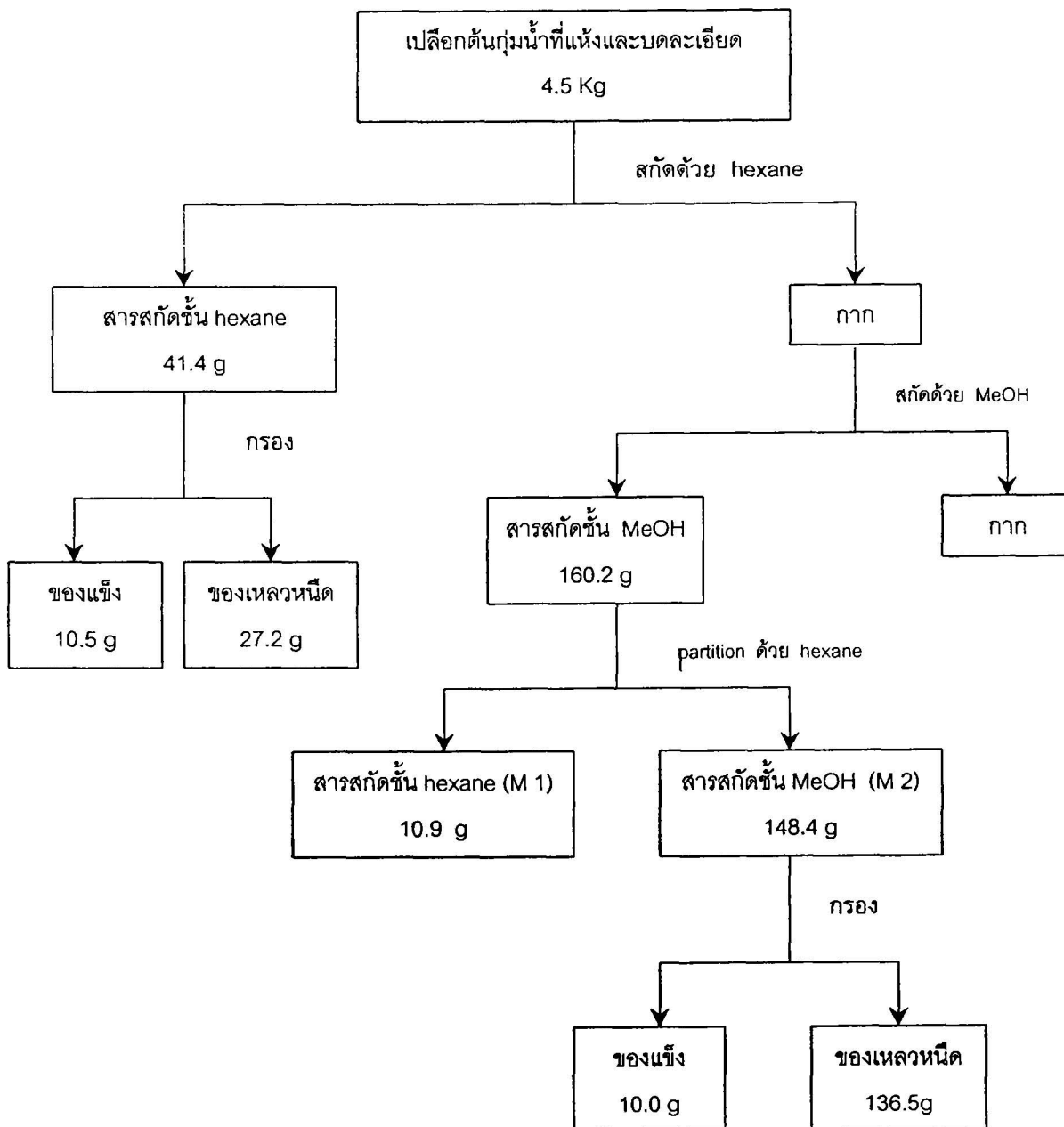
สารสกัดทั้งชั้น hexane และ MeOH สารกลุ่มต่างๆที่แยกได้จากแต่ละสารสกัด และ

สารบริสุทธิ์บางชนิด ส่งทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรค (*In vitro* antituberculous activity against *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra) วิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรคใช้วิธี Microplate Alamar Blue Assay (MABA) (Collin & Franzblau. 1997 : 1004)

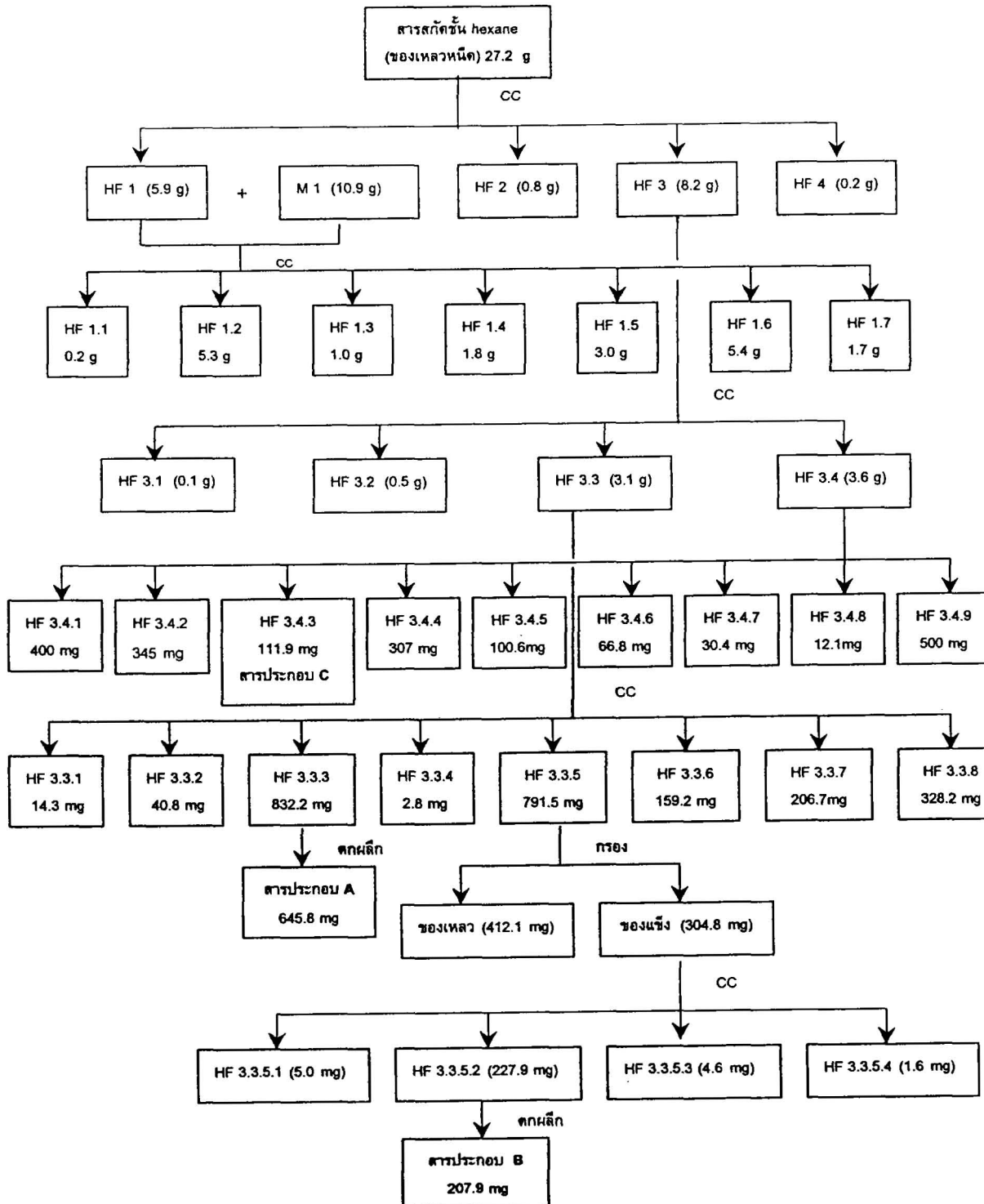
การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ เครื่องมือ

1. Fourier Transform Infrared spectrophotometer (FT-IR) (Perkin Elmer FT-IR spectrum BX)
2. Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance spectrometer (NMR) (Bruker AM 400 , Bruker Avance 300)
3. Mass spectrometer (MS) (Finnigan MAT 90)
4. Melting point apparatus (Griffin)
5. Polarimeter (JASCO DIP 370)

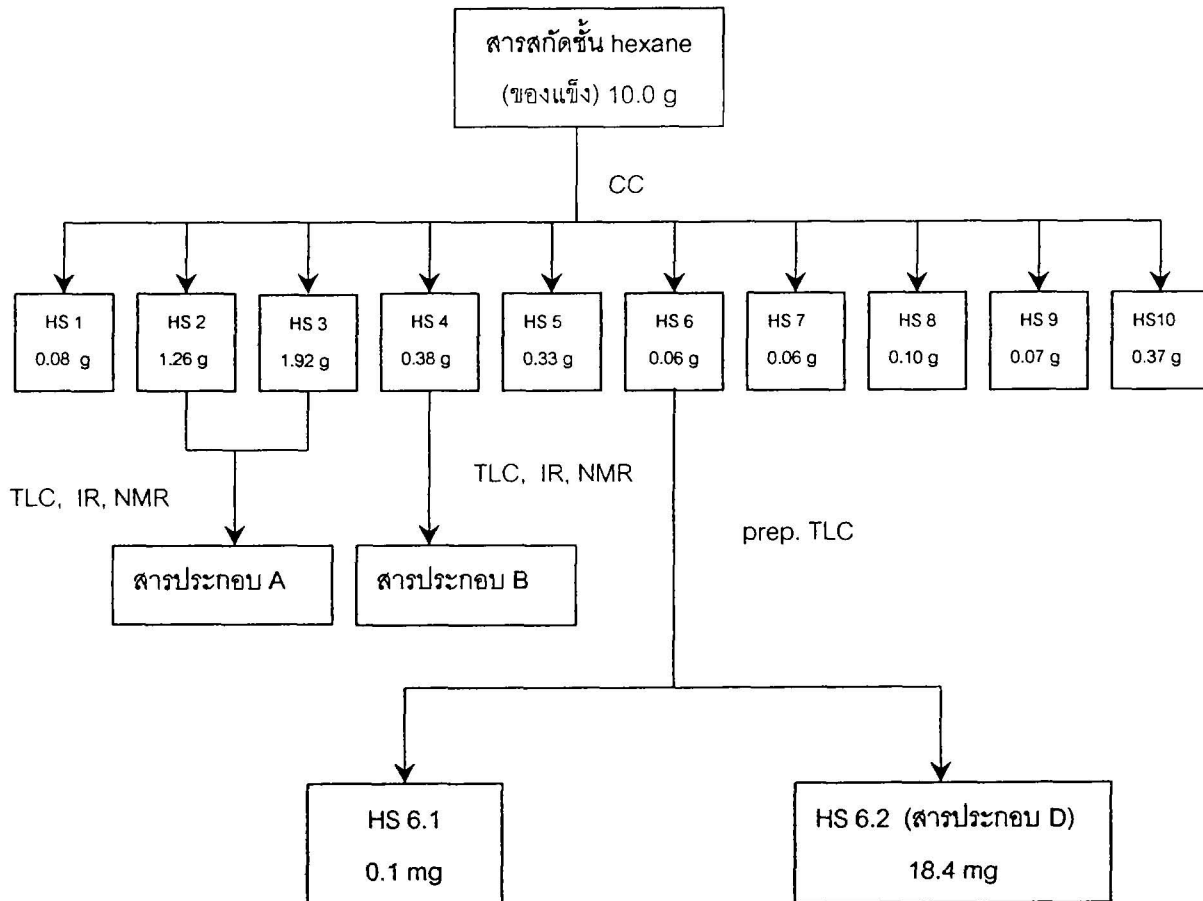
นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาหาจุดหลอมเหลว (°C) และศึกษาสูตรโครงสร้างด้วยเครื่องมือชนิดต่างๆดังกล่าว โดย IR-spectra แถบการดูดกลืนหลักของรังสีอินฟราเรด (ν_{max}) รายงานในหน่วย reciprocal centimetre (cm^{-1}) NMR spectra รายงานในหน่วย Chemical shift (δ) ที่ down field จาก TMS หรือ DSS (internal standard δ 0.00) และ Mass spectra รายงานในหน่วยของ m/z (% Relative intensity)



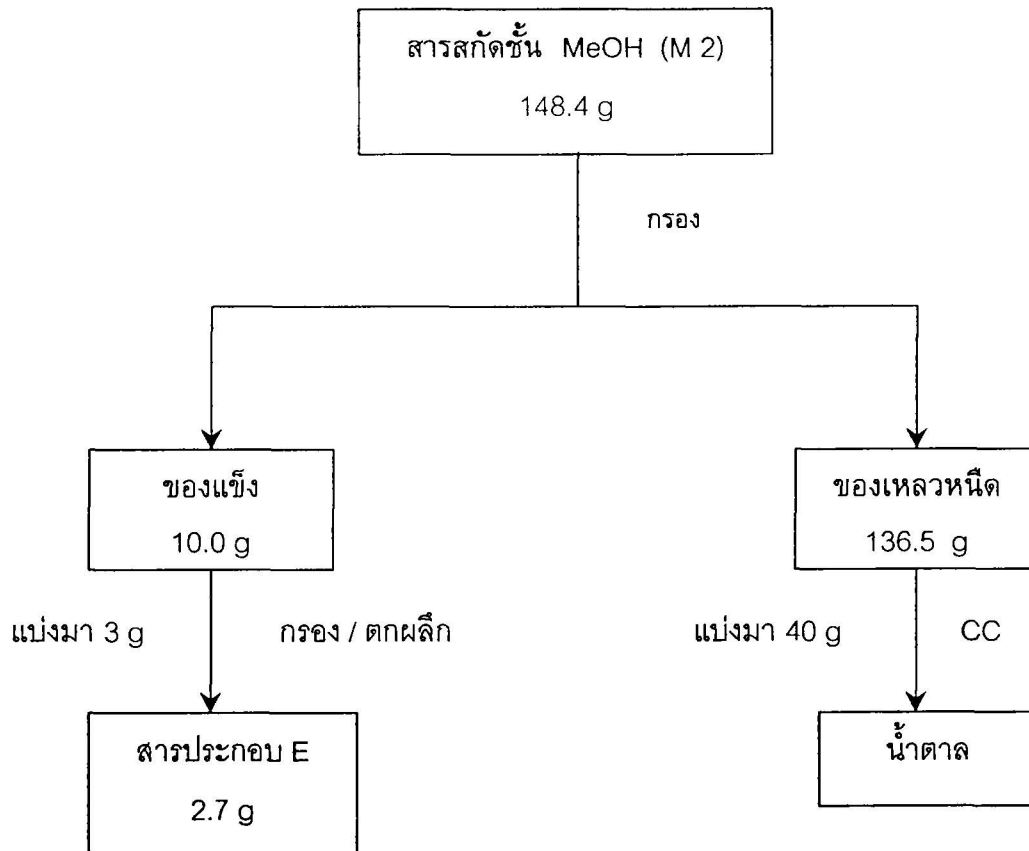
ภาพประกอบ 6 แผนภูมิการสกัดสารจากเปลือกต้นกุ่มน้ำ



ภาพประกอบ 7 แผนภูมิการแยกส่วนที่เป็นของเหลวหนักจากสารสกัด hexane



ภาพประกอบ 8 แผนภูมิการแยกส่วนที่เป็นของแข็งจากสารสกัดชั้น hexane



ภาพประกอบ 9 แผนภูมิการแยกสารสกัดชั้น MeOH

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการสกัดสารจากเปลือกต้นกุ่มน้ำ (ภาพประกอบ 6)

นำเปลือกต้นของกุ่มน้ำ 4.5 kg มาสกัดด้วย hexane ได้ส่วนที่เป็นของแข็งสีขาวปนเหลือง 10.5 g และส่วนที่เป็นของเหลวหนืดสีเขียวปนเหลือง 27.2 g จากนั้นนำส่วนที่เป็นกากมาสกัดด้วย MeOH ได้สารสกัดชั้น MeOH 160.2 g และส่วนที่เป็นกาก นำสารสกัดชั้น MeOH มาทำ partition ด้วย hexane ได้สารสกัดชั้น hexane (M 1) 10.9 g และสารสกัดชั้น MeOH (M 2) 148.4 g นำ M 2 ไปกรองได้ของแข็งสีครีม 10.0 g และส่วนที่เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม 136.5 g

ผลการแยกสารสกัดชั้น hexane และการทำให้บริสุทธิ์

1. ส่วนที่เป็นของเหลวหนืด (ภาพประกอบ 7)

1.1 นำสารสกัดหนัก 27.2 g มาแยกด้วย CC แล้วชะด้วยตัวทำละลาย EtOAc และ EtOAc - MeOH โดยค่อยๆเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายเก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 100 mL นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 4 กลุ่ม (ตาราง 3)

ตาราง 3 ผลการแยกส่วนที่เป็นของเหลวหนืด จากสารสกัดชั้น hexane

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (g)	ลักษณะสาร
EtOAc	HF 1	5.9	ของเหลวหนืดสีเหลือง
	HF 2	0.8	ของแข็งสีขาว
	HF 3	8.2	ของแข็งปนของเหลวหนืดสีเหลือง
EtOAc - MeOH (95:5)	HF 4	0.2	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาล

1.2 นำสารกลุ่ม HF 1 รวมกับสารสกัดชั้น hexane (M 1) 10.9 g มาแยกด้วย CC และชะด้วยตัวทำละลาย hexane hexane - CHCl_3 CHCl_3 และ CHCl_3 - MeOH เก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 100 mL ได้สาร 7 กลุ่ม (ตาราง 4)

ตาราง 4 ผลการแยกสารกลุ่ม HF 1

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (g)	ลักษณะสาร
hexane	HF 1.1	0.2	คล้ายขี้ผึ้งสีน้ำตาล
hexane - CHCl ₃ (50:50)	HF 1.2	5.3	ของเหลวหนืดสีเหลือง
(30:70)	HF 1.3	1.0	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
CHCl ₃	HF 1.4	1.8	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
CHCl ₃ - MeOH (99.5:0.5)	HF 1.5	3.0	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน
(99.0:1.0)	HF 1.6	5.4	ของเหลวหนืดสีเขียวขี้ม้า
(98.5:1.5)	HF 1.7	1.7	สารเหนียวสีเขียวขี้ม้า

1.3 สารกลุ่ม HF 2 มิได้ทำการแยกต่อ เนื่องจาก TLC มีลักษณะคล้ายกับ HF 1 ส่วน HF 4 มีน้ำหนักน้อย

1.4 นำสารกลุ่ม HF 3 มาแยกด้วย CC แล้วชะด้วยตัวทำละลาย CHCl₃ CHCl₃ - EtOAc และ CHCl₃ - MeOH โดยค่อยๆเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายเก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 100 mL นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 4 กลุ่ม (ตาราง 5)

ตาราง 5 ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (g)	ลักษณะสาร
CHCl ₃	HF 3.1	0.1	ของเหลวหนืดสีเหลือง
	HF 3.2	0.5	ของแข็งสีขาว
CHCl ₃ - EtOAc (95:5)	HF 3.3	3.1	แข็งสีขาวปนเขียว
CHCl ₃ - MeOH (99.5:0.5)	HF 3.4	3.6	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลปนเขียว

1.5 นำสารกลุ่ม HF 3.3 มาแยกด้วย CC และชะด้วยตัวทำละลาย hexane - CHCl₃ CHCl₃ และ CHCl₃ - EtOAc เก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 10 mL ได้สาร 8 กลุ่ม (ตาราง 6)

ตาราง 6 ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.3

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
hexane - CHCl ₃ (90:10)	HF 3.3.1	14.3	คล้ายขี้ผึ้งสีขาว
(70:30)	HF 3.3.2	40.8	คล้ายขี้ผึ้งสีขาวปนเขียว
(50:50)	HF 3.3.3	832.2	ของแข็งสีขาว
(40:60)	HF 3.3.4	2.8	คล้ายขี้ผึ้งสีขาวปนของเหลวหนืด
(40:60)	HF 3.3.5	791.5	ของแข็งสีขาวปนของเหลวหนืดสีเหลือง
(30:70)	HF 3.3.6	159.2	ของเหลวหนืดสีเหลือง
(00:100)	HF 3.3.7	206.7	ขี้ผึ้งสีขาวปนเขียว
CHCl ₃ - EtOAc (50:50)	HF 3.3.8	328.2	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม

