

583.115048

71720

7.3

การศึกษาศารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดจากเปลือกต้นหนุวรากคำ

ปริญญาโท

ของ

กรรณิกา สุขนิษฐ์

ค-9 ก.อ. 2534

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี

กุมภาพันธ์ 2534

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณะกรรมการควบคุมและคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชา
เอกเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการควบคุม

.....ประธาน
(รศ.ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาลิทธิกุล)

.....กรรมการ
(ดร.จินดา แต้มบรรจง)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธาน
(รศ.ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาลิทธิกุล)

.....กรรมการ
(ดร.จินดา แต้มบรรจง)

.....กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผศ.ดร. สุนันท์ ชัยนกุล)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศ.ดร.สมพร บัวทอง)

วันที่...๕...เดือน...มีนาคม...พ.ศ.2534

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้โดยได้รับความช่วยเหลือ และ คำแนะนำจาก
รศ.ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล ดร.จินดา แต้มบรรจง ผศ.ดร.สุนันท์ ชัยนะกุล
และ รศ.เกษร นะสัง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสุรนารี
ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ที่อนุเคราะห์เครื่องมือในการวิเคราะห์สาร และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ให้
ความช่วยเหลือในการวิจัยครั้งนี้

กรรณิกา สุขนิตย์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	
คำนำ	1
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	2
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	2
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	2
คำนิยามศัพท์เฉพาะ	3
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย	5
3 วิธีดำเนินการทดลอง	9
การทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์	
ในเปปไทด์ต้นหนุวรากดำ	9
การสกัดสาร	13
การแยกและการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักให้บริสุทธิ์	13
การวิเคราะห์สาร	14
4 ผลการทดลอง	16
ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์	
ในเปปไทด์ต้นหนุวรากดำ	16
ผลการสกัด	18
ผลการแยกและการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักให้บริสุทธิ์	18
การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร	21
5 สรุปและอภิปรายผล	38
บรรณานุกรม	39

ภาคผนวก43

ประวัติย่อของผู้วิจัย45

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ผลการทดสอบเพื่อหาแอลคาลอยด์	16
2 ผลการทดสอบเพื่อหาคาร์ดิแอกไกลโคไซด์	17
3 ผลการทดสอบเพื่อหาซาโปนิน	17
4 ผลการทดสอบเพื่อหาฟลาโวนอยด์	18
5 ผลการแยกสารสกัดเอกเซนด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	19
6 ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	20
7 ผลการแยกสารสกัดเมทานอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	21

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงโครงสร้างของสารจากวงศ์ Annonaceae	7
2 แผนภูมิแสดงการสกัด การแยก และการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก จากเปลือกต้นหนุ่ยารากดำให้บริสุทธิ์	15
3 IR สเปกตรัม ของสาร ก.	25
4 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร ก.	26
5 แมสสเปกตรัมของสาร ก.	27
6 IR สเปกตรัม ของสติกมาสเตอรอล	28
7 ^1H NMR สเปกตรัมของสติกมาสเตอรอล	29
8 IR สเปกตรัม ของสาร ค.	30
9 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร ค.	31
10 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร ค.	32
11 แมสสเปกตรัมของสาร ค.	33
12 IR สเปกตรัม ของสาร ง.	34
13 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร ง.	35
14 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร ง.	36
15 แมสสเปกตรัมของสาร ง.	37

คำนำ

มนุษย์รู้จักใช้พืชเป็นยารักษาโรคนานเท่ากับการที่มนุษย์รู้จักใช้พืชเป็นอาหาร มีการนำพืชจำนวนมากมาใช้เป็นยารักษาโรคแต่ไม่มีการบันทึกไว้ เนื่องจากในสมัยก่อนยัง ไม่มีการประดิษฐ์อักษร เชื่อว่าตำราเพน-ตซา (Pen-tsaa) ของประเทศจีน เป็นตำรา สมุนไพรเก่าแก่ที่สุดมีอายุประมาณ 4,600 ปีและมีรายชื่อสมุนไพร 865 ชนิด ด้วยา บางชนิดในตำรายังใช้กันในปัจจุบัน สำหรับคัมภีร์อายุรเวทของประเทศอินเดียได้บันทึก สรรพคุณของสมุนไพรไว้มากกว่า 750 ชนิด เมื่อความรู้ทางพฤกษศาสตร์และเคมีเจริญมากขึ้น การศึกษาสมุนไพรจึงเข้าสู่แนววิทยาศาสตร์ ในประเทศที่มีความเจริญทางวิทยาการสูงได้ ทำการแยกและวิเคราะห์โครงสร้างของสารสำคัญในสมุนไพร และยังได้สังเคราะห์สารต่างๆ ที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร รวมทั้งดัดแปลงโครงสร้างของสารบางชนิดในสมุนไพรให้มีประสิทธิภาพ ในการรักษาโรคดีขึ้น