1.6 สารกลุ่ม HF 3.3.3 มีลักษณะเป็นของแข็ง จึงนำมาตกผลึกด้วย EtOH ได้ผลึกสีขาวหนัก 645.8 mg เรียกว่า สารประกอบ A นำสารประกอบ A ไปศึกษาสูตรโครงสร้าง

1.7 นำสารกลุ่ม HF 3.3.5 มากรองเอาของแข็งออกแล้วล้างด้วย hexane ได้ของแข็ง (304.8 mg) filtrate นำไประเหยจนแห้งได้ของเหลวหนืด (412.1 mg) นำส่วนที่เป็นของแข็ง (304.8 mg) มาแยกด้วย CC ชะด้วยตัวทำละลาย hexane และ hexane - CHCl₃ เก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 5 mL ได้สาร 4 กลุ่ม (ตาราง 7)

1.8 สารกลุ่ม HF 3.3.6 - HF 3.3.8 มิได้แยกต่อ เนื่องจาก ข้อมูล ¹H NMR พบว่า มิได้มีสารที่น่าสนใจ

ตาราง 7 ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.3.5

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
hexane	HF 3.3.5.1	5.0	คล้ายขี้ผึ้งสีเหลืองปนเขียว
hexane - CHCl ₃ (60:40)	HF 3.3.5.2	227.9	ของแข็งสีขาว
(40:60)	HF 3.3.5.3	4.6	ของเหลวหนืดสีเหลือง
(20:80)	HF 3.3.5.4	1.6	คล้ายขี้ผึ้งสีขาว

1.9 สารกลุ่ม HF 3.3.5.2 มีลักษณะเป็นของแข็ง จึงนำมาตกผลึกด้วย EtOH ได้ผลึกสีขาวหนัก 207.9 mg เรียกว่า สารประกอบ B นำสารประกอบ B ไปศึกษาสูตรโครงสร้าง

1.10 นำสารกลุ่ม HF 3.4 มาแยกด้วย CC แล้วด้วยตัวทำละลาย CHCl_3 , CHCl_3 - EtOAc และ EtOAc โดยค่อยๆเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลาย เก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 10 mL นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 9 กลุ่ม (ตาราง 8)

ตาราง 8 ผลการแยกสารกลุ่ม HF 3.4

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
CHCl_3	HF 3.4.1	400.0	ของแข็งสีขาวปนน้ำตาล
CHCl_3 - EtOAc (98:2)	HF 3.4.2	345.0	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลปนเขียว
	HF 3.4.3	111.9	ของเหลวหนืดสีเหลือง
	HF 3.4.4	307.0	ของแข็งปนของเหลวหนืดสีเขียวเหลือง
	(97:3) HF 3.4.5	100.6	ของแข็งสีเขียว
	HF 3.4.6	66.8	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
	(96:4) HF 3.4.7	30.4	ของเหลวหนืดสีเหลือง
	HF 3.4.8	12.1	ของเหลวหนืดสีเหลือง
EtOAc	HF 3.4.9	500.0	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล

1.11 สารกลุ่ม HF 3.4.1 และ HF 3.4.2 มี TLC คล้ายกับ HF 3.4.3 จึงมิได้ทำการแยกต่อ ส่วนสารกลุ่ม HF 3.4.4 ถึง HF 3.4.9 จาก TLC และข้อมูล $^1\text{H NMR}$ พบว่ามีสารที่น่าสนใจ

1.12 สารกลุ่ม HF 3.4.3 เรียกว่า สารประกอบ C นำสารประกอบ C ไปศึกษาสูตรโครงสร้าง

2. ส่วนที่เป็นของแข็ง (ภาพประกอบ 8)

2.1 นำสารสกัดหนัก 10.5 g มาแยกด้วย CC ชะด้วยตัวทำละลาย hexane - CHCl_3

CHCl_3 และ CHCl_3 - MeOH เก็บส่วนที่ชะได้ครั้งละ 10 mL ได้สาร 10 กลุ่ม (ตาราง 9)

ตาราง 9 ผลการแยกส่วนที่เป็นของแข็งจากสารสกัดชั้น hexane

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (g)	ลักษณะสาร
hexane - CHCl_3	(60:40) HS 1	0.08	คล้ายขี้ผึ้งสีเขียวปนเหลือง
	(40:60) HS 2	1.26	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
	(20:80) HS 3	1.92	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
	(10:90) HS 4	0.38	ของแข็งผสมขี้ผึ้งสีขาวปนเหลือง
	(00:100) HS 5	0.33	คล้ายขี้ผึ้งสีเขียวยาว
CHCl_3 - MeOH	(99.8:0.2) HS 6	0.06	ของแข็งสีขาวปนเขียว
	(99.5:0.5) HS 7	0.06	ของเหลวหนืดสีเขียว
	(99.4:0.6) HS 8	0.10	ของแข็งผสมของเหลวหนืดสีเขียว
	(99.0:1.0) HS 9	0.07	สารเหนียวสีเขียว
	(97.0:3.0) HS 10	0.37	สารเหนียวสีเขียว

2.2 สารกลุ่ม HS 2 และ HS 3 เมื่อตรวจสอบด้วย TLC และ IR ให้ผลเหมือนสารประกอบ A

2.3 สารกลุ่ม HS 4 เมื่อตรวจสอบด้วย TLC และ IR ให้ผลเหมือนสารประกอบ B

2.4 นำสารกลุ่ม HS 6 มาแยกด้วย prep. TLC ขนาด 20 X 20 เซนติเมตร เคลือบด้วย silica gel 60GF₂₅₄ หนา 2.5 มิลลิเมตร ในระบบที่อิมตัวด้วยตัวทำละลาย hexane - EtOAc ในอัตราส่วน 8 : 2 แยกได้สาร 2 กลุ่ม (ตาราง 10)

ตาราง 10 ผลการแยกสารกลุ่ม HS 6

R_f	สารกลุ่ม	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
0.78	HS 6.1	0.1	คราบสีเขียวอ่อน
0.68	HS 6.2	18.4	ของแข็งสีขาว

2.5 สารกลุ่ม HS 6.2 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว หนัก 18.4 mg เรียกว่า สารประกอบ D นำสารประกอบ D ไปศึกษาสูตรโครงสร้าง

ผลการแยกสารสกัดชั้น MeOH และการทำให้บริสุทธิ์ (ภาพประกอบ 9)

1. ส่วนที่เป็นของแข็ง

สารสกัดหนัก 10.0 g แบ่งมา 3 g ตกผลึกด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับ MeOH ได้ผลึกสีขาวหนัก 2.7 g เรียกว่า สารประกอบ E นำสารประกอบ E ไปศึกษาสูตรโครงสร้าง

2. ส่วนที่เป็นของเหลวหนืด

แบ่งสารสกัดมา 40 g มาแยกด้วย CC เมื่อตรวจสอบด้วย ข้อมูล IR และ NMR ของกลุ่มสารที่แยกได้ พบว่าเป็นส่วนผสมของน้ำตาล จึงมิได้ทำการแยกต่อ

การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ นำมาศึกษาสูตรโครงสร้าง โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี

1. สารประกอบ A

สารประกอบ A เป็นผลึกสีขาว หนัก 645.8 mg มีจุดหลอมเหลว 212 - 214 °C (EtOH) $R_f = 0.5$ (CHCl_3)

FT IR ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3386 2942 2869 1639 1453 1380 1041 883

(ภาพประกอบ 13)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.60 (1 H, *br s*) 4.54 (1H, *s*) 3.16 (1H, *dd*, $J = 10.8, 5.3$ Hz) 2.35 (1 H, *dt*, $J = 11.0, 5.6$ Hz) 1.90 (1H, *m*) 1.66 (3H, *s*) 1.63 - 1.05 (*m*) 1.01 (3H, *s*) 0.94 (3H, *s*) 0.92 (3 H, *s*) 0.80 (3 H, *s*) 0.76 (3 H, *s*) 0.73 (3 H, *s*) 0.65 (1H, *d*, $J = 9.0$ Hz) (ภาพประกอบ 14)

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 151.0 109.3 79.0 55.3 50.4 48.3 48.0 43.0 42.8 40.8 40.0 38.8 38.6 38.0 37.1 35.6 34.2 29.8 28.0 27.4 25.1 20.9 19.3 18.3 18.0 16.1 16.0 15.4 14.5 (ภาพประกอบ 15)

ES-MS m/z : 426 $[\text{M}]^+$ 411 383 316 257 218 189 161 135 107 68 55

(100)

2. สารประกอบ B

สารประกอบ B เป็นผลึกสีขาว น้ำหนัก 207.9 mg จุดหลอมเหลว 136 - 137 °C

(EtOH) $R_f = 0.5$ ($\text{CHCl}_3 - \text{EtOAc} = 9.4 : 0.6$)

FT IR ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3423 2937 2869 1638 1464 1378 1047 1020

(ภาพประกอบ 16)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.38 (1 H, *br d*, $J = 5.1$ Hz) 5.18 (0.2 H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) 5.03 (0.2 H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) 3.55 (1 H, *m*) 2.27 - 0.85 (*m*) 1.03 (3H, *s*) 0.94 (3H, *d*, $J = 6.5$ Hz) 0.85 (*d*, $J = 7.2$ Hz) 0.84 (*d*, $J = 7.2$ Hz) 0.87 (3H, *t*, $J = 7.4, 7.4$ Hz) และ 0.70 (3H, *s*) (ภาพประกอบ 17)

3. สารประกอบ C

สารประกอบ C เป็นของเหลวหนืดสีเหลือง น้ำหนัก 111.9 mg $R_f = 0.6$ (CHCl_3)

FT IR ν_{max} (*neat*) cm^{-1} : 3442 2920 2855 2673 1713 1463 1411 1374

1247

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.31 (1H, *t*, $J = 5.6$ Hz) 2.31 (2H, *t*, $J = 7.5$ Hz) 1.97 (2H, *m*) 1.59 (2 H, *m*) 1.20 (24 -36 H, *br s*) 0.82 (3H, *t*, $J = 6.5$ Hz)

(ภาพประกอบ 18)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 179.8 129.9 129.6 34.0 31.8 29.6 - 29.0 27.2 25.0 และ 24.6

EI-MS m/z (% relative intensity) : 396 (1.6) 382 (0.7) 368 (0.7) 354 (0.7) 340 (1.6) 312 (3.3) 284 (12.0) 264 (23.8) 111(29.4) 97 (59.0) 83 (79.6) 69 (100)

4. สารประกอบ D

สารประกอบ D เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 18.4 mg จุดหลอมเหลว 188 - 190 °C

$R_f = 0.5$ (hexane - EtOAc = 8 : 2)

FT IR ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3463 2925 2855 1695 1458 1382 1360 1046

(ภาพประกอบ 19)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 3.17 (1 H, *dd*, $J = 10.9, 5.0$ Hz) 2.55 (1 H, *dt*, $J = 11.3, 5.8$) 2.13 (3 H, *s*) 2.00 (2 H, *m*) 1.79 (2 H, *t*, $J = 11.2$ Hz) 1.6 – 0.83 (*m*) 0.99 (3 H, *s*) 0.94 (3 H, *s*) 0.80 (3 H, *s*) 0.75 (3 H, *s*) 0.73 (3 H, *s*) 0.66 (1 H, *d*, $J = 9.4$ Hz) (ภาพประกอบ 20)

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 213.0 78.9 55.1 52.6 50.2 49.6 43.0 42.6 40.7 39.8 38.8 38.6 37.1 37.0 34.9 34.1 29.2 28.0 27.6 27.3 27.2 27.1 20.8 18.2 17.9 16.0 15.8 15.3 14.4 (ภาพประกอบ 21)

EI-MS m/z (% relative intensity) : 428 [M] $^+$ (0.1) 410 (0.9) 207 (2) 189 (4) 135 (3) 97 (66) 81 (15) 57 (100) 55 (70) (ภาพประกอบ 26)

HREI-MS พบ 428.3652 (คำนวณได้ 428.3654 สำหรับสูตรโมเลกุล $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$)

$[\alpha]_D^{29} = -30.40^\circ$ ($c = 0.125$, CHCl_3)

5. สารประกอบ E

สารประกอบ E เป็นผลึกสีขาวหนัก 2.7 g มีจุดหลอมเหลว $193 - 194^\circ\text{C}$ ($\text{H}_2\text{O} - \text{MeOH}$) $R_f = 0.6$ ($\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O} = 65 : 35 : 10$)

FT IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3508 3435 3375 2922 2892 1576 1289 1270 1219 1086 1052 801 625 (ภาพประกอบ 27)

^1H NMR (300 MHz, D_2O , DSS) δ : 5.07 (1 H, *d*, $J = 9.8$ Hz) 3.90 (1 H, *dd*, $J = 12.5, 1.9$ Hz) 3.70 (1 H, *dd*, $J = 12.5, 5.9$ Hz) 3.56 (*m*) 3.45 (*m*) 2.40 (3 H, *s*) (ภาพประกอบ 28)

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O , DSS) δ : 165.2 84.4 82.7 79.8 74.5 71.9 63.4 20.8 (ภาพประกอบ 29)

FAB- MS m/z (% relative intensity) : 356 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ (3) 277 (7) 225 (49) 185 (67) 133 (100) 93 (65) (ภาพประกอบ 34)

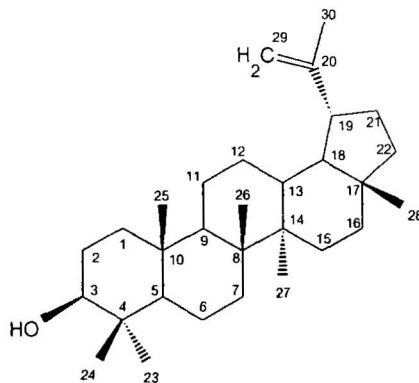
บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

การศึกษาร่องรอยประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกุ่มน้ำ โดยนำมาสกัดด้วย hexane และ MeOH ตามลำดับ จากนั้นนำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วย CC และ prep.TLC โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ แล้วชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งสารสกัดชั้น hexane แยกได้สารบริสุทธิ์ 4 ชนิด ได้แก่ สารประกอบ A B C และ D ส่วนสารสกัดชั้น MeOH แยกได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด คือสารประกอบ E การพิสูจน์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ กระทำโดยการวิเคราะห์ข้อมูล สเปกโทรสโกปี และโดยการเปรียบเทียบข้อมูลสเปกโทรสโกปีนี้ และค่าจุดหลอมเหลวและค่า $[\alpha]_D$ กับที่เคยมีผู้รายงานไว้

สารประกอบ A

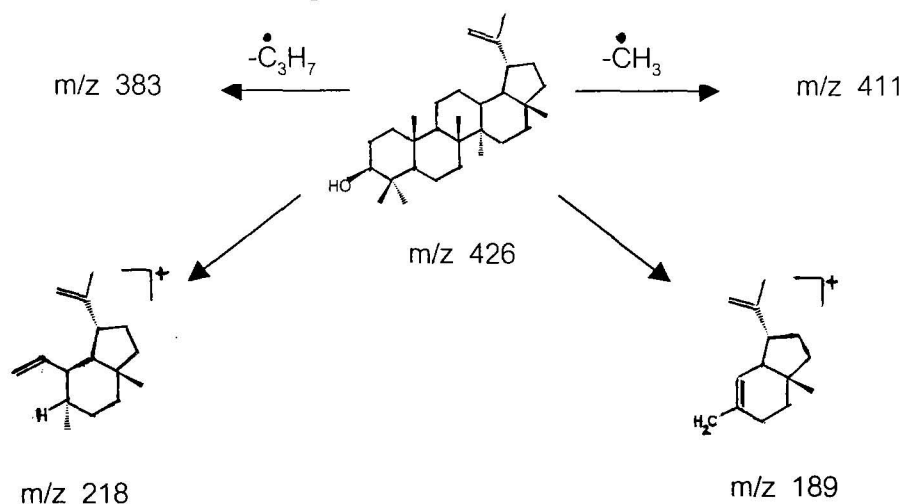


สารประกอบ A เป็นของแข็งสีขาวหนัก 645.8 mg จุดหลอมเหลว 212 – 214 °C (EtOH) (212-213 °C ; Sumanasrethakul. 1972 :12, 212-214 °C ; Aynilian, Farnsworth & Persinos. 1972 : 2885 -2886) $R_f = 0.5$ (CHCl_3)

FT IR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ ν_{max} (CHCl_3) 3386 cm^{-1} เป็นแถบการยืด O-H ส่วน 2942, 2869 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-H และ 1639 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C=C ของ terminal methylene แถบการงอ C-H ของ CH_3 พบที่ 1453, 1380 ส่วน 1041 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-O (ภาพประกอบ 13)

^1H NMR spectrum แสดงสัญญาณของ vinylic proton ตำแหน่ง 29 คือ ที่ δ 4.60 (1H, *br s*) และ 4.54 (1H, *s*) ส่วนสัญญาณที่ δ 3.16 (1H, *dd*, $J = 10.8, 5.3$ Hz) เป็นของ axial proton ตำแหน่ง 3 และ methyl proton ทั้ง 7 หมู่ แสดงสัญญาณ singlet ที่ δ 1.66 (H-30) 1.01 (H-26) 0.94 (H-23) 0.92 (H-27) 0.80 (H-25) 0.76 (H-28) และ 0.73 (H-24) (ภาพประกอบ 14) ส่วน ^{13}C NMR spectrum แสดง 29 สัญญาณของ 30 คาร์บอน (ตาราง 12 และ ภาพประกอบ 15)

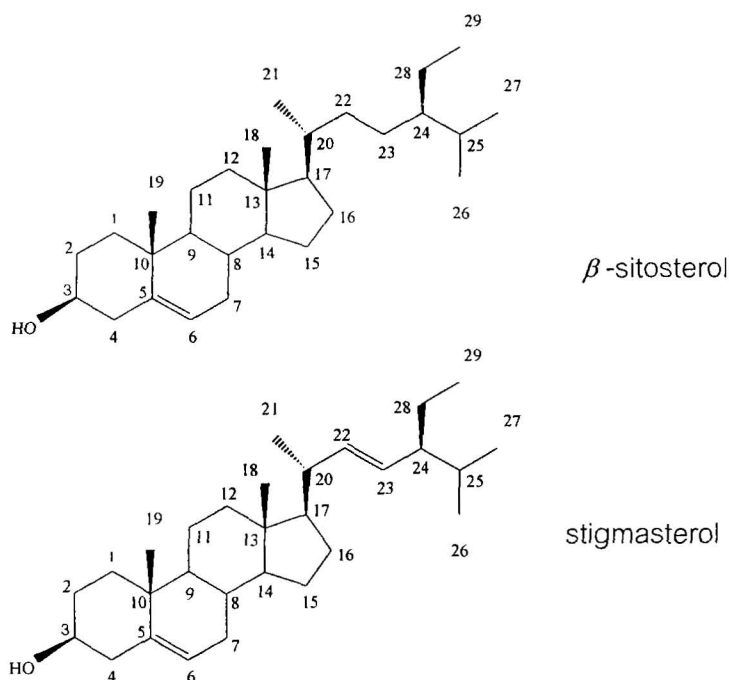
ES-MS spectrum ของสารประกอบ A พบ m/z 426 ซึ่งตรงกับ $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ พร้อมกับ fragment ion ที่ m/z 411 383 316 257 218 189 161 135 107 68 และ 55 ซึ่งสอดคล้องกับที่มีผู้รายงานไว้ (Aynilian, Farnsworth & Persinos. 1972 : 2885 -2886) fragment ion ที่ m/z 411 และ 382 เกิดจาก $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ และ $[\text{M}-\text{isopropyl}]^+$ fragmentation ของสารประกอบ A (ภาพประกอบ 10) สอดคล้องกับที่มีผู้รายงานไว้ (Budzikiewicz. 1963 : 3688-3699)



ภาพประกอบ 10 แสดง fragmentation ของสารประกอบ A

จากการเปรียบเทียบข้อมูล IR, ^1H NMR (Sumanasrethakul. 1972 : 12 – 13) และ ^{13}C NMR (Wenkert., et al. 1978 : 337-343) ของ lupeol (1) กับของสารประกอบ A พบว่า คล้ายคลึงกัน เมื่อเปรียบเทียบ TLC ของสารประกอบ A กับ authentic lupeol พบว่าขึ้นที่เดียวกัน และจากข้อมูล mass spectrum สรุปได้ว่าสารประกอบ A คือ lupeol (1) ซึ่งเป็นสารที่เคยพบในที่หลายชนิด เช่น *Diospyros maritima* (Kuo. et al. 1977 : 363-365) และพืชในสกุล *Castanopsis* (Arthur & Ko. 1969 : 597-600)