ชาวไทยแต่ละชนานมีสมุนไพรหลายชนิด จึงไม่ทราบว่ามีสารออกฤทธิ์มาจากพืชชนิดใด และเป็นสาเหตุที่ทำให้ความรู้สมุนไพรไม่ก้าวหน้าเท่าที่ควร (สมภพ อินทสุวรรณ. 2525: 276-278) ปัจจุบันมีการวิจัยสมุนไพรทางด้านเคมีและเภสัชวิทยากันมาก แต่ยังมีสมุนไพร อีกหลายชนิดซึ่งยังไม่ได้ทำการวิจัย(สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. ม.ป.ป.:2)

พญารากคำเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่แพทย์แผนโบราณใช้ดื่มกินเป็นยาแก้กระษัย เนื้อไม้ เมื่อเคี้ยวได้ยาเหนียวสีดำใช้ขยี้รับประทันแก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ปวดหลัง ปวดเอว และโรคไตพิการ (บุศบรรณ ณ สงขลา. 2525:88; วิทย์ เกียงบุรณธรรม. 2531: 526-527; คณะอาจารย์แพทย์แผนโบราณ. 2518:578-579)ตามตำรับพระวชิร จิต ตาลโย แห่งวัดเทพนมนงค์ อำเภอหินกอง จังหวัดสระบุรี ใช้ยาสีดำที่เคี้ยวจากเปลือกและราก ของต้นพญารากคำ สำหรับรักษาโรคเบาหวานร่วมกับสมุนไพรอื่นๆ ได้แก่ ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ เชือกเขาหนึ่ง ทองพันชั่ง แก่นไม้ลัก หัวร้อยรูและหญ้าเกล็ดปลา ได้มีรายงานว่ สมุนไพรตำรับพระวชิร จิต ตาลโย นี้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่ถูกชักนำให้เป็น เบาหวานด้วยแอลลอกแซน (alloxan) ได้ (สมบัติ นุ่มสาขา. 2530:24-40)

ปัจจุบันมีการนำยาสีดำที่เคี้ยวจากเปลือกและรากของต้นพญารากคำนี้ มาใช้เป็น สมุนไพรรักษาโรคต่างๆซึ่งกล่าวข้างต้น แต่ยังไม่มีการวิจัยทางเคมีของสมุนไพรดังกล่าว ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาวิธีการสกัด การแยกสารและศึกษาโครงสร้างของสาร

องค์ประกอบหลักบางชนิดจากเปลือกต้นพญารากดำ เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลเบื้องต้น
สำหรับการวิจัยทางเภสัชวิทยาต่อไป

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์จากเปลือกต้นพญารากดำ โดยการทดสอบเบื้องต้น
2. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยก และการวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดจากเปลือกต้นพญารากดำ

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำให้ทราบประเภทของสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในเปลือกต้นพญารากดำ
2. ทำให้ทราบโครงสร้างของสารองค์ประกอบหลักบางชนิดในเปลือกต้นพญารากดำ ซึ่งอาจเป็นสารใหม่ และอาจใช้เป็นสารนำ (lead compound) ในการสังเคราะห์สารที่มีศักยภาพในการรักษาโรคได้
3. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ อาจเป็นแนวทางการศึกษาเภสัชวิทยาต่อไปในอนาคต

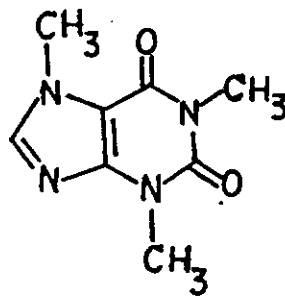
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ใช้ส่วนเปลือกของต้นพญารากดำ (*Polylethia cerasoides* (Roxb.) Benth. ex Bedd.) ที่ตากแห้ง เก็บจากอำเภอนพพทุษยาท จังหวัดสระบุรี
2. ประเภทของสารที่ทำการทดสอบได้แก่ แอลคาลอยด์(alkaloid) คาร์ดิแอก-ไกลโคไซด์(cardiac glycoside) ซาโปนิน(saponin) ฟลาโวนอยด์(flavonoid) และคูมาริน(coumarin)
3. ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารจากเปลือกต้นพญารากดำ คือ เฮกเซน(hexane) คลอโรฟอร์ม(chloroform) และเมทานอล(methanol)
4. การแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ ทำโดยวิธีโครมาโทกราฟี (chromatography) และวิธีการตกผลึก
5. วิเคราะห์หาโครงสร้างของสาร ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี(spectroscopy technique)