สารประกอบ B



สารประกอบ B เป็นของแข็งสีขาวหนัก 207.9 mg มีจุดหลอมเหลว 136 - 137 °C (EtOH) (145-148 °C เป็นจุดหลอมเหลวของส่วนผสมระหว่าง β -sitosterol กับ stigmasterol ในอัตราส่วนประมาณ 6.5 : 1 ; Jarikasem. 2000 : 134) $R_f = 0.5$ (CHCl₃– EtOAc = 9.4 : 0.6)

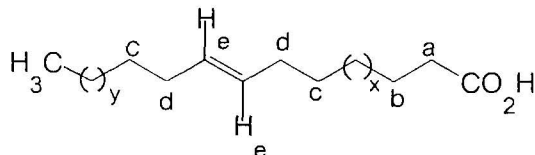
FT IR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ ν_{\max} (CHCl₃) 3423 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด O-H 2937 และ 2869 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด C-H ส่วนแถบการยืด C=C พบที่ 1638 cm⁻¹ 1461 และ 1378 cm⁻¹ เป็นแถบการงอ C-H ของ CH₃ และ 1047cm⁻¹ เป็นแถบการยืด C-O (ภาพประกอบ 16)

¹H NMR spectrum แสดงสัญญาณ proton ตำแหน่ง 6 ที่ δ 5.38 (1H, *br d*, $J = 5.1$ Hz) ส่วนสัญญาณที่ δ 3.55 (1H, *m*) เป็นของ proton ตำแหน่ง 3 ส่วนสัญญาณของ *trans* olefinic proton ที่ตำแหน่ง 22 และ 23 ของ stigmasterol แสดงที่ δ 5.18 (0.2H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) และ δ 5.03 (0.2H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) ตามลำดับ และ methyl proton ทั้ง 6 หมู่ แสดงสัญญาณ ที่ δ 1.03 (3H, *s*, H-19) 0.94 (3H, *d*, $J = 6.5$ Hz, H-21) 0.85 (*d*, $J = 7.2$ Hz, H-26) 0.84 (*d*, $J = 7.2$ Hz, H-27) 0.87 (3H, *t*, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-29) และ 0.70 (3H, *s*, H-18) (ภาพประกอบ 17)

จากการเปรียบเทียบข้อมูล IR, ^1H NMR ของสารประกอบ B กับ β -sitosterol (2) และ stigmasterol (Boonyaratavej & Petsom. 1991 : 61 – 69 ; Jarikasem. 2000 : 133-140) สรุปได้ว่าสารประกอบ B เป็นส่วนผสมระหว่าง β -sitosterol และ stigmasterol ในอัตราส่วนประมาณ 4 : 1 โดยดูจาก integral ของสัญญาณ olefinic proton ที่ δ 5.38 (1H, *br d*, $J = 5.1$ Hz) ซึ่งเป็นสัญญาณ H-6 ของ β -sitosterol และ stigmasterol และที่ δ 5.18 (0.2H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) และ δ 5.03 (0.2H, *dd*, $J = 15.2, 8.3$ Hz) ซึ่งเป็น สัญญาณที่ตำแหน่ง 22 และ 23 ตามลำดับ ของ stigmasterol

β -sitosterol และ stigmasterol เป็นสารที่เคยพบในพืชหลายชนิด เช่น *Bridella tomentosa* BL. (Boonyaratvej & Petsom. 1991 : 61 – 69) *Gynura procumbens* Merr. (Jarikasem. 2000 : 133-140)

สารประกอบ C



สารประกอบ C เป็นน้ำมันสีเหลืองอ่อน $R_f = 0.6$ (CHCl_3) FT IR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ ν_{max} (neat) 3442 cm^{-1} เป็นแถบการยืด O-H 2920 และ 2855 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-H ส่วนแถบการยืด C=O พบที่ 1713 cm^{-1} และ 1463 cm^{-1} เป็นแถบการยืด CH_2 ส่วน 1247 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-O

^1H NMR spectrum (ตาราง 11 และ ภาพประกอบ 18) แสดงสัญญาณ ของหมู่ methyl ที่ δ_{H} 0.82 (3H, *t*, $J = 6.5$ Hz) และที่ δ_{C} 14.0 ส่วนสัญญาณ triplet ที่ δ_{H} 5.31 (1H, *t*, $J = 5.6$ Hz) และที่ δ_{C} 129.9 และ 129.6 แสดงถึงหมู่ methine 2 หมู่ ที่ตำแหน่ง e สอดคล้องกับข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 (ตาราง 11) พบสัญญาณของหมู่ carboxyl ที่ δ 179.8 นอกจากนี้พบ δ_{H} 1.20 (*br, s*) และที่ δ_{C} 29.6 – 29.0 เป็น CH_2 ที่ตำแหน่ง x, y และ c

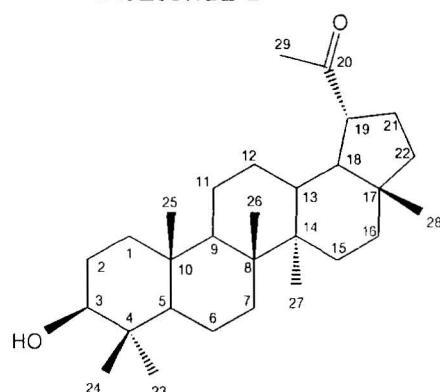
El-MS spectrum ของสารประกอบ C แสดง m/z 396 (1.6) 382 (0.7) 368 (0.7) 354 (0.7) 340 (1.6) แสดงถึงว่ามี CH₂ unit ในสารประกอบ C

ตาราง 11 แสดงข้อมูล ¹H, ¹³C NMR, DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ C

ตำแหน่ง	¹ H NMR	¹³ C NMR	DEPT 90	DEPT 135	ประเภทของคาร์บอน
CO ₂ H		179.8			
e	5.31 (<i>t</i> , J = 5.6 Hz)	129.9	129.9	129.9	CH
		129.6	129.6	129.6	
c, x,y	1.20 (<i>br, s</i>)	29.6 - 29.0		29.6 - 29.0	CH ₂
a	2.31 (<i>t</i> , J = 7.5 Hz)	34.0		34.0	CH ₂
d	1.97 (<i>m</i>)	27.2		27.2	CH ₂
b	1.59 (<i>m</i>)	25.0		25.0	CH ₂
CH ₃	0.82 (<i>t</i> , J = 6.5 Hz)	24.6		24.6	CH ₃

จากข้อมูลข้างต้นแสดงว่าสารประกอบ C เป็น long chain unsaturated carboxylic acid ที่มีจำนวน x+y ประมาณ 12-16

สารประกอบ D



สารประกอบ D เป็นของแข็งสีขาวหนัก 18.4 mg $R_f = 0.5$ (hexane–EtOAc = 8 : 2) เมื่อทำปฏิกิริยากับ anisaldehyde reagent ให้สีแดงม่วง แสดงว่าสารประกอบ D เป็น triterpene (Jork, et al. 1990 : 196)

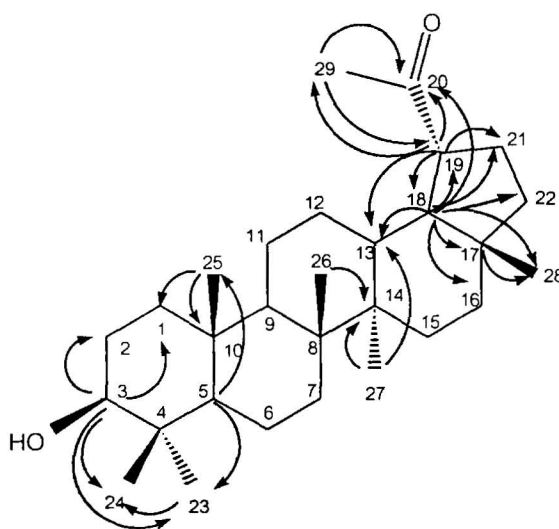
FT IR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ ν_{max} (CHCl_3) 3497, 3456 cm^{-1} เป็นแถบการยืด O-H และ 2921, 2855 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-H ส่วน 1693 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C=O นอกจากนี้ยังแสดง 1454 และ 1381 cm^{-1} เป็นแถบการงอ CH_2 ส่วน 1045 cm^{-1} เป็นแถบการยืด C-O (ภาพประกอบ 19)

^1H NMR spectrum (ภาพประกอบ 20) แสดงสัญญาณของ carbinol proton ตำแหน่ง 3 ที่ δ 3.17 (1 H, dd , $J = 10.9, 5.0$ Hz) และที่ δ 78.9 ใน ^{13}C NMR spectrum (ภาพประกอบ 21) ในตาราง 12 สัญญาณ singlet ที่ δ 2.13 (3 H) แสดงถึงหมู่ methyl ของ หมู่ acetyl ซึ่งยืนยันโดยพบหมู่ carbonyl (C-20) ที่ δ 213.0 ใน ^{13}C NMR spectrum และใน IR spectrum ที่ 1693 cm^{-1} สัญญาณ singlet ของหมู่ methyl 6 หมู่พบที่ δ 0.73 (H-24) 0.75 (H-28) 0.80 (H-25) 0.94 (6 H, H-23 และ H-27) และ 0.99 (H-26) สอดคล้องกับการพบหมู่ methyl ทั้ง 6 หมู่ ใน DEPT 135 spectrum (ตาราง 13) ที่ δ 29.2 (C-29) 27.9 (C-23) 17.9 (C-28) 16.0 (C-25) 15.8 (C-26) 15.3 (C-24) และ 14.4 (C-27) ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ D พบ 29 สัญญาณ DEPT 135 และ DEPT 90 spectra (ภาพประกอบ 22) พบ 7 methyl carbon, 9 methylene carbon, 6 methine carbon ตามลำดับ และจากการเปรียบเทียบ ^1H และ ^{13}C NMR spectra ของ สารประกอบ D กับ lupeol (ตาราง 12) พบว่าคล้ายคลึงกัน ยกเว้นพันธะคู่ C=C (ที่ C-20 ใน lupeol ถูกแทนที่ด้วยหมู่ C=O ในสารประกอบ D) สารประกอบ D จึง

ควรมีเพียง 29 คาร์บอน นอกจากนี้ mass spectrum ของสารประกอบ D แสดง molecular ion ที่ m/z 428 ซึ่งตรงกับ $C_{29}H_{46}O_2$ ฉะนั้น สารประกอบ D จึงน่าจะมีโครงสร้างเป็น 30-norlupan-3 β -ol-20-one

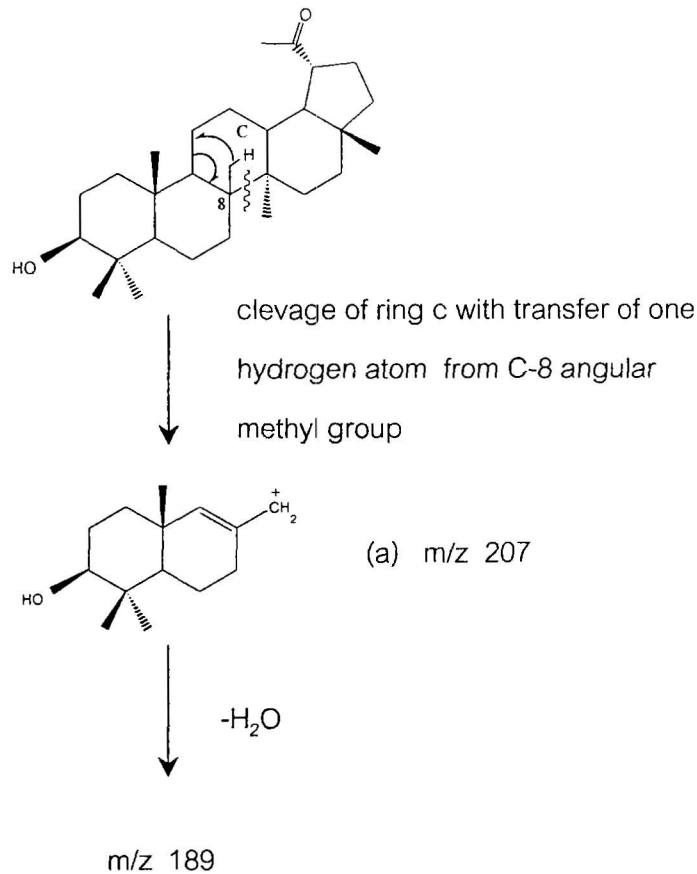
จากการค้นวรรณกรรมพบว่า สาร 30-norlupan-3 β -ol-20-one เคยพบใน coating ของ castor bean *Ricinus communis* L. (Thompson & Bower, 1968 : 845-847) และมีผู้ทำการสังเคราะห์สารนี้จาก lupeol โดยใช้ *m*CPBA เป็นตัวออกซิไดซ์ (Roy & Bhaduri, 1995 : 823-824) แต่ทั้งสองรายงานมิได้กำหนดค่า chemical shift ทั้งของ 1H และ ^{13}C NMR อย่างสมบูรณ์ จึงได้ทำการกำหนดค่า chemical shift ของ proton และ carbon ใหม่

ตาราง 12 แสดงการเปรียบเทียบค่า 1H และ ^{13}C NMR chemical shift ของ lupeol, สารประกอบ D และ 30-norlupan-3 β -ol-20-one พบว่าส่วนใหญ่สอดคล้องกัน ยกเว้นสัญญาณ triplet ที่ δ 1.82 (Roy. & Bhaduri 1995 : 823-824) ซึ่งรายงานไว้เป็น H-13 ใน 30-norlupan-3 β -ol-20-one นั้น ควรจะเป็นของ H-18 ทั้งนี้เพราะสารประกอบ D พบสัญญาณ triplet ของ H-18 ที่ δ 1.79 ($J = 11.3$ Hz) ซึ่งยืนยันโดยใช้เทคนิค HMBC (ตาราง 14) นั่นคือ H-18 มีความสัมพันธ์กับ C-13 (δ 37.0) C-16 (δ 34.9) C-17 (δ 43.0) C-19 (δ 52.6) C-20 (δ 213.0) C-21 (δ 27.6) C-22 (δ 39.8) และ C-28 (δ 17.9) (ภาพประกอบ 11 และ 25) นอกจากนี้ H-18 ยังแสดงการ couple กับ H-19 ใน cosy spectrum (ตาราง 14 และ ภาพประกอบ 24)



ภาพประกอบ 11 แสดงความสัมพันธ์ HMBC ที่สำคัญของสารประกอบ D

HREI-MS ของ สารประกอบ D พบ m/z 428.3652 ซึ่งตรงกับ $C_{29}H_{48}O_2$ (คำนวณได้ 428.3654) mass spectrum (ภาพประกอบ 12 และ 26) แสดง molecular ion ที่ m/z 428 พร้อมกับ fragment ion ที่ m/z 410 395 367 274 189 57 และ 55 ซึ่งสอดคล้องกับที่มีผู้รายงานไว้ (Thompson & Bower. 1968 : 847) fragment ion ที่ m/z 410, 395 และ 367 เกิดจากการสูญเสีย H_2O $[M-H_2O]^+$ $[M-H_2O-CH_3]^+$ และ $[M-H_2O-CH_3-CO]^+$ ตามลำดับ fragment ion ที่ m/z 207 (แม้ว่ามีความเข้มเพียงเล็กน้อย) น่าจะเป็นเพราะการเกิด ion (a) ซึ่งเกิดจากการแตกของวง C ของ lupane triterpene ตามด้วยการสูญเสีย H_2O ให้ m/z ที่ 189 ตามที่เคยมีผู้เสนอไว้ (Budzikiewicz. 1963 : 3688-3699) ส่วน base peak ที่ m/z 57 น่าจะเกิดจากหมู่ $CH_3COCH_2^+$



ภาพประกอบ 12 แสดง fragmentation ของสารประกอบ D

ตาราง 13 แสดงข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	^{13}C NMR	DEPT 90	DEPT 135	ประเภทของคาร์บอน
1	38.6		38.6	CH_2
2	27.3		27.3	CH_2
3	78.9	78.9	78.9	CH
4	38.8			C
5	55.1	55.1	55.1	CH
6	18.2		18.2	CH_2
7	34.1		34.1	CH_2
8	40.7			C
9	50.2	50.2	50.2	CH
10	37.1			C
11	20.8		20.8	CH_2
12	27.1		27.1	CH_2
13	37.0	37.0	37.0	CH
14	42.6			C
15	27.2		27.2	CH_2
16	34.9		34.9	CH_2
17	43.0			C
18	49.6	49.6	49.6	CH
19	52.6	52.6	52.6	CH
20	213.0			C=O
21	27.6		27.6	CH_2
22	39.8		39.8	CH_2
23	27.9		27.9	CH_3
24	15.3		15.3	CH_3
25	16.0		16.0	CH_3
26	15.8		15.8	CH_3
27	14.4		14.4	CH_3
28	17.9		17.9	CH_3
29	29.2		29.2	CH_3

บันทึกใน CDCl_3 ที่ 75 MHz

ตาราง 14 แสดงข้อมูล ^1H NMR ที่สัมพันธ์กับ COSY และ HMBC ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	δ_{H}	COSY ^a	HMBC ^b
3	3.17 <i>dd</i> ($J = 10.9, 5.0$ Hz)	H-2	C-1, C-2, C-23, C-24
5	0.66 <i>d</i> ($J = 9.4$ Hz)		C-23, C-24, C-25
18	1.79 <i>t</i> (11.3 Hz)	H-19	C-13, C-16, C-17, C-19, C-20, C-21, C-22, C-28
19	2.55 <i>dt</i> ($J = 11.3, 5.8$ Hz)	H-18	C-13, C-18, C-19, C-20, C-21, C-29
21	2.00 <i>m</i>	H-19	C-18, C-19, C-22
23	0.94 <i>s</i>		C-1, C-4, C-5, C-24
24	0.73 <i>s</i>		C-4, C-23
25	0.80 <i>s</i>		C-1, C-5, C-9, C-10
26	0.99 <i>s</i>		C-7, C-8, C-9, C-14
27	0.94 <i>s</i>		C-8, C-13, C-14, C-15
28	0.75 <i>s</i>		C-16, C-17, C-18, C-22
29	2.13 <i>s</i>		C-18, C-19, C-20

บันทึกใน CDCl_3

^aproton ที่มีความสัมพันธ์กับ proton resonance

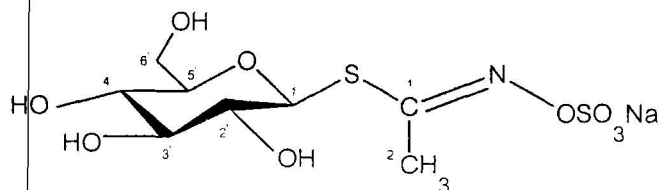
^bcarbon ที่มีความสัมพันธ์กับ proton resonance

สารประกอบ D มีจุดหลอมเหลว 188 - 190 °C (237-239 °C ; Thompson & Bower.