นิยามศัพท์เฉพาะ

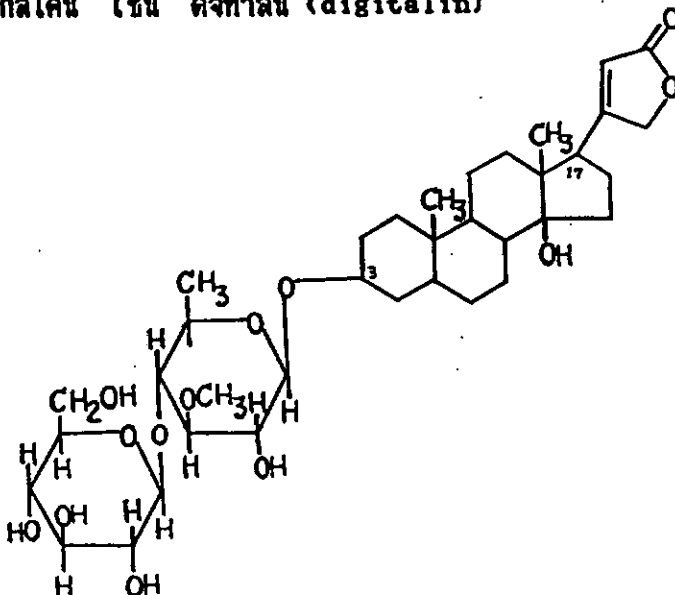
สมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากส่วนของพืช สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้แปรรูป เช่น ราก ต้น ใบ ดอก และผลของพืช

แอลคาลอยด์ เป็นสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก(heterocyclic) มีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล และมีสมบัติเป็นเบส เช่น คาเฟอีน(caffeine)



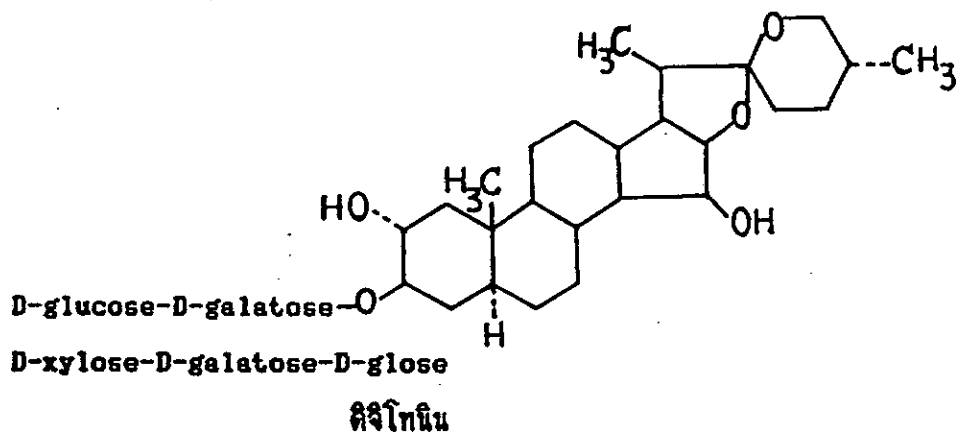
คาเฟอีน

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ประกอบด้วยน้ำตาลและอะไกลโคน (aglycone) มีสเตอรอยด์(steroid) เป็นโครงสร้างพื้นฐานซึ่งมีวงแลกโตนไม่อิ่มตัว(unsaturated lactone ring) ต่อที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 17 ส่วนที่เป็นน้ำตาลต่อที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของอะไกลโคน เช่น ดิจิตาลิน (digitalin)

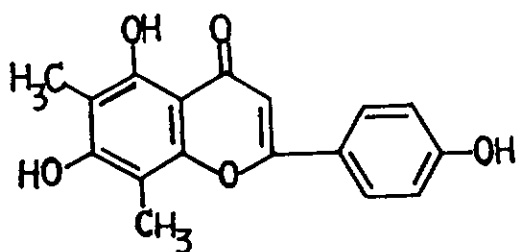


ดิจิตาลิน

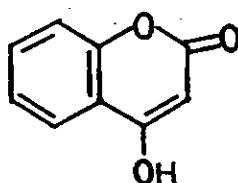
ซาโปนิน เป็นไกลโคไซด์ชนิดหนึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำตาล และอะไกลโคน ซึ่งอาจเป็นสเตอรอยด์ หรือไตรเทอร์พีน (triterpene) เช่น ดิจิโทนิน (digitonin)



ฟลาโวนอยด์ เป็นไกลโคไซด์ซึ่งมีอะไกลโคน ที่มีโครงสร้างพื้นฐาน $C_6-C_3-C_6$ ฟลาโวนอยด์อาจอยู่ในรูปอิสระ (aglycone) หรืออยู่ในรูปไกลโคไซด์จะพบในส่วนของพืช ที่มีสี เช่น ดอก ผล และใบ ตัวอย่างของสารประเภทนี้ เช่น ฟาร์เรอรอล (farrerol)



คูมาริน เป็นสารที่มีโครงสร้างเบนโซ-แอลฟา-ไพโรน (benzo- α -pyrone) อยู่ในโมเลกุล เช่น คูมารอล (coumarol)



เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

พญารากคำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Polyalthia cerasoides (Roxb.) Benth.ex Bedd. อยู่ในวงศ์ Annonaceae มีชื่อพื้นเมืองแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เช่น สะบันงาป่า(ภาคเหนือ) คำสามซึก(เชียงใหม่) ไม้เหือง(ลำปาง) เสาโนลสา(กะเหรี่ยงแม่ฮ่องสอน) แคหาง(ราชบุรี) กะเจียน(ชลบุรี) ไม้คอง(ระยอง) ทวายเด่น(ขอนแก่น) พญารากคำเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางพบตามป่าดิบแล้งทั่วไป สูงประมาณ 12-20 เมตร เปลือกสีเทา ส่วนที่ยังอ่อนมีขนสีน้ำตาล กิ่งที่แก่มีผิวเกลี้ยง ใบเป็นรูปหอกหรือยาวรี ยาว 6.5-15 เซนติเมตร กว้าง 2.5-5 เซนติเมตร ดอกออกจากที่เดียวกัน 1-3 ดอก มีกลีบรองดอก 3 กลีบ กลีบดอก 6 กลีบ ซึ่งเรียงเป็น 2 วง วงละ 3 กลีบ สีเขียวอมเหลือง ผลกลมรียาว 0.7-1 เซนติเมตร กว้าง 0.5-0.8 เซนติเมตร ผลดิบสีเขียว สุกสีแดง (เต็ม สมิตินันท์. 2523:270;บุศบรรณ ๙ สงขลา. 2525:88-89; วิทย์ เกียงบุรณธรรม. 2531:526-527)

พืชในวงศ์ Annonaceae มีประมาณ 80 สกุล 850 ชนิด เช่น น้อยหน่า (Annona squamosa Linn.) น้อยโหน่ง(Annona reticulata Linn.) การเวก (Artabotrys siamensis Miq.) กระดังงาไทย (Cananga odorata Hook. f.and Thoms.) (เสนาะ บุญมี. 2523:62; จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ม.ป.ป. :63-64) สารอินทรีย์ที่พบในพืชวงศ์ Annonaceae มีหลายประเภท เช่น ลำต้นก้ำดั่งวัวเถลิง (Anaxagorea lozonensis A. Gray) มีฟลาโวนอยด์ เปลือกต้นกระดังงา (Canangium odoratum Baill.) มีฟลาโวนอยด์ ลิโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanin) และ สเตอรอยด์คอลซาโปจีนิน (steroidal sapogenin) ลำต้นและใบสายหยุด (Desmos chinensis Lour.) มีแอลคาลอยด์และลิโคแอนโทไซยานิน รากตับเต่าน้อย (Polyalthia debilis Finet.and Gagnep.) มีแอลคาลอยด์ และลำต้นนมแมว (Rauwenhoffia siamensis Scheff.) มีแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และลิโคแอนโทไซยานิน (สุภาพ บุญะรัตเวช และคนอื่นๆ. 2523:117-141)

โมฮัมหมัด วอเตอร์แมน และโทมัส (Mohammad,Waterman and Thomas. 1985:328-329) ได้ทำการสกัดสารจากเมล็ด Uvariadendron connivens