1968 : 846) และ $[\alpha]_D^{29} = -30.40^\circ$ ($c = 0.125, \text{CHCl}_3$) ($[\alpha]_D = -11^\circ$; Thompson &

Bower. 1968 : 846) แม้ว่าจะต่างจากที่มีผู้รายงานไว้ อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสเปกโทรสโกปีต่างๆโดยละเอียด ยืนยันได้ว่า สารประกอบ D มีโครงสร้างเป็น 30-norlupan- 3β -ol-20-one

สารประกอบ E



สารประกอบ E เป็นผลึกไม่มีสีหนัก 2.7 g จุดหลอมเหลว 193 - 194 °C (d) (H₂O - MeOH) (215 °C ; Verachato. 1985 : 2 และ 198 °C ; Kjaer & Gmelin. 1956 : 335-336) R_f = 0.6 (CHCl₃ - MeOH - H₂O = 65 : 35 : 10)

FT IR spectrum (ภาพประกอบ 27) ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ ν_{\max} (KBr) 3508, 3435 และ 3375 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด O-H ส่วน 1576 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด C=N และ 1219 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด S=O ส่วน 1052 cm⁻¹ เป็นแถบการยืด C-O

ข้อมูล ¹H NMR (ตาราง 16 และ ภาพประกอบ 28) แสดงสัญญาณที่ δ 2.40 (3H, s) แสดงว่ามีหมู่ methyl ที่ติดกับ C=N สัญญาณของ anomeric proton ตำแหน่ง 1' แสดงสัญญาณที่ δ 5.07 (1H, α , J = 9.8 Hz) และสัญญาณที่ δ 3.45-3.90 เป็นตำแหน่ง H-2' ถึง H-6' ของ glucose

¹³C NMR spectrum แสดง 8 สัญญาณ ของ 8 คาร์บอน ในโมเลกุล (ตาราง 15 และ ภาพประกอบ 29) จากข้อมูล DEPT-90 และ DEPT-135 (ภาพประกอบ 30) พบว่าสัญญาณที่ δ 165.2 เป็นของ imine carbon ที่ตำแหน่ง C-1 ส่วนหมู่ methyl ที่ตำแหน่ง C-2 แสดงสัญญาณที่ δ 20.8 และสัญญาณที่ δ 63.4 - 84.0 เป็นของ C-1' ถึง C-6' ใน glucose

HMQC COSY และ HMBC spectra ของสารประกอบ E แสดงไว้ในตาราง 16 พร้อมภาพประกอบ 31, 32 และ 33 ตามลำดับ

ตาราง 15 แสดงข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ E

ตำแหน่ง	^{13}C NMR	DEPT- 90	DEPT- 135	ประเภทของคาร์บอน
1	165.2			C
2	20.8		20.8	CH_3
1'	84.4	84.4	84.4	CH
2'	74.5	74.5	74.5	CH
3'	79.8	79.8	79.8	CH
4'	71.9	71.9	71.9	CH
5'	82.7	82.7	82.7	CH
6'	63.4		63.4	CH_2

ตาราง 16 แสดงข้อมูล ^1H NMR ที่สัมพันธ์กับ COSY และ HMBC ของสารประกอบ E

ตำแหน่ง	δ_{H}	COSY ^a	HMBC ^b
2	2.40 (s)		C-1
1'	5.07 (d, J = 9.8 Hz)	H-2'	C-2', C-3'
2'	3.45 (m)	H-1', H-3'	C-1', C-3'
3'	3.56 (d, J = 8.7 Hz)	H-2', H-4'	C-1', C-2', C-4'
4'	3.45 (m)	H-3', H-5'	C-3', C-5', C-6'
5'	3.56 (d, J = 8.7 Hz)	H-4', H-6'a, H-6'b	C-4', C-6'
6'a	3.90 (dd, J = 12.5, 1.9 Hz)	H-5', H-6'b	C-4'
6'b	3.70 (dd, J = 12.5, 5.9 Hz)	H-5', H-6'a	C-4', C-5'

บันทึกใน D_2O -DSS^aproton ที่มีความสัมพันธ์กับ proton resonance^bcarbon ที่มีความสัมพันธ์กับ proton resonance

FAB - MS spectrum (ภาพประกอบ 34) ของสารประกอบ E แสดง molecular ion $[M+H]^+$ m/z 356 (+ve) ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล $C_8H_{14}O_9NS_2Na$ พบ m/z 133 (100) ซึ่งเป็นของหมู่ NSO_4Na และพบ m/z 225 (49) ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นของ $C_6H_{11}O_5SCH_2CH_3^+$

การยืนยันโครงสร้างของ สารประกอบ E ใช้ทั้งเทคนิค 1D NMR (1H , ^{13}C , Dept 135 และ Dept 90) และ 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) พร้อมกับการเปรียบเทียบข้อมูล IR และ NMR กับ glucocapparin (Verachato.1985 : 1 – 6) และจากข้อมูล mass spectrum สรุปได้ว่าสารประกอบ E คือ glucocapparin (25) สารประกอบชนิดนี้เคยมีรายงานว่าพบในพืชชนิดอื่น เช่น *Cleome spinosa* (Kjaer & Gmelin. 1956 : 335-336)

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารสกัดทั้งชั้น hexane และ MeOH สารกลุ่มต่างๆที่แยกได้จากแต่ละสารสกัด และสารบริสุทธิ์บางชนิด ส่งทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อวัณโรค (*In vitro* antituberculous activity against *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra) พบว่า สารสกัดชั้น hexane และ 30-norlupan-3 β -ol-20-one แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคอย่างอ่อนที่ MIC 200 μ g/mL

ข้อเสนอแนะ

1. สารสกัดชั้น hexane แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคอย่างอ่อน ควรนำสารกลุ่มอื่นๆในชั้น hexane มาแยกต่อเพื่อกำจัดสารที่ไม่แสดงฤทธิ์แล้วได้สารบริสุทธิ์ที่อาจมีฤทธิ์สูงขึ้น
2. กลุ่มสารหรือสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ควรทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดอื่นต่อไป
3. ควรเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ แล้วนำไปศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของสารกับฤทธิ์ทางชีวภาพ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

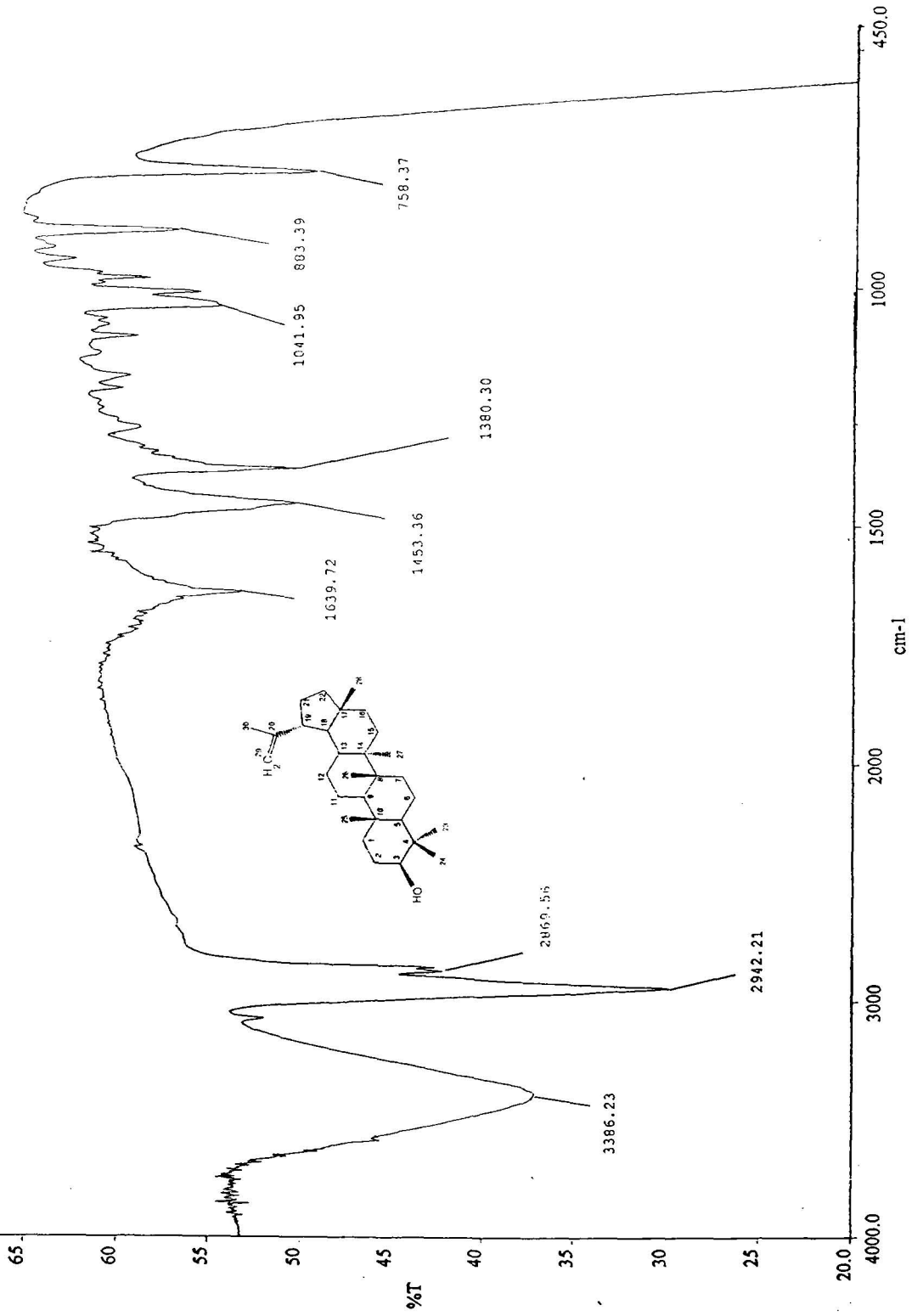
- ก่องกานดา ชยามฤต. (2528). *สมุนไพรไทย ตอนที่ 4*. กรุงเทพฯ : ชูติมาการพิมพ์.
เต็ม สมิตินันท์. (2544). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ.2544*. ส่วน
พฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
นันทวัน บุญยะประภัสร์ และ อรุณ โชคชัยเจริญพร. (2539). *สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน*. กรุงเทพฯ :
สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
วันดี กฤษณพันธ์. (2536). *เภสัชวินิจฉัย : ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ :
ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
Ahmad, V.U., Fizza, K. et al. (1987). "Cadabicine and cadabicine diacetate from
Crataeva nurvala," *J. Nat. Prod.* 50 (6) : 1186.
Anand, R., et al. (1994). "Antiuro lithiatic activity of lupeol, the active constituent isolated
from *Crataeva nurvala*," *Phytother. Res.* 8 : 417-422.
Arseculeratne, S.N., Gunatilaka, A.A.L. & Panabokke, R.G. (1985). "Studies on
medicinal plant of Srilanka. Part 14 : Toxicity of some traditional medical
herbs," *J. Ethnopharmacol.* 13 : 323-335.
Arthur, H.R. & Ko, P.D.S. (1969). "The occurrence of triterpenoid, phenolic and other
compounds in the leaves of six endemic *Castanopsis* species of Hong kong,"
Aust. J. Chem. 22 : 597-600.
Aynilian, G.H., Farnsworth, N.R. & Persinos, G.J. (1972). "Isolation of lupeol from
Crataeva benthamii," *Phytochemistry.* 11: 2885-2886.
Bhattarai, N.K. (1994). "Folk herbal remedies for gynaecological complaints in Central
Nepal," *Int. J. Pharmacog.* 1 : 13-26.
Boonyaratavej, S. & Petsom, A. (1991). "Chemical constituents of the roots of *Bridelia*
tomentosa BL," *J. Sci. Soc. Thailand.* 17 : 61-69.
Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. & Djerassi, C. (1963). "Mass spectrometry in structural
and stereochemical problems XXXII. Pentacyclic triterpenes," *J. Am. Chem.*
Soc. 85 : 3688-3699.

- CA vol.16 (1992) 119 : 177556n (citing Ahmad, V.U., Amber, A.U.R., et al. (1992).
"The isolation and total synthesis of cadabicine methyl ether," *Pak. J. Sci. Ind. Res.* 35 (12) : 475-479.)
- CA vol. 51-55 (1957-1961) 53 : 22297i (citing Ho, Fang-Kai. & Chen, Yuh-Pan. (1959).
"On the antibacterial activities of *Crataeva religiosa*," *J. Taiwan Pharm. Assoc.* 10 : 4-20).
- CA vol. 66-75 (1967-1971) (citing Souza, M.P., et al. (1970). "Triterpenoids of plants in Northeast Brazil. *Byrsonima sericea*, *Crataeva tapia* and *Curatella americana*," *Rev. Brasil. Farm.* 51(2) : 67-70.).
- CA vol. 106-115 (1987-1991) 112 : 4606F (citing Sharma, V. & Padhya, M.A. (1989).
"Screening of *Crataeva nurvala* for the glucosinolate glucocapparin," *Indian Drugs.* 26(10) : 572-573.).
- Collins, L., Franzblau, S.G. (1997). *Antimicrobial agents Chemotherapy.* 4 : 1004.
- Deshpande, P.J., Sahu, M. & Kumar, Pradeep. 1982. "*Crataeva nurvala* Hook and Forst (Varuna) – the ayurvedic drug of choice in urinary disorders," *Indian J. Med. Res.* 76 : 46-53.
- Getha, T. & Varalakshmi, P. (1999). "Anticomplement activity of triterpenes from *Crataeva nurvala* stem bark in adjuvant arthritis in rat," *Gen. Pharmacol.* (Online) 32 (4) : 495–497 Available : NCBI ; PubMed.
- Glauce, S.G., et al. (1970). "Pharmacological screening of some Brazilian plants," *J. Pharm. Pharmac.* 22 : 116-122.
- Grosvenor, P.W., et al. (1995). "Medicinal plants from Riau Province, Sumatra Indonesia. Part 2 : Uses," *J. Ethnopharmacol.* 45 : 75–95.
- Grosvenor, P.W., Supriono, A. & Gray, D.O. (1995). "Medicinal plants from Riau Province, Sumatra Indonesia. Part 2 : Antibacterial and antifungal activity," *J. Ethnopharmacol.* 45 : 97-111.
- Hattori, M. (1995). "Inhibitory effects of various Ayurvedic and Panamanian medicinal plants on the infection of Herpes Simplex Virus-1 *in vitro* and *in vivo*," *Phytother. Res.* 9 : 270-276.

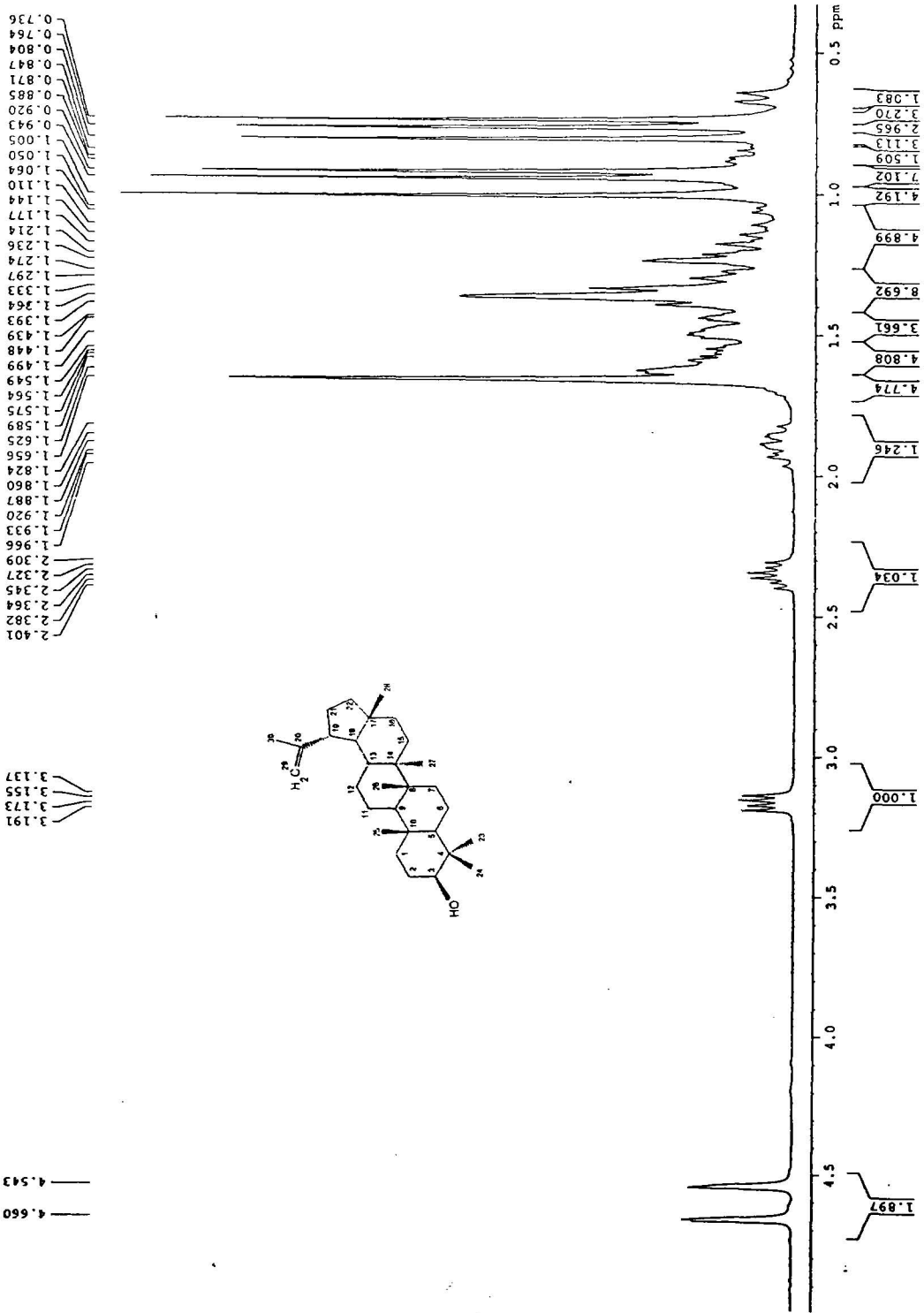
- Jarikasem, S. (2000). *A Phytochemical Study of Anti-Herbes Simplex Component from Gynura procumbens Merr.* Dissertation Thesis, Ph.D. (Pharmaceutical Chemistry and Phytochemistry). Bangkok : Mahidol University. Photocoppied.
- Jork, H., et al. (1990). *Thin Layer Chromatography Reagent and Detection Method.* Vol. 19 VCH-Verlag. Weinheim.
- Joshi, P. (1991). "Herbal drugs used in Guinea worm diseases by the tribals of Southern Rajasthan (India)," *Int. J. Pharmacognosy.* 29 : 33-38.
- Kjaer, A. & Gmelin, R. (1956). "Isothiocyanates XVIII. Glucocapparin, a new crystalline isothiocyanate glucoside," *Acta Chem. Scan.* 10 : 335-336.
- Kuo, Y.H., et al (1997). "Cytotoxic constituents from the stems of *Diospyros maritima*," *Planta. Med.* 63 : 363-365.
- Lakshmi, V. & Chauhan, J.S. (1975). "Triterpenoid and related compounds from *Crataeva nurvala*," *Plant. Med.* 27 : 254-256.
- (1977). "A new pentacyclic triterpene from the root of *Crataeva nurvala*," *Planta. Med.* 32 : 214-216.
- Malini, M., Baskar, R. & Varalakshmi, P. (1995). "Effect of lupeol, a pentacyclic triterpene on urinary enzyme in *Hyperoxaluvic* rat," *Jpn. J. Med. Sci. Biolo.* 48 : 211-220.
- Pattan-Shetty, J.K. & Abraham, K. (1978). "Chemical extraction of the stem bark of *Crataeva adansonii* DC. sub-ssp. *Ordora* Jacobs," *Indian J. Pharm. Sci.* 40(6) : 226.
- Pattan-Shetty, J.K., Raj, P.V. & Abraham, K. (1982). "Stem bark of *Crataeva adansonii* DC. sub-ssp. *Ordora* Jacobs," *Indian J. Pharm. Sci.* 44 : 16.
- Pavia, D.L. (1995). *Organic Laboratory Techniques.* 2nd Philadelphia : Saunders College Publishing.
- Roy, K. & Bhaduri, A.P. (1995). "Side chain oxidation of lupeol : A reinvestigation," *Indian J. Chem.* 40 (34b) : 823-824.
- Sethi, M.P.J. & Thakur, R.S. (1978). "Chemical constituents of *Crataeva religiosa*," *Plant. Med.* 34(2) : 223-224.

- Sethi, V.K., et al. (1984). "(-)-Epiafzelechin 5-O- α -D-glucoside from *Crataeva religiosa*," *Phytochemistry*. 23(10) : 2402-2403.
- Sharma, B.B., et al. (1983). "Antifertility screening of plants. Part 1. effect of ten indigenous plants on early pregnancy in *Albino* rats," *Int. J. Crude Drug Res.* 21 : 183-187.
- Sumanasrethakul, C. (1972). *The Chemical Constituents of the Bark of capparidaceae Crataeva erythrocarpa*. Dissertation Thesis, M.S. (Organic Chemistry). Bangkok : Mahidol University. Photocopied.
- Thompson, M.J. & Bowers, W.S. (1968). "Lupeol and 30-norlupan-3 β -ol-20-one from the coating of the castor bean (*Ricinus communi* L.)," *Phytochemistry*. 7 : 845-847.
- Varalakshmi, P., Shamila, Y. & Latha, E. (1990). "Effect of *Crataeva nurvala* in experimental urolithiasis," *J. Ethnopharmacol.* 28 : 313-321.
- Verachato, G. (1985). "Chemical constituents of the stem bark of *Crataeva nurvala*," *The Journal of Scientific Research.* 10 : 1-6.
- Wenkert, E., et al. (1978). "Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally-occurring substances LVII. triterpenes related to lupane and hopane," *Org. Mag. Res.* 11 : 337-343.
- Yang, L.L., et al. (1987). "Antihepatotoxic action of Formosan plant drug," *J. Ethnopharmacol.* 19 : 103-110.

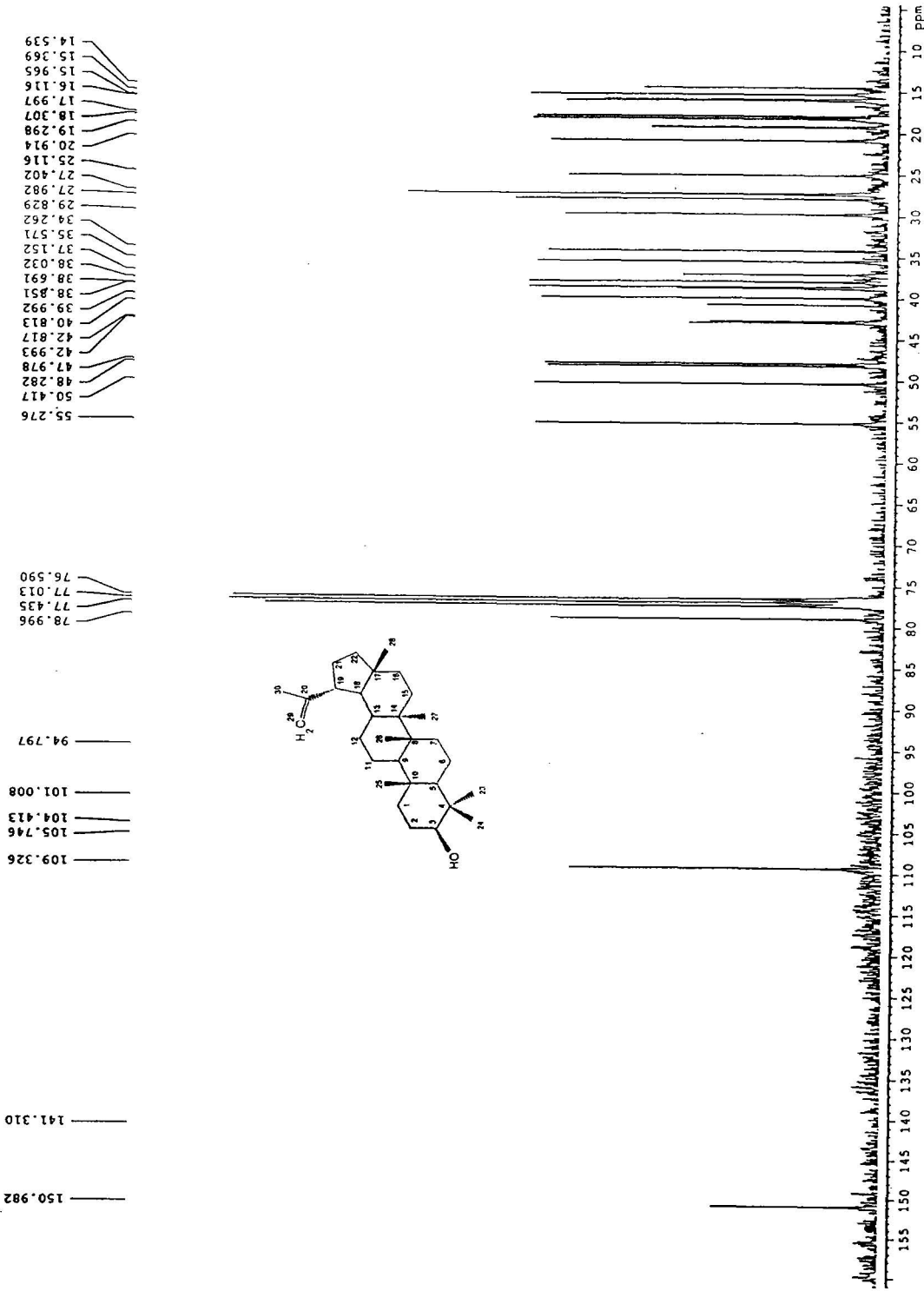
ภาคผนวก



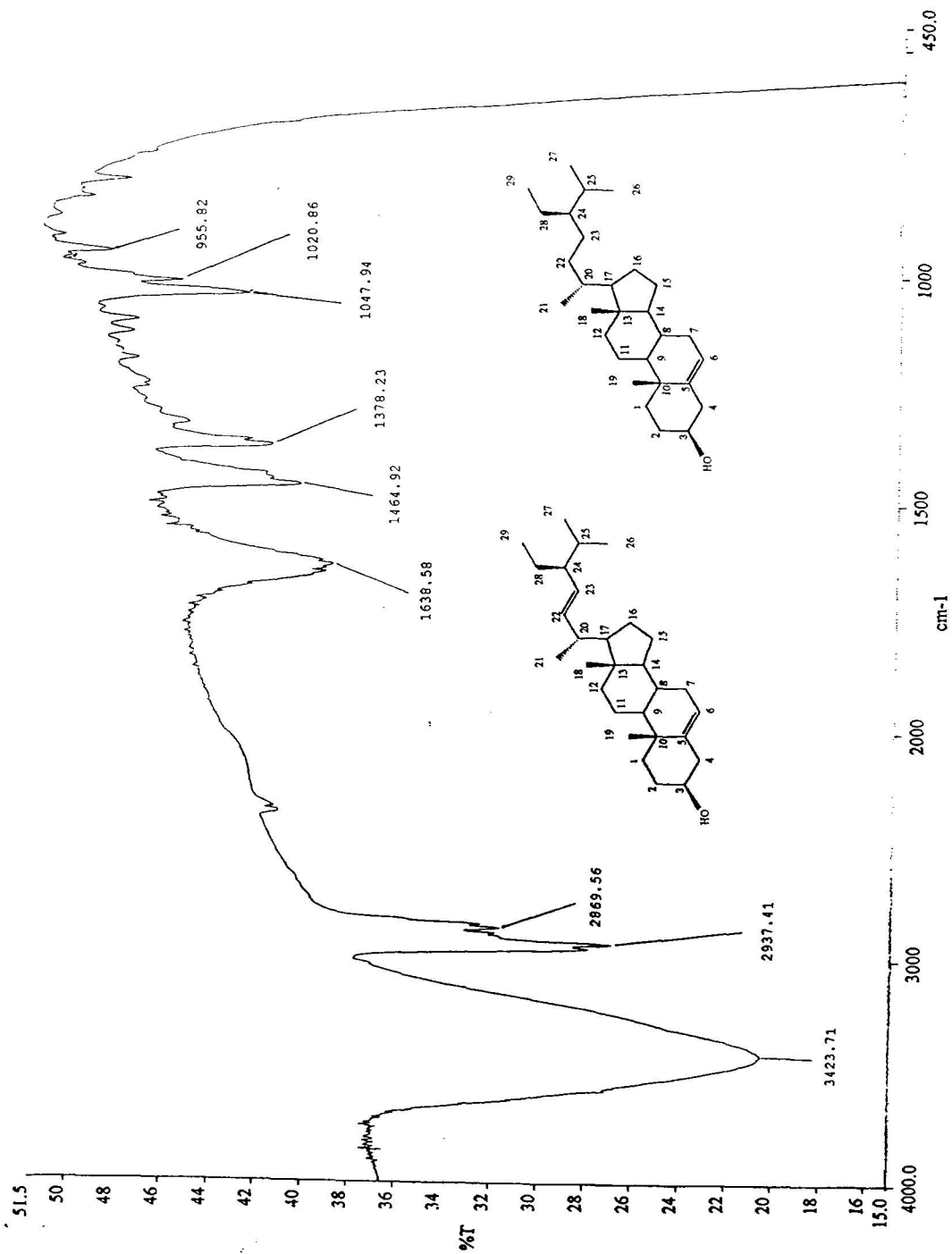
ภาพประกอบ 13 FT IR spectrum ของสารประกอบ A:



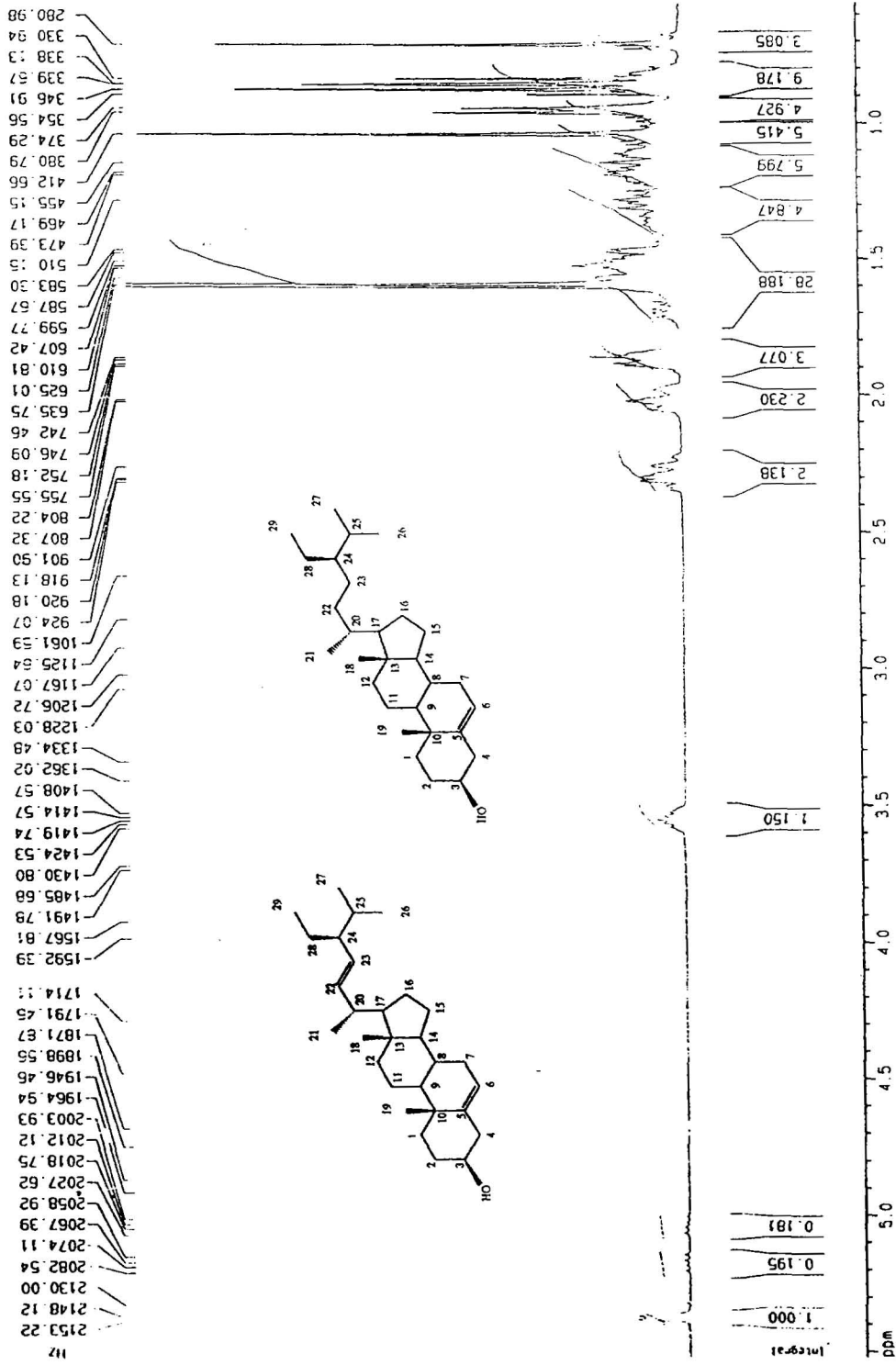
ภาพประกอบ 14 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ 14.



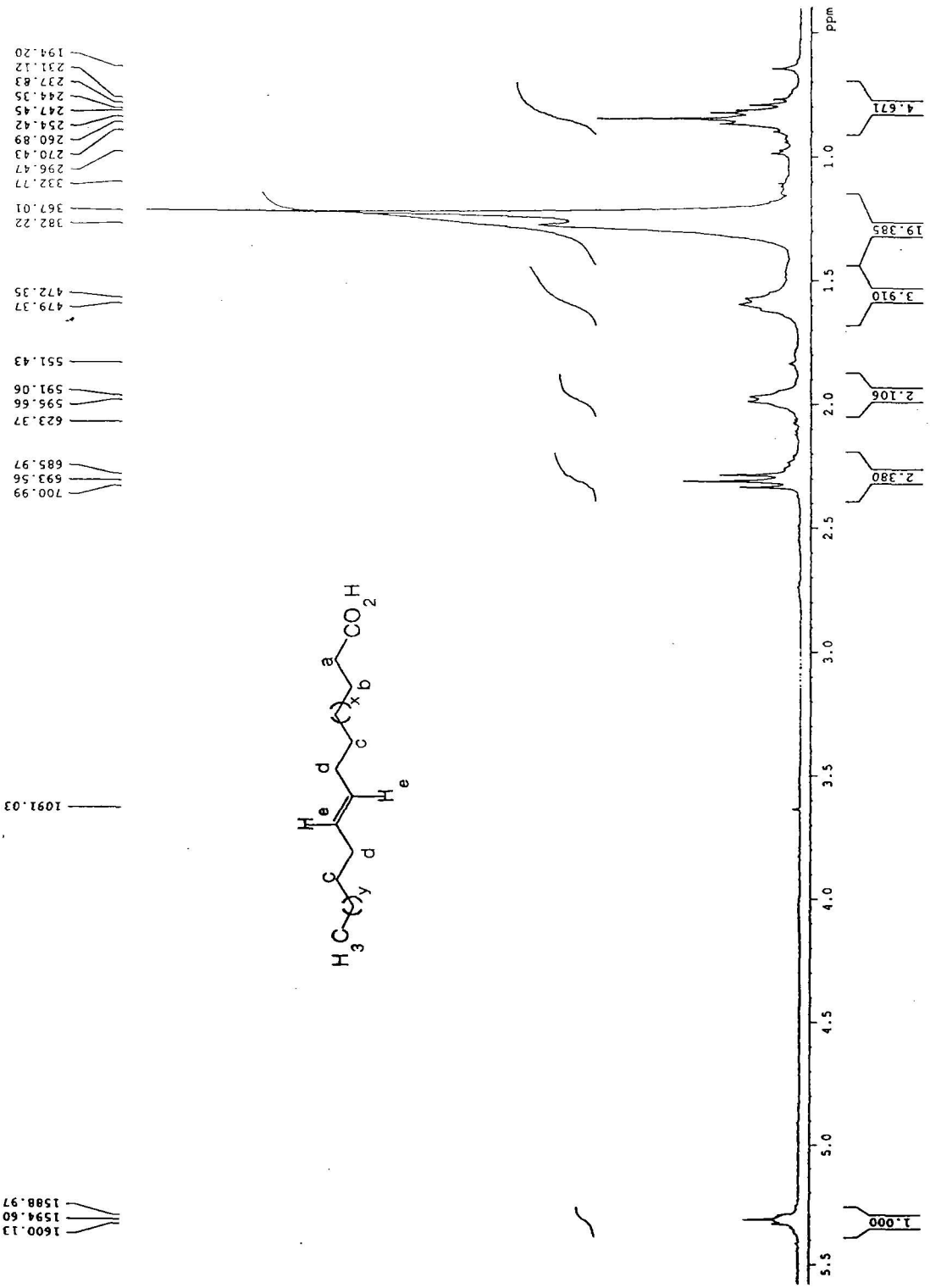
ภาพประกอบ 15 ¹³C NMR spectrum ของสารประกอบ A.



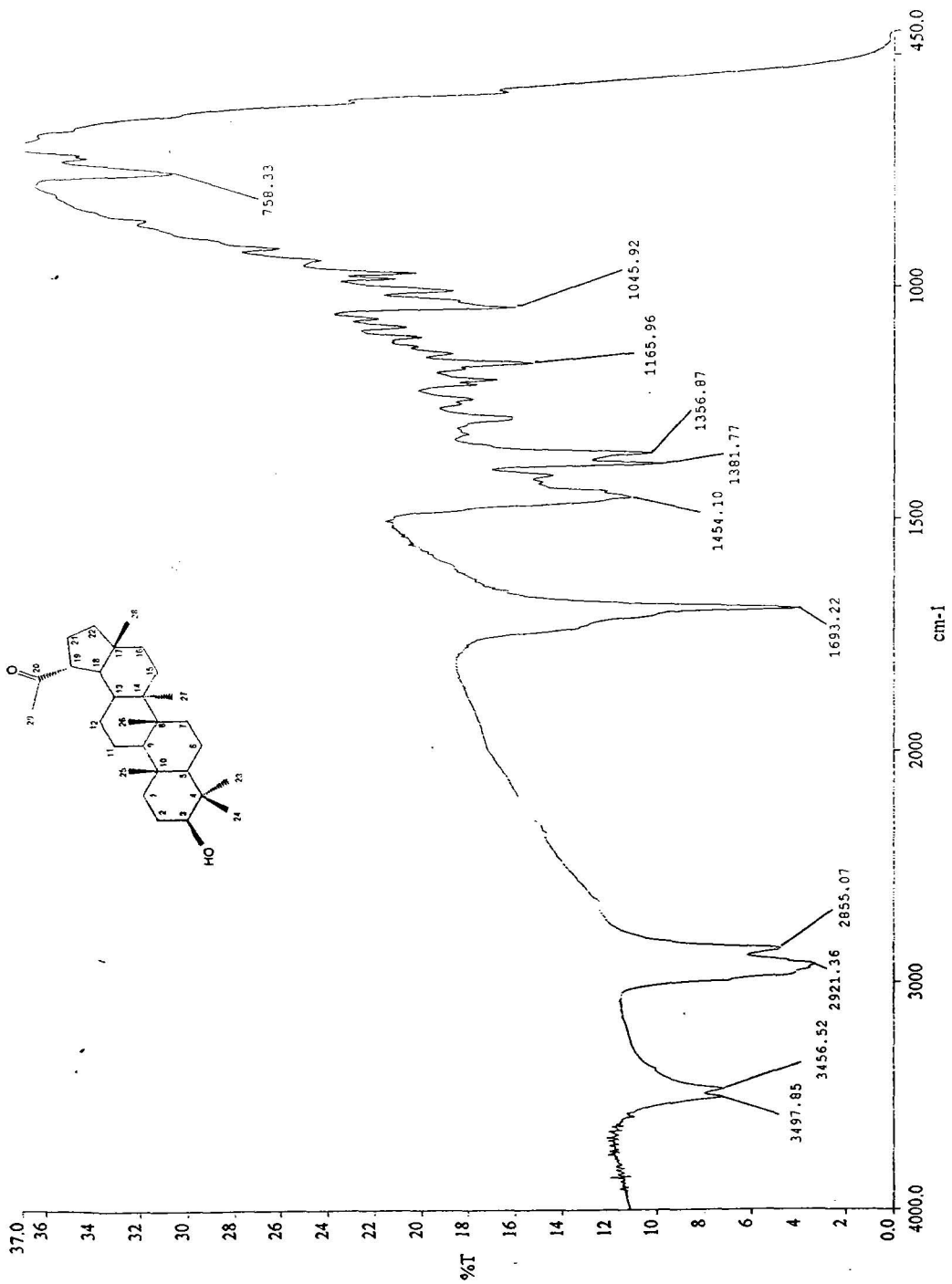
ภาพประกอบ 16 FT IR spectrum ของสารประกอบ B.