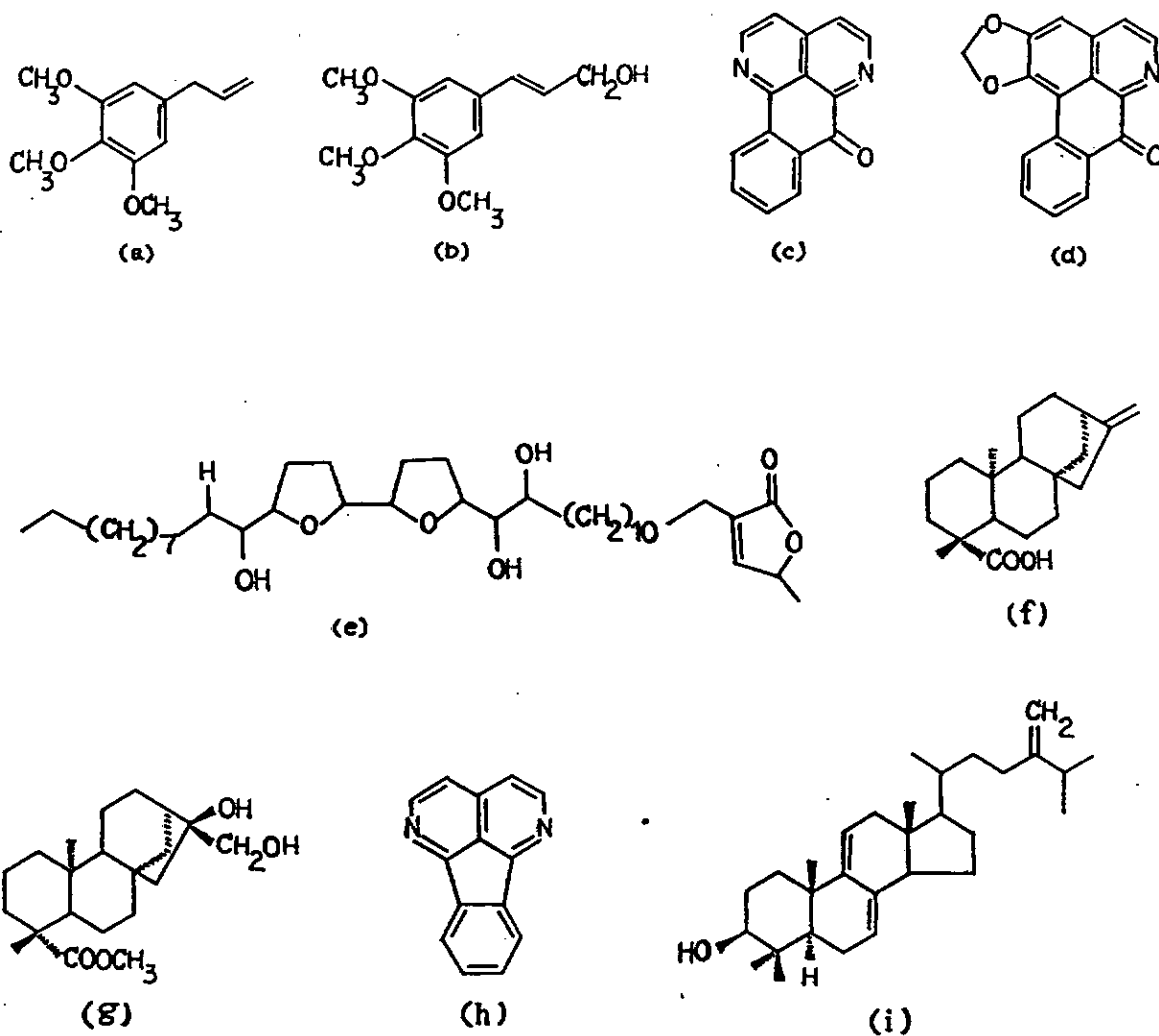
(Benth.) R.E.Fries. ตัวยบิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) พบสาร 2 ชนิดคือ อีลีไมซิน (elemicin) และ 3',4',5'-ไตรเมทอกซีซินนามิลแอลกอฮอล์ (3',4',5'-trimethoxycinnamyl alcohol) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1. (a และ b)