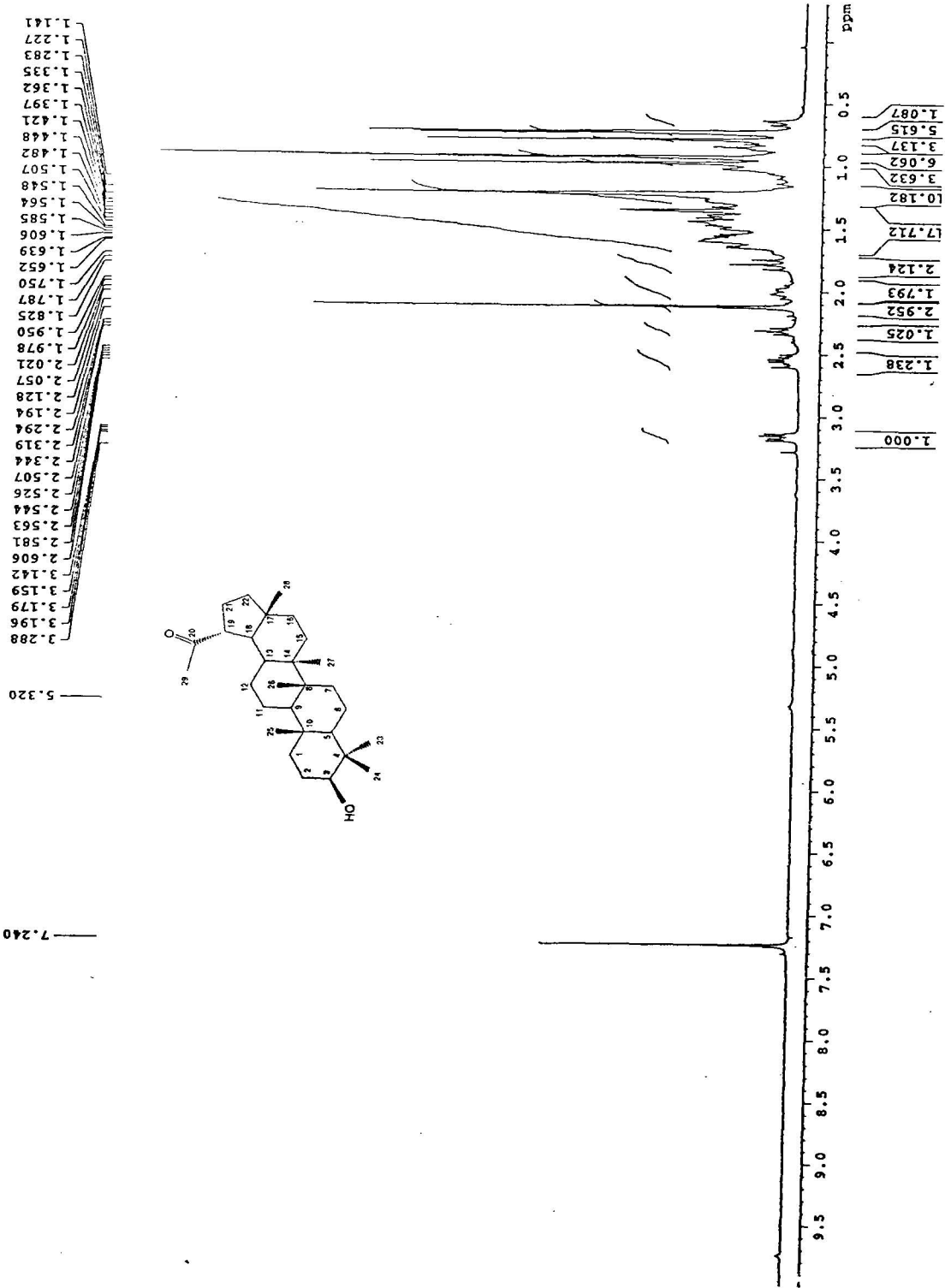
ภาพประกอบ 17 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ B



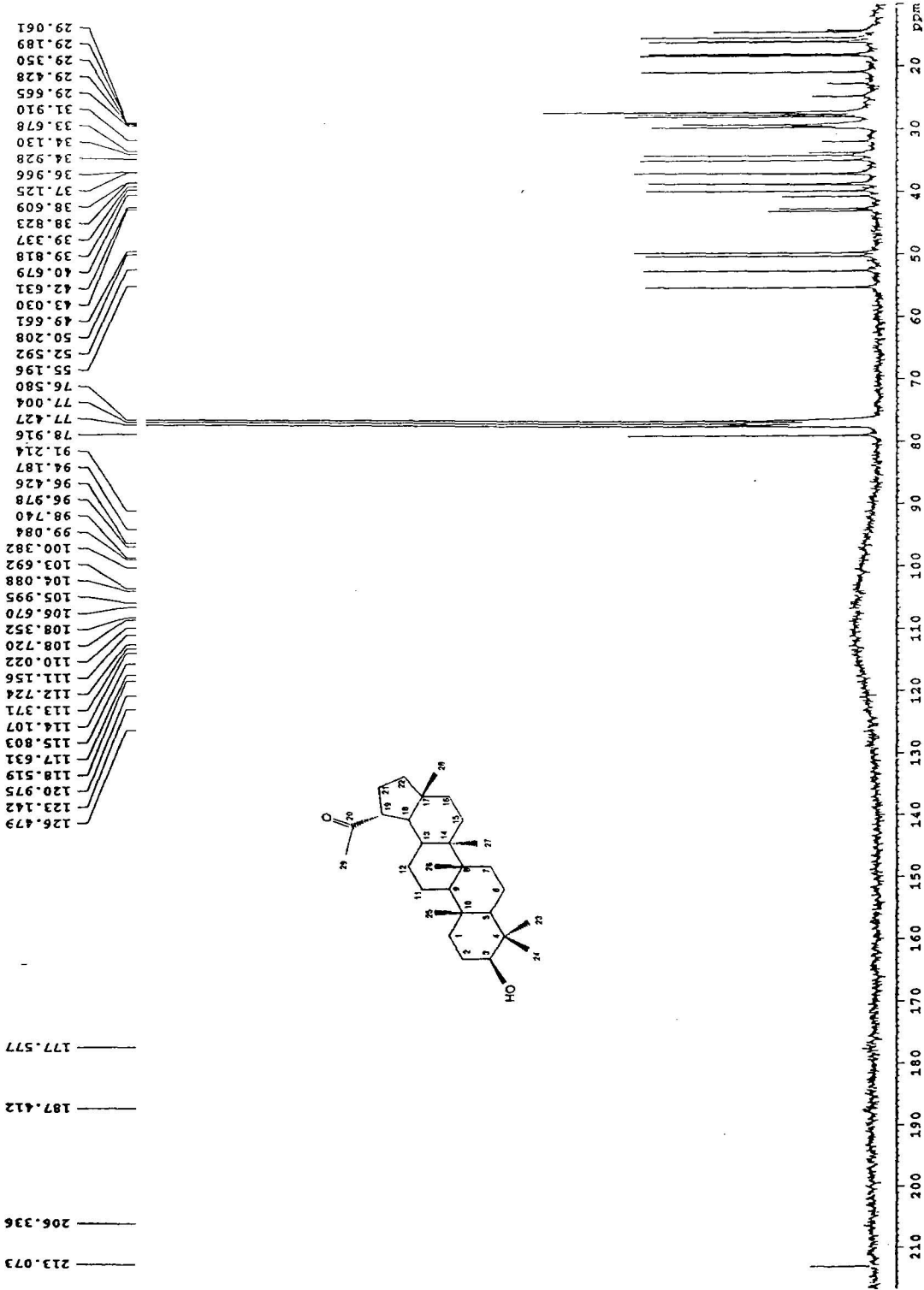
ภาพประกอบ 18 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ C



ภาพประกอบ 19 FT IR spectrum ของสารประกอบ D

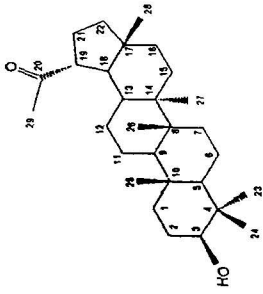
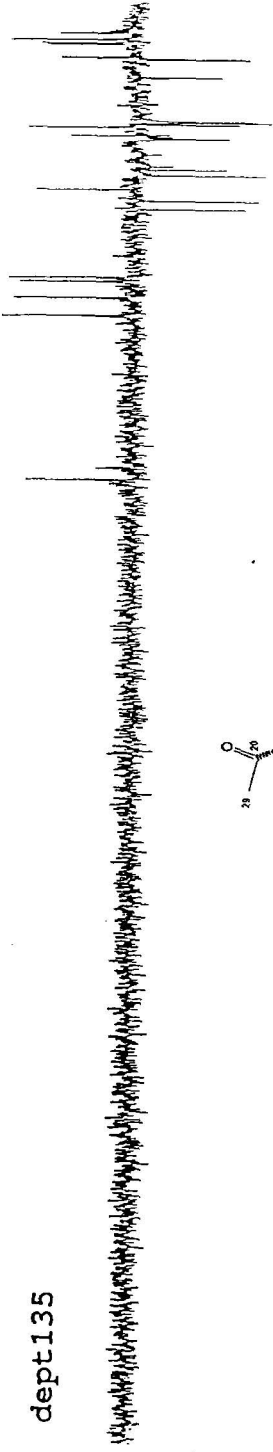


ภาพประกอบ 20 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ D

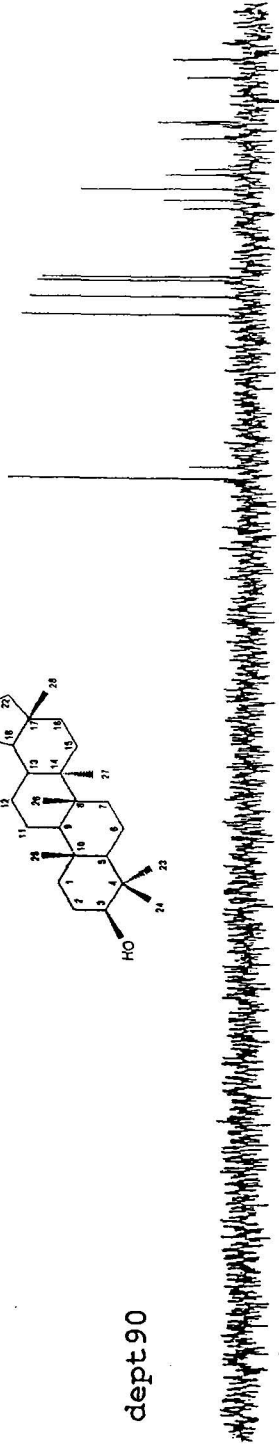


ภาพประกอบ 21 ¹³C NMR spectrum ของสารประกอบ D

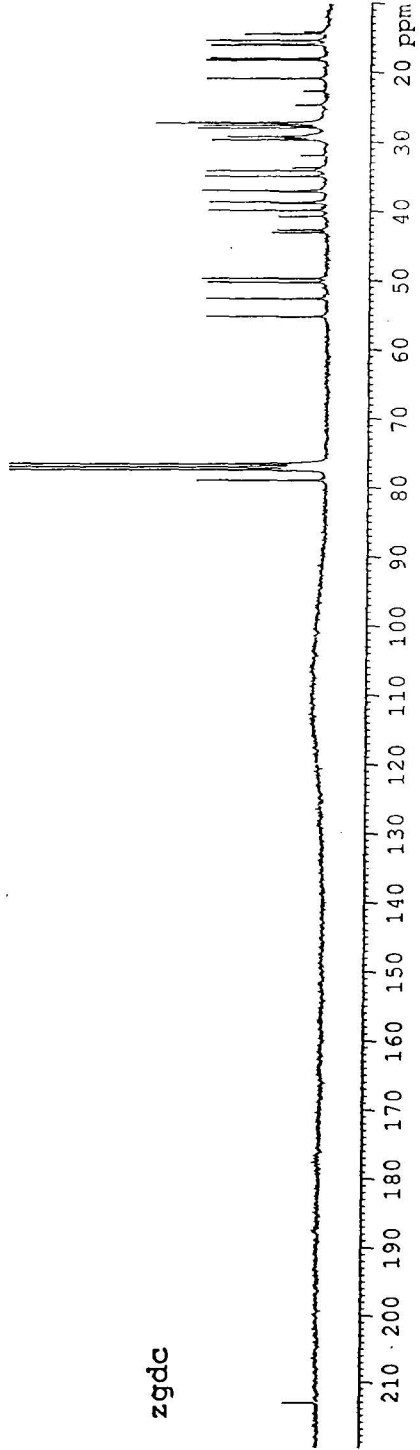
dept135



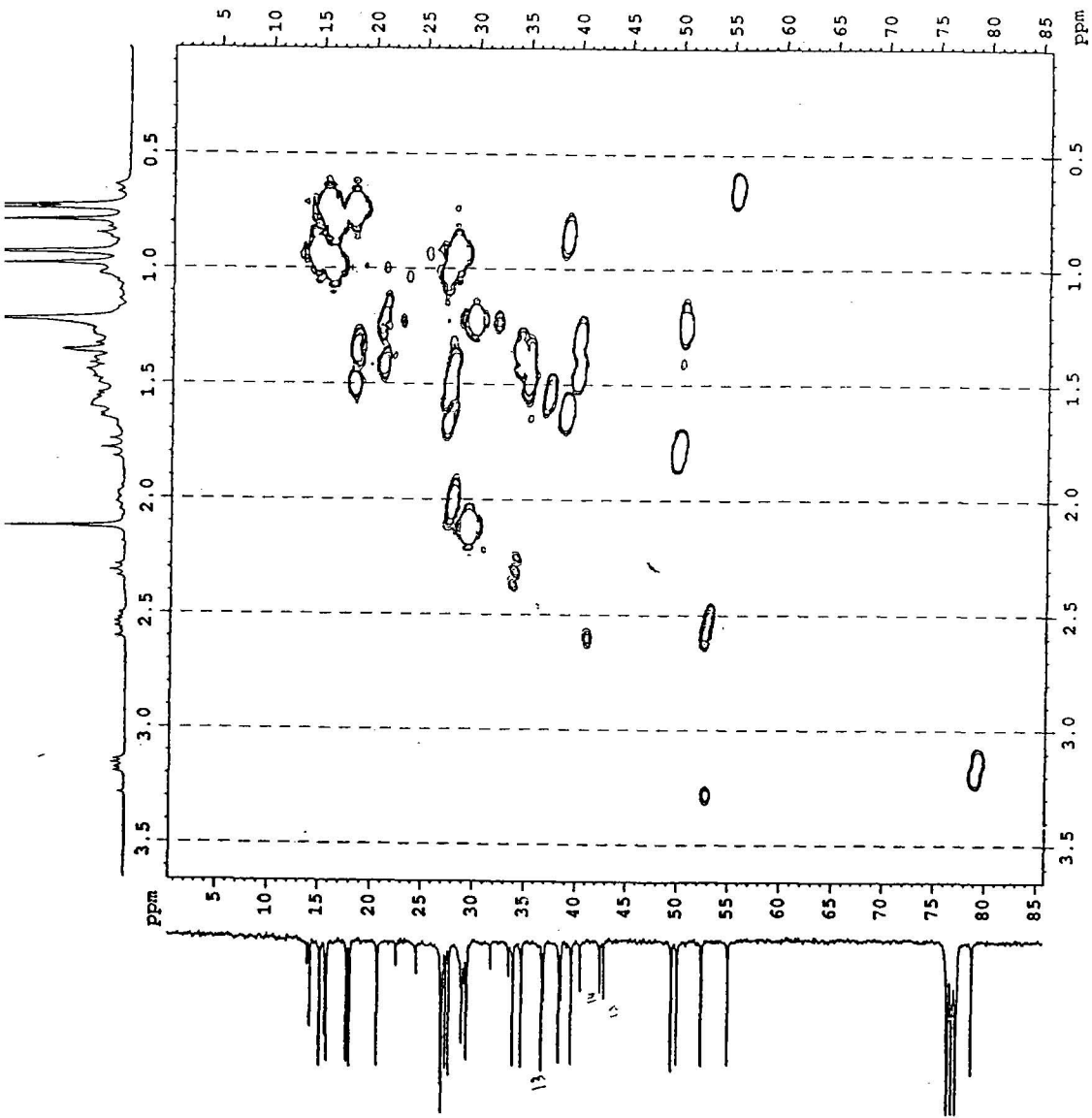
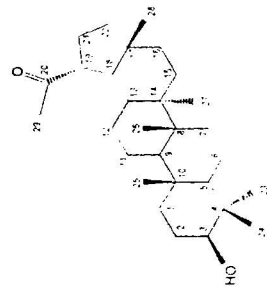
dept90



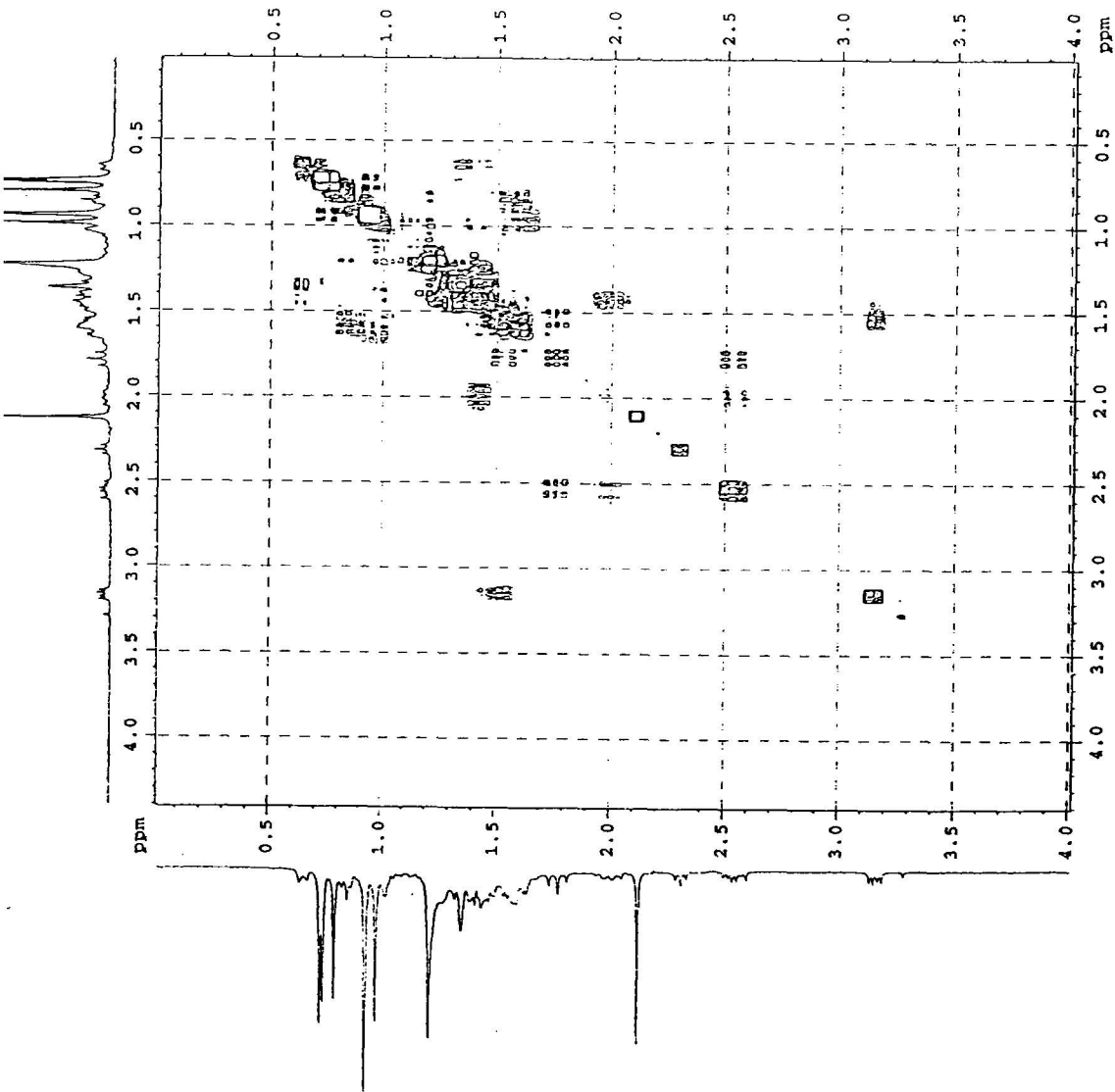
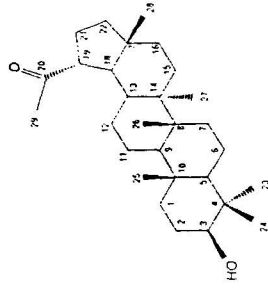
zgdc