โรว์ และคนอื่นๆ (Rao and others. 1986:346-347) ได้สกัดและแยกสารจากเปลือกต้น Cananga odorata Hook.f. and Thoms. พบสารพอลินิวเคลียร์อะโรมาติก (Polynuclear aromatic) 2 ชนิดคือ แซมเปงจิน (sampangine) และลิริโอดีนีน (liriodenine) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียชนิด Staphylococcus aureus, Mycobacterium smegmatis และ B. subtilis โครงสร้างของสารทั้ง 2 แสดงในภาพประกอบ 1. (c และ d)

เอทเซ และวอเตอร์แมน (Etse and Waterman. 1986:684-686) นำเปลือกต้น Annona reticulata Linn. มาสกัดด้วยสารละลายแอมโมเนียในเมทานอลพบ-14-ไฮดรอกซี-25-ดีออกซีโรลลินิซิน (14-hydroxy-25-desoxyrollinisin) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1(e) และแยกสารอนุพันธ์กรดคาร์บอกซิลิกและเอสเทอร์ 2 ชนิด คือ กรด(-)-คาเออร์-16-อิน-19-โออิก ((-)-kaur-16-en-19-oic acid) และเมทิล 16 เบต้า, 17-ไดไฮดรอกซี-(-)-คายูเรน-19-โอเอต (methyl-16 β , 17-dihydroxy-(-)-kauran-19-oate) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1 (f และ g) (Etse, Gray and Waterman. 1987:979-983)

ฮัฟฟอร์ด และคนอื่นๆ (Hufford and others. 1987:961-964) ได้สกัดสารจากเปลือกกราก Cleistopholis patens (Benth.) Engl. and Diels ด้วยเอทเซนและ 95% เอทานอลตามลำดับ และแยกสารบริสุทธิ์ได้เพียงชนิดเดียวคือ ยูโพลอริดีน (eupolauridine) มีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1(h) และสารนี้มีฤทธิ์ต่อราชนิด Candida albicans.

ฮาซาน และคนอื่นๆ (Hasan and others. 1987:762-763) ได้แยกสเตอรอยด์ คือ 24-เมทิลีน-ลาโนสเต-7,9(11)-ไดอิน-3 เบต้า-ออล (24-methylene-lanoste-7,9(11)-dien-3 β -ol) มีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1 (i) จากสารสกัดบิโตรเลียมอีเทอร์ของเปลือกต้น Artabotrys odoratissimus R.Br.



ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างของสารจากวงศ์ Annonaceae

- (a) อีลิไมซิน
- (b) 3',4',5'-ไตรเมทอกซีซินนามิลแอลกอฮอล์
- (c) แซมเปงจีน
- (d) ลิริโอคีนิน
- (e) 14-ไฮดรอกซี-25-ดีฮอกซีโรลนินซิน
- (f) กรด(-)-คาเอร์-16-อิน-19-ไอฮิก
- (g) เมทิล 16 เบต้า, 17-ไดไฮดรอกซี-(-)-คาซูเรน-19-โอเอต
- (h) ยูโนลาซูรีดิน
- (i) 24-เมทิลีน-ลาโนสตา-7,9(11)-ไดอิน-3เบต้า-อล

นอกจากการสกัดและการแยกสารอินทรีย์บางประเภท จากพืชในวงศ์
 Annonaceae แล้วยังได้มีการวิเคราะห์ธาตุบางชนิดจากพืชวงศ์ดังกล่าว โดยวิธีอินดักทีฟ-
 คัปเปิลพลาสมาอะตอมมิคอีมิสชันสเปกโตรเมตรี (Inductively Couple Plasma
 Atomic Emission Spectrometry) พบว่าสารสกัดเอทเธนจากเปลือกต้นพญาธำม
 ธาตุแมกนีเซียม อลูมิเนียม แคลเซียม สังกะสี และแบเรียม (สุภาลักษณ์ ปรินพาลิตธิกุล
 และเชนโค โยชิคา. 2531:31-35)

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในเปลือกต้นพวรากคำ
วิธีดำเนินการทดสอบเบื้องต้น

นำเปลือกต้นพวรากคำแห้งบดละเอียด 100 กรัม ใส่ในขวดเติมเมทานอลจนท่วม ตั้งทิ้งไว้ 7 วัน โดยคนเปลือกต้นพวรากคำที่แช่ในเมทานอลทุกวัน หลังจากครบ 7 วัน กรองสารละลายที่สกัดได้ นำมาทำให้เข้มข้นโดยระเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ 5 ประเภทคือ แอลคาลอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ และคูมาริน ตามวิธีการทดสอบประเภทของสารเคมีในสมุนไพรไทยและคู่มือปฏิบัติการทางพฤกษเคมี (สุภาพ นฤยธวัช และคนอื่นๆ. 2523 : 117-141; ชมรมพฤกษเคมี. 2523) โดยทดสอบดังนี้