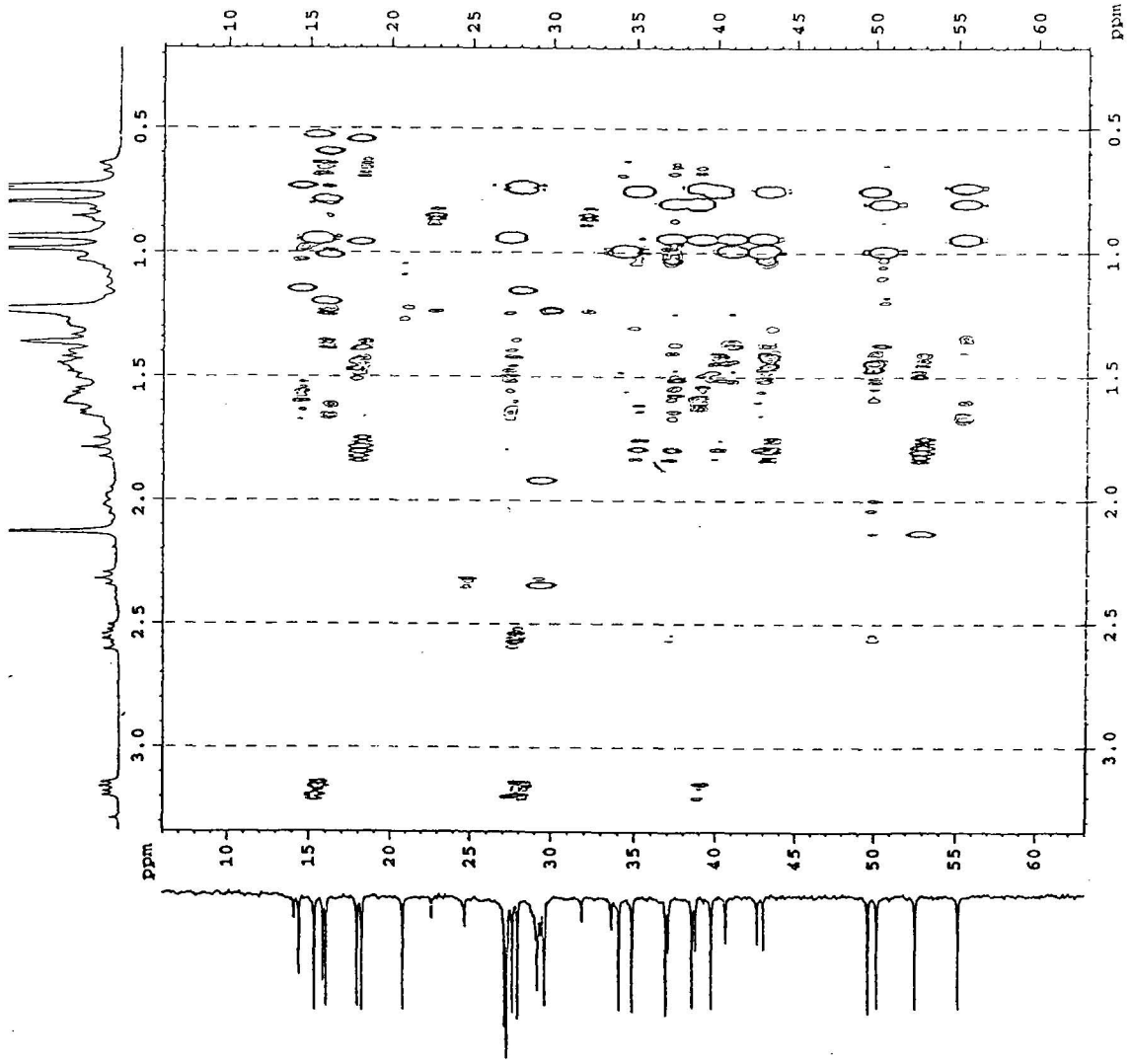
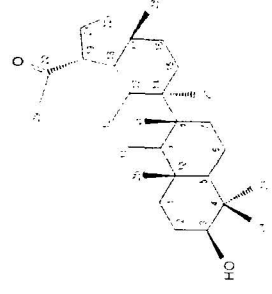
ภาพประกอบ 22 DEPT 90 และ DEPT 135 spectrum ของสารประกอบ D



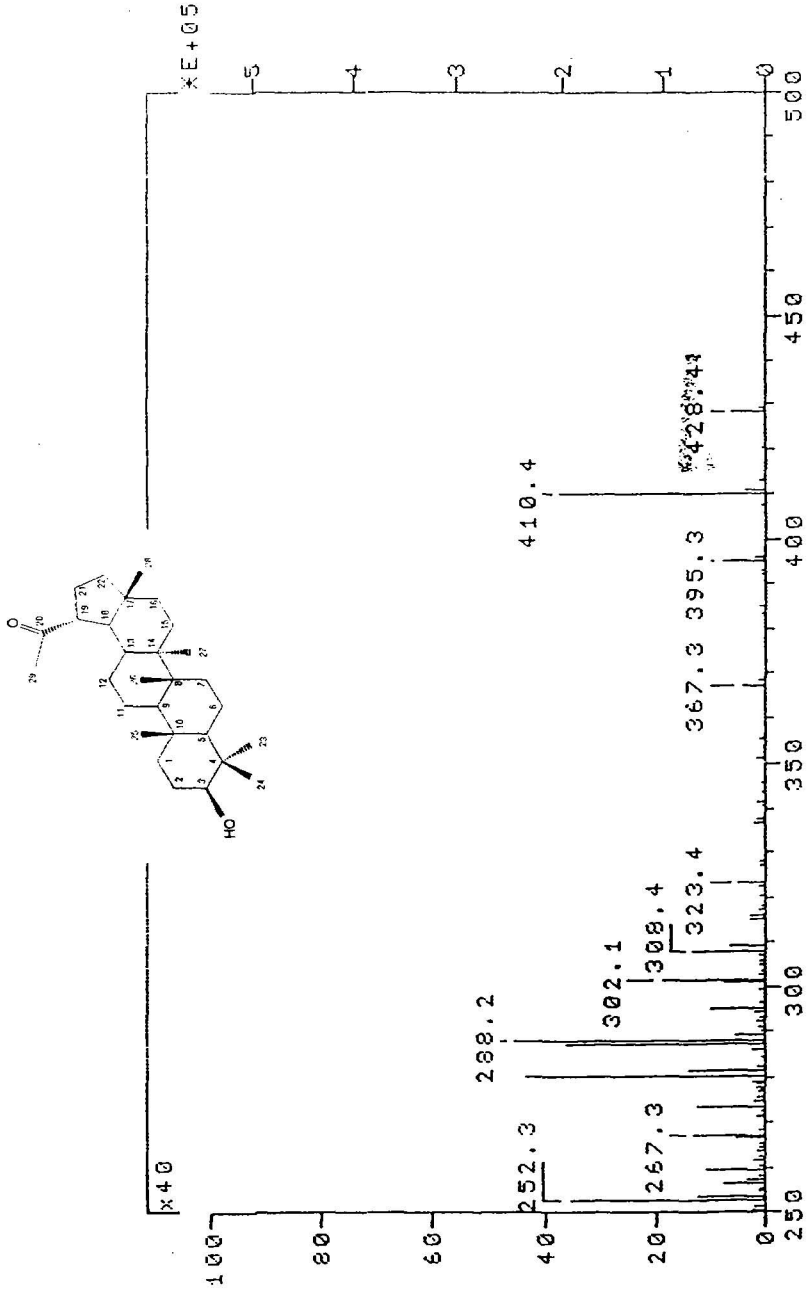
ภาพระลอก 23 HMQC spectrum ของสารระลอก D



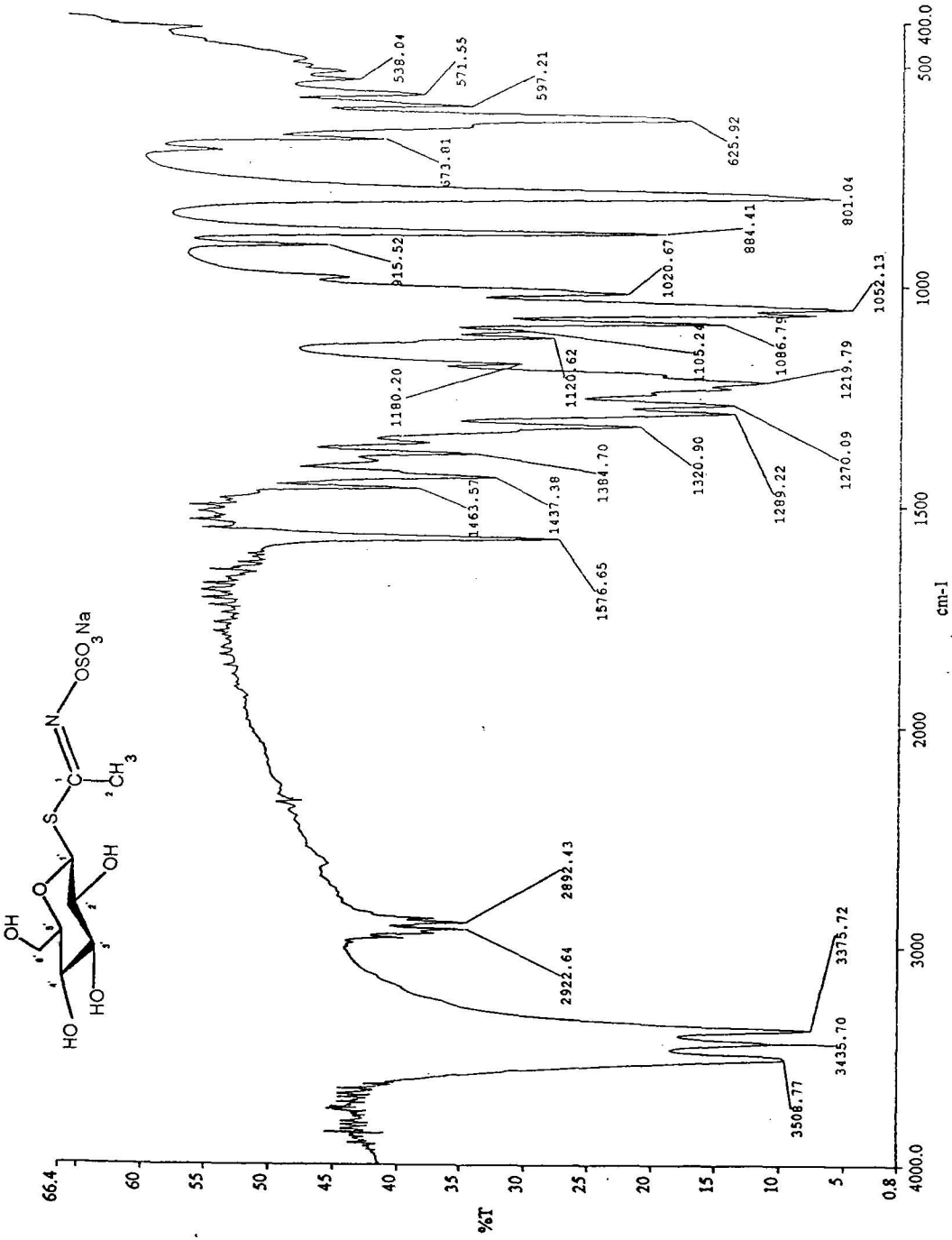
ภาพประกอบ 24 COSY spectrum ของสารประกอบ 24



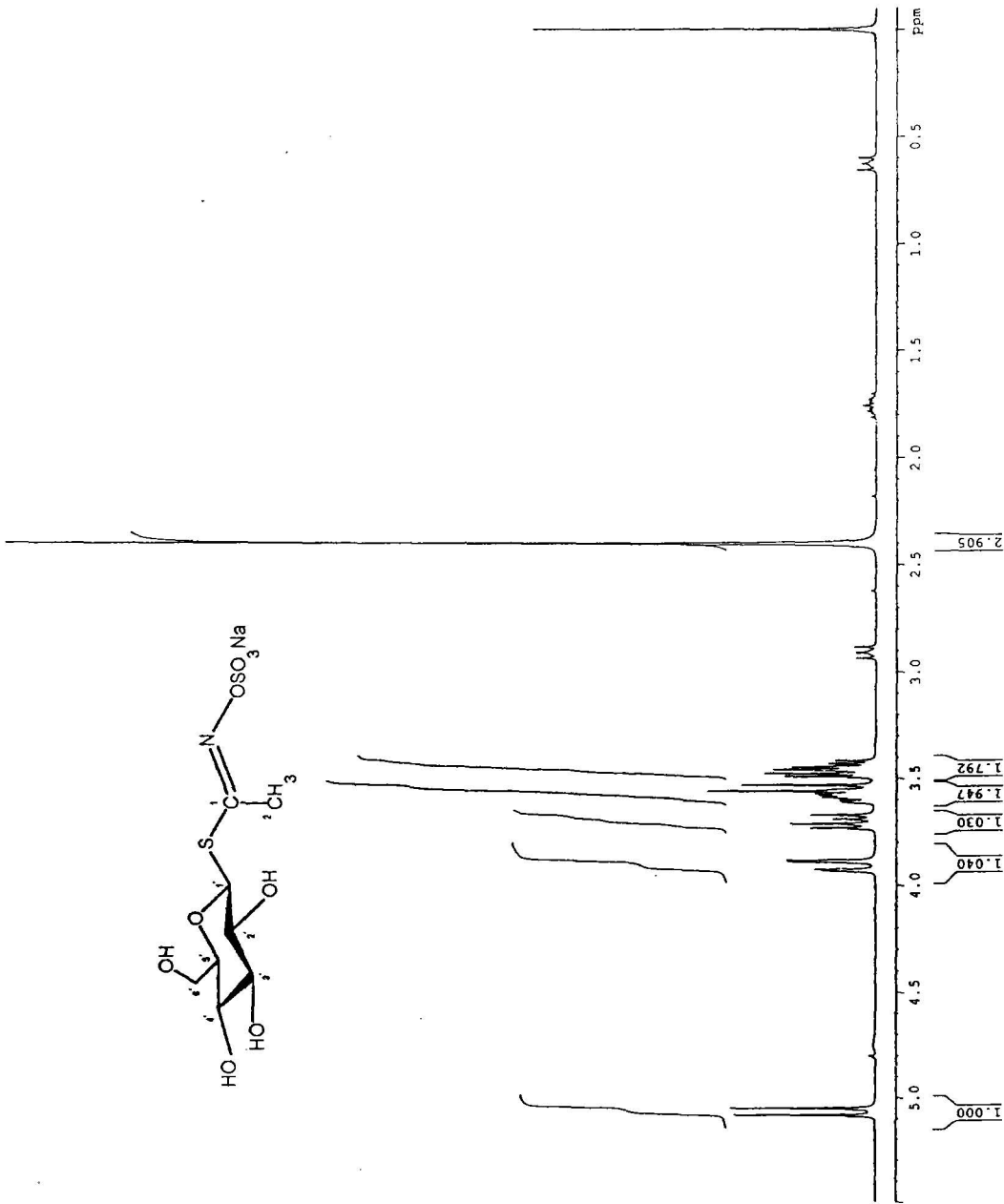
ภาพประกอบ 25 HMB spectrum ของสารประกอบ D



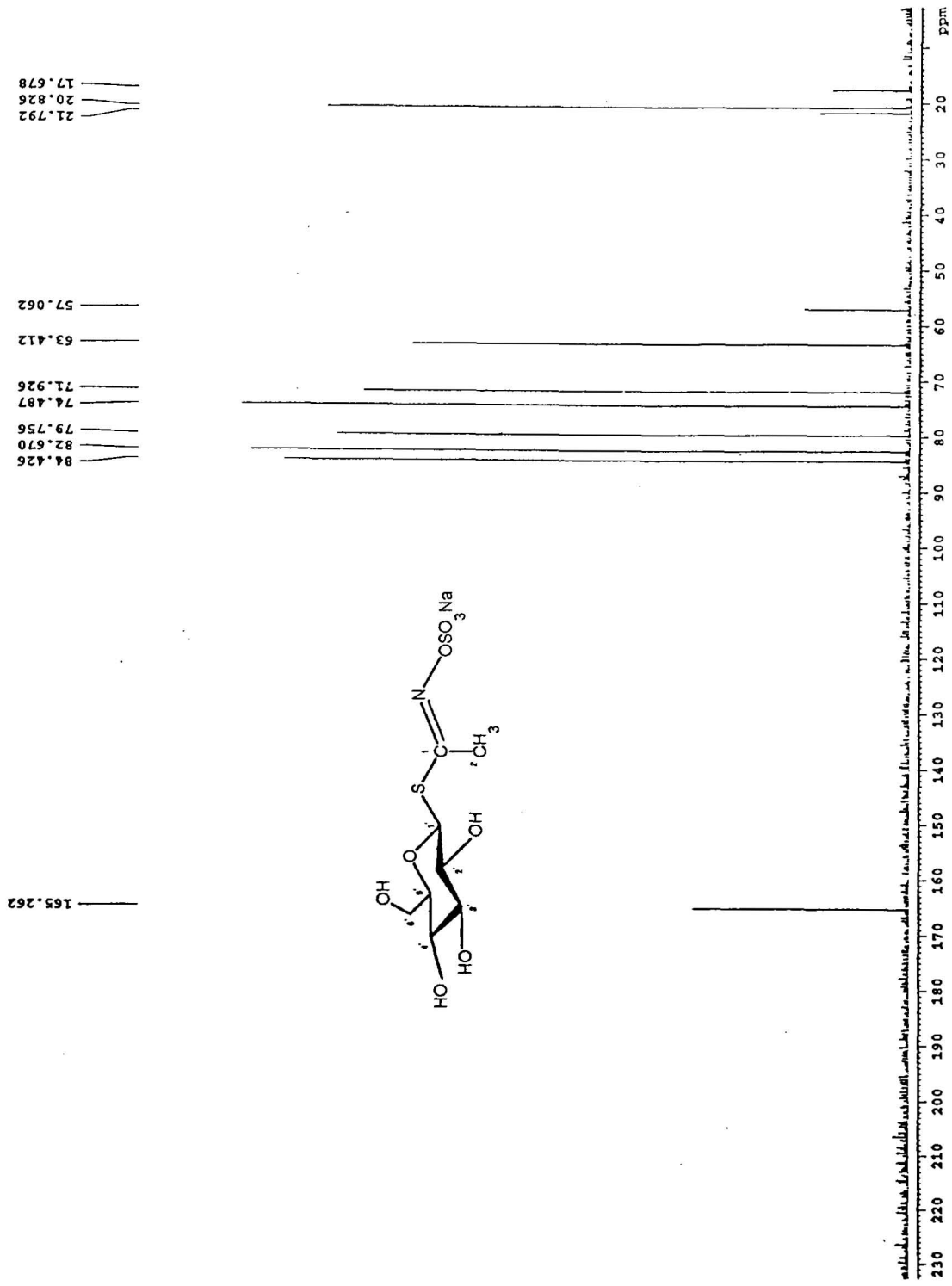
ภาพประกอบ 26 mass spectrum ของสารประกอบ D