1.1 การทดสอบแอลคาลอยด์

รีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบแอลคาลอยด์

1. รีเอเจนต์ดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent)
2. รีเอเจนต์วากเนอร์ (Wagner's reagent)
3. รีเอเจนต์มาร์ม (Marine's reagent)

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาแอลคาลอยด์ ใช้ปฏิกิริยาของแอลคาลอยด์กับรีเอเจนต์ที่ให้ตะกอนสีแดง ได้แก่ รีเอเจนต์ดราเจนดอร์ฟให้ตะกอนสีส้ม รีเอเจนต์วากเนอร์ให้ตะกอนสีน้ำตาล และรีเอเจนต์มาร์มให้ตะกอนสีขาว

ขั้นตอนการทดสอบ

ขั้นที่ 1 การทดสอบแอลคาลอยด์เบื้องต้น (Preliminary alkaloid test)

นำสารสกัดเมทานอล 1 กรัม มาเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ลุกษาศักดิ์เคมีเมตร จำนวน 15 ลุกษาศักดิ์เซนติเมตร อุณหภูมิ 10 นาที เติมน้ำเพื่อให้สารละลายใสแล้วกรอง รินสารละลายลงในหลอดทดลอง 3 หลอดๆ ละ 1 ลุกษาศักดิ์เซนติเมตร (สารละลายที่เหลือ เก็บไว้ทดสอบในขั้นที่ 2) แล้วนำไปทดสอบด้วยรีเอเจนต์ต่อไปนี้ คือ รีเอเจนต์ดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์วากเนอร์และรีเอเจนต์มาร์มสังเกตสีและปริมาณของตะกอน

ขั้นที่ 2 การทดสอบแอลคาลอยด์เพื่อยืนยันผล (Confirmed alkaloid test)

นำสารละลายที่เหลือจากขั้นที่ 1 ทำให้เป็นเบสด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 28 รินสารละลายทั้งหมดลงในกรวยแยกสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆ ละ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกันแล้วระเหยคลอโรฟอร์มออกเกือบแห้ง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร อุณหภูมิ 3 นาที กรอง รินสารละลายลงในหลอดทดลอง 3 หลอดๆ ละ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำไปทดสอบกับรีเอเจนต์ต่างๆ เช่นเดียวกันกับขั้นที่ 1.

1.2 การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

รีเอเจนต์ที่ใช้ในการทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

1. รีเอเจนต์เคดด์ (Kedde's reagent)

2. รีเอเจนต์เคลเลอร์-คิลานิ (Keller-Kiliani's reagent)

การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ในพืชโดยวิธีทางเคมีที่ได้ผลนั้น ควรใช้รีเอเจนต์หรือปฏิกิริยาที่มีผลต่อองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 3 ส่วนของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คือ

ก. รีเอเจนต์เคดด์ ทดสอบส่วนที่ไม่อิ่มตัวของแลคโตนที่ตำแหน่งแอลฟาและเบต้า (α, β -unsaturated lactone)

ข. ปฏิกิริยาเคลเลอร์-คิลานิ ทดสอบน้ำตาลดีออกซี (deoxysugar)

ค. ปฏิกิริยาลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด (Liebermann-Berchard reaction) ทดสอบส่วนที่เป็นสเตอรอยด์

การทดสอบถ้ามีคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ จะได้ผลบวกทั้ง 3 ปฏิกิริยา

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดเมทานอล 1 กรัม มาเติมสารละลายเคดด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก จำนวน 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร อุณหภูมิ 15 นาที คนตลอดเวลา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรอง นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆ ละ 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าเบาๆ ตลอดเวลา รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน เติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรอง ระเหยคลอโรฟอร์มออกให้เหลือหนึ่งในสิบของปริมาตรเดิม รินสารละลายที่ได้ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำไปทดสอบส่วนที่เป็นแลคโตน น้ำตาลดีออกซี และสเตอรอยด์ ดังนี้

ก. ทดสอบส่วนที่เป็นแลคโตน โดยทดสอบกับรีเอเจนต์เคดด์ นำหลอดที่ 1 มาเติมรีเอเจนต์เคดด์ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร 2-3 หยด ถ้ามีแลคโตนจะได้สารละลายสีน้ำเงินหรือสีม่วง

ข. ทดสอบส่วนที่เป็นน้ำตาลคือออกซี ด้วยปฏิกิริยาเคลเลอร์-ซีไลน โดยเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก จำนวน 3 ลูกบาศก์-เซนติเมตรลงในหลอดที่ 2 เขย่าให้เข้ากัน เอียงหลอดทดลองแล้วค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ลงข้างหลอด 1-2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถ้ามีน้ำตาลคือออกซีจะปรากฏสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้น ส่วนสารละลายชั้นบนมีสีเขียวอ่อน

ค. ทดสอบส่วนที่เป็นสเตอรอยด์ ด้วยปฏิกิริยาฮีเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด โดยเติมแอซิดิกแอนไฮไดรต์ 3 หยด ลงในหลอดที่ 3 เขย่า แล้วค่อยๆหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไปข้างหลอด 1 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงทันที และภายใน 1 ชั่วโมง สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ม่วง น้ำเงิน และเขียว ตามลำดับ

1.3 การทดสอบซาโปนิน

วิธีทดสอบซาโปนินมีได้หลายวิธี ในที่นี้จะใช้ 2 วิธีคือการทดสอบฟอง และการทดสอบสีด้วยวิธีฮีเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด ในการทดสอบฟองหลังเขย่าจะให้ฟองลักษณะรูปร่างสูง 2 เซนติเมตร คงตัวอยู่นาน 30 นาที แต่หลังจากเติมกรดแล้วเขย่าฟองจะหายไป เกิดตะกอนขึ้นแทน ส่วนการทดสอบสีวิธีฮีเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด ถ้าเป็นสเตอรอยด์คอลซาโปจีนิน จะให้น้ำเงิน หรือเขียวแกมน้ำเงิน แต่ก็เป็นไตรเทอร์พีนอยด์คอลซาโปจีนิน (triterpenoidal sapogenin) จะให้สีแดง ชมพู ม่วง หรือม่วงแดง

ขั้นตอนการทดสอบ

ก. การทดสอบฟอง นำเปลือกต้นพาราเกต้าแห้งบดละเอียด 1 กรัม เติมน้ำ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้ม 5 นาที กรองขณะร้อน ทิ้งไว้ให้เย็น เขย่าสารละลายที่ได้อย่างแรง 1 นาที สังเกตว่ามีฟองลักษณะรูปร่างสูง 2 เซนติเมตร คงตัวนาน 30 นาที เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเจือจาง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้ม 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เขย่าอย่างแรงเป็นเวลา 1 นาที บันทึกผล

ข. การทดสอบสี ด้วยวิธีฮีเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด นำสารสกัดเมทานอล 2 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเจือจางจำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มให้เดือด 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆละ 15 ลูกบาศก์-เซนติเมตร รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน เติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองระเหยคลอโรฟอร์มออก แล้วทดสอบด้วยวิธีฮีเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด ทำนองเดียวกับการทดสอบสเตอรอยด์ของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ สังเกตสี และบันทึกผล

1.4 การทดสอบฟลาโวนอยด์

การทดสอบฟลาโวนอยด์ ใช้ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของไซยานิดินและ
ลิวโคแอนโทไซยานิน

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดเมทานอล 1 กรัม เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ 15 ลูกบาศก์-
เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากัน แยกชั้นนิโตรเลียมอีเทอร์ออก จะได้สารสกัดเมทานอลที่
ปราศจากไขมัน เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ 95 จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร กรอง
รินสารละลายที่ได้ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลอดที่ 1
ไว้เปรียบเทียบกับ หลอดที่ 2 และ 3 นำไปทดสอบไซยานิดิน และลิวโคแอนโทไซยานินตามลำดับ

ก. การทดสอบไซยานิดิน (Cyanidin test) เติมนิโตรเลียมอีเทอร์
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวน 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และแมกนีเซียม 3-4 ชิ้นลงใน
หลอดที่ 2 สังเกตการเปลี่ยนสีเปรียบเทียบกับหลอดที่ 1 ถ้ามีฟลาโวนอยด์ จะให้สีส้ม แดง
หรือ ม่วงแดง ในกรณีที่เกิดสี เติมน้ำกลั่น 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร และออกทานอล 1
ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่า และทิ้งไว้ให้แยกชั้น สังเกตสีในแต่ละชั้น ถ้าเป็นอะไกลโคโคน
จะให้สีในชั้นออกทานอลซึ่งอยู