ภาพประกอบ 27 FT IR spectrum ของสารประกอบ E

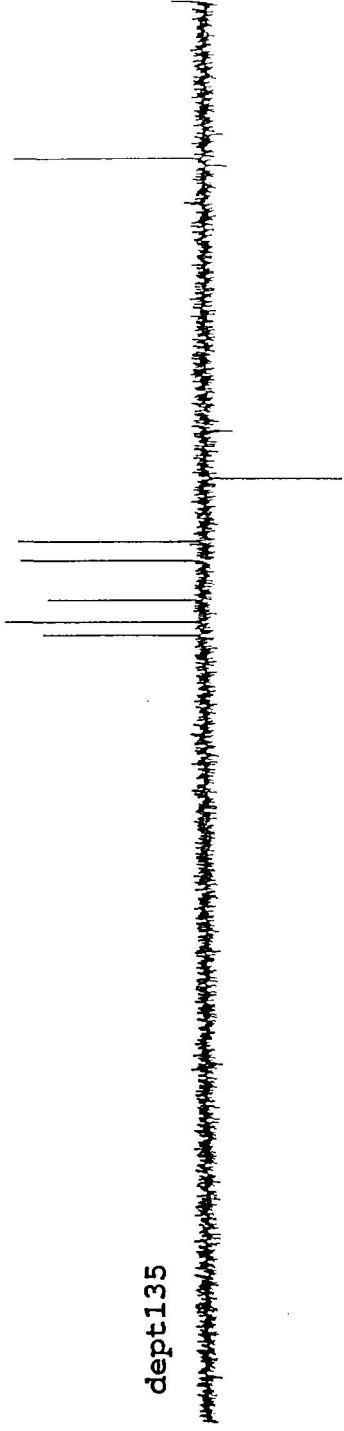


ภาพประกอบ 28 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ E

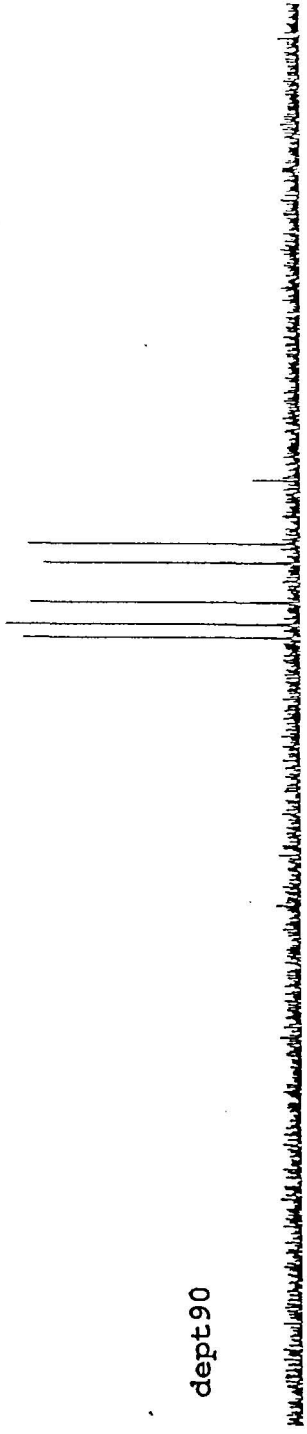


ภาพประกอบ 29 ¹³C NMR spectrum ของสารประกอบ E

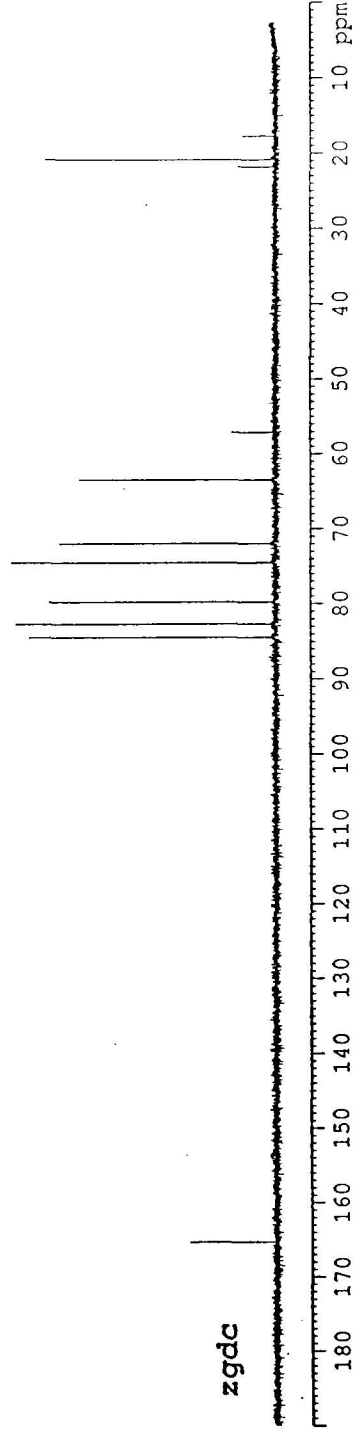
dept135



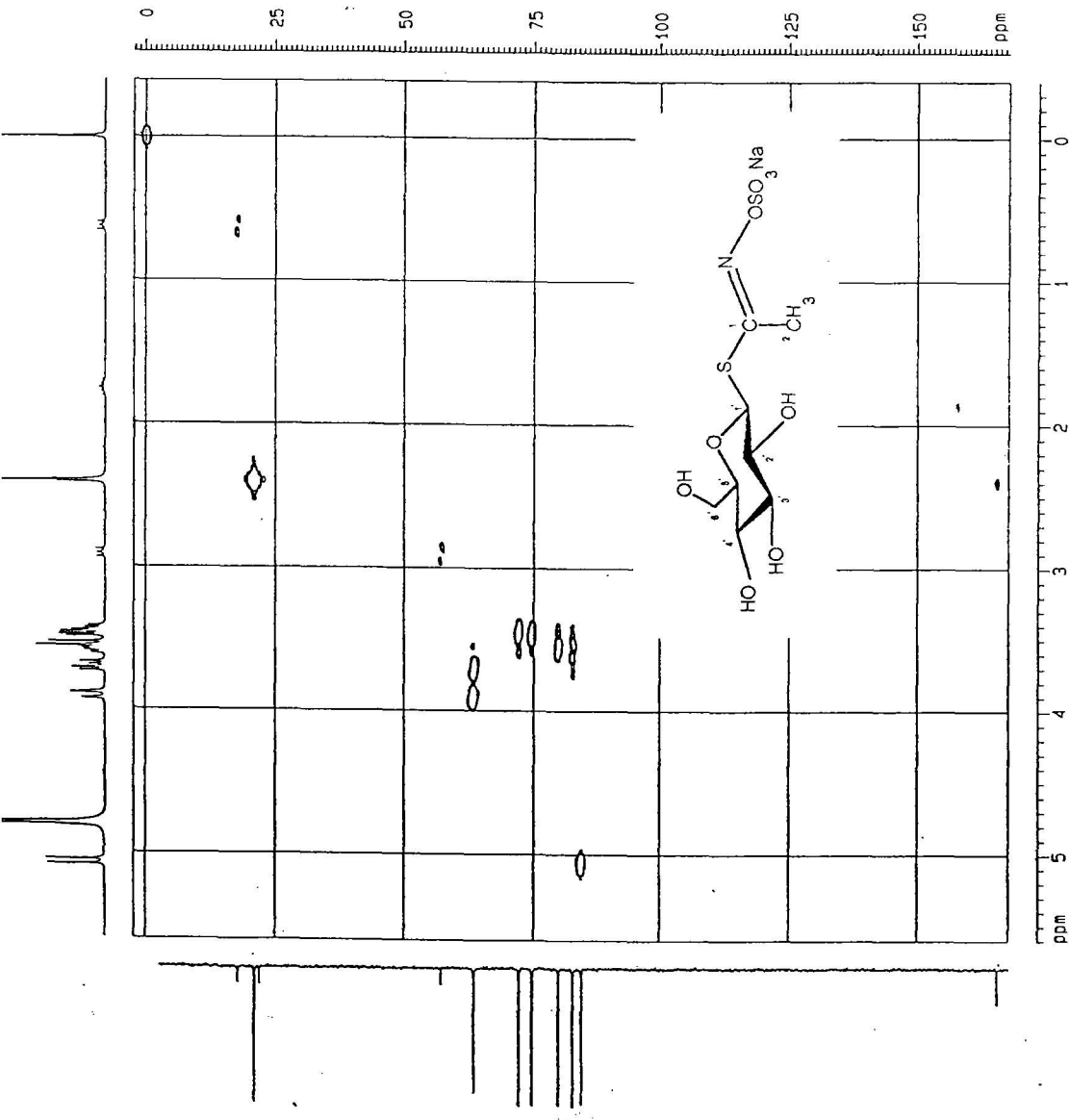
dept90



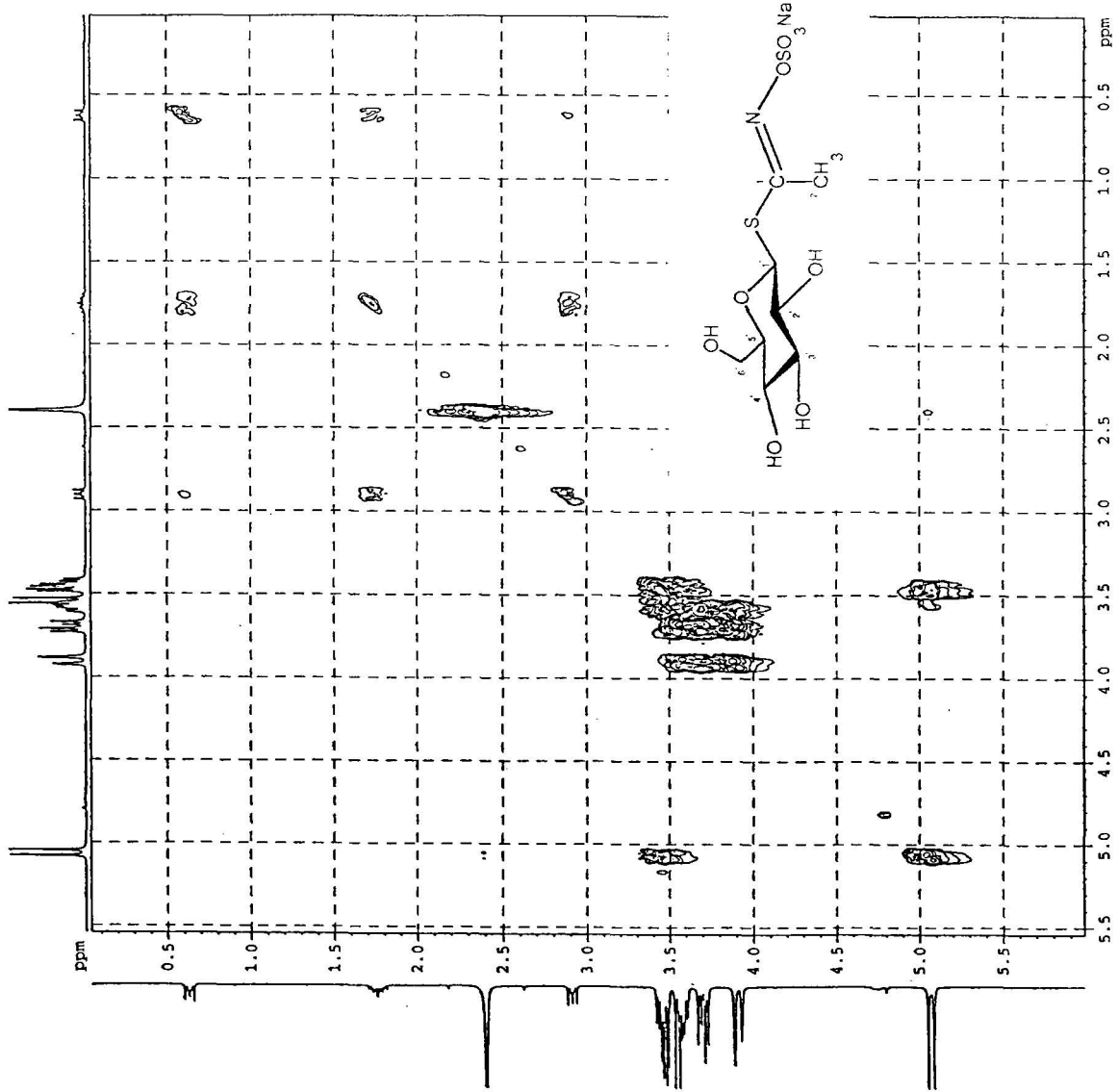
zgdc



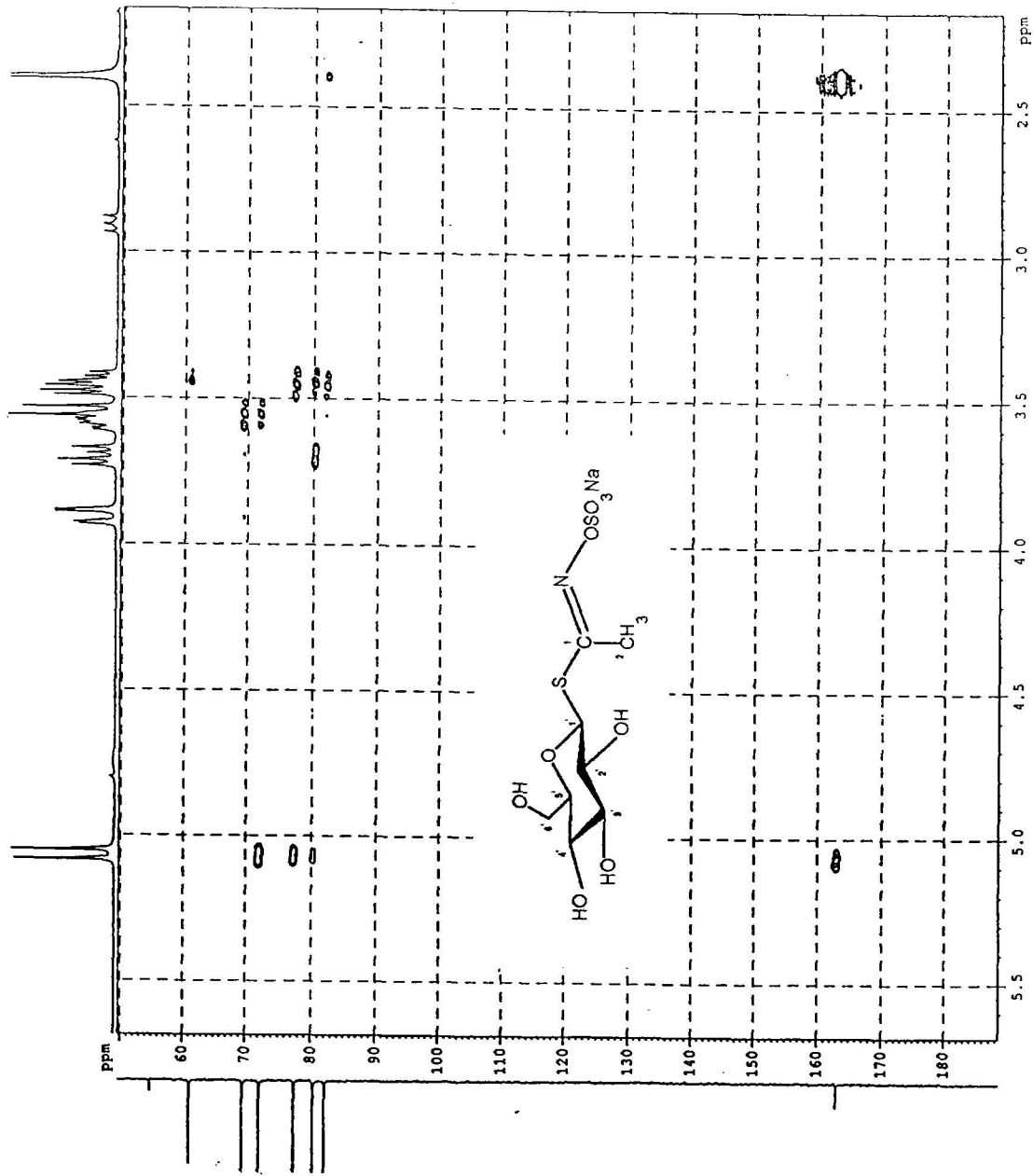
ภาพประกอบ 30 DEPT 90 และ DEPT 135 spectrum ของสารประกอบ E



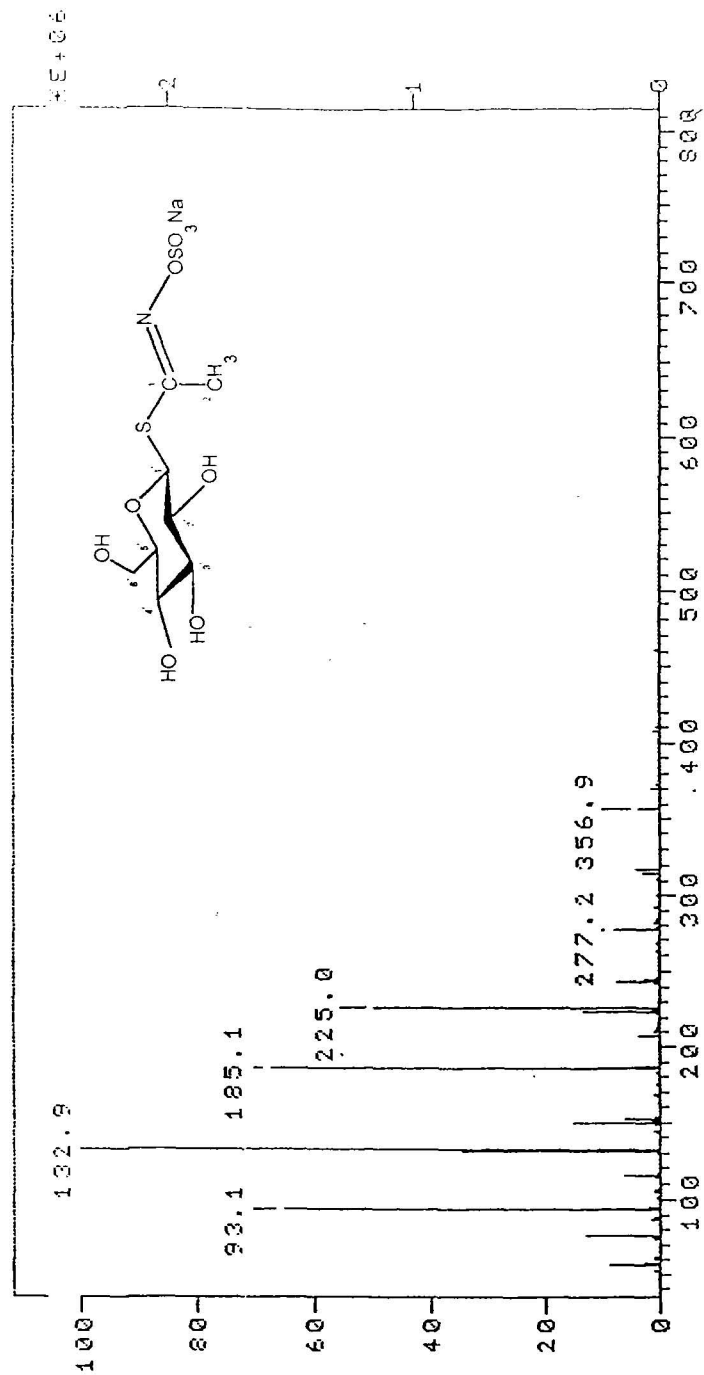
ภาพประกอบ 31. HMQC spectrum ของสารประกอบ E



ภาพระลอก 32 COSY spectrum ของสารระลอก E



ภาพประกอบ 33 HMQC spectrum ของสารประกอบ E



ภาพประกอบ 34 mass spectrum ของสารประกอบ E

อภิธานศัพท์

อภิธานศัพท์

<i>br s</i>	broad singlet
BuOH	butanol
°C	degree celcius
CC	column chromatography
CDCl ₃	deuteriochloroform
CHCl ₃	chloroform
cm ⁻¹	reciprocal centimetre
¹³ C NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
<i>d</i>	decomposed
<i>d</i>	doublet
<i>dd</i>	doublet of doublet
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DSS	sodium 2,2-dimethyl-2 silapentane-5-sulphonate
EI-MS	Electron Impact Mass Spectrum
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
FAB-MS	Fast Atom Bombardment Mass Spectra
FT IR	Fourier Transform Infrared
g	gram
¹ H- ¹ H COSY	H-relayed correlated spectra
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Conectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
¹ H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
HREI-MS	High Resolution Electron Impact Mass Spectrum
J	coupling constant
L	litre
<i>m</i>	multiplet

M ⁺	molecular ion
<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -chloroperbenzoic acid
Me	methyl group
MeOH	methanol
mL	millilitre
MHz	megahertz
<i>m/z</i>	mass to charge ratio
ppm	parts per million
prep.TLC	preparative Thin-Layer Chromatography
R _f	Retardation factor
<i>s</i>	singlet
<i>t</i>	triplet
TLC	Thin-Layer Chromatography
TMS	tetramethylsilane
UV	ultraviolet
μg	microgram
ν _{max}	maximum absorption frequencies

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางประนอม สุขเกื้อ
วันเดือนปีเกิด	23 มีนาคม 2507
สถานที่เกิด	อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	60/59 หมู่ 3 ตำบลหันตรา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
ตำแหน่งหน้าที่การงานในปัจจุบัน	อาจารย์ 2 ระดับ 6
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2526	มัธยมศึกษาตอนปลาย (แผนกวิทย์-คณิต) จากโรงเรียนองครักษ์ จังหวัดนครนายก
พ.ศ. 2530	วท.บ. (ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน
พ.ศ. 2545	กศ.ม.(เคมี) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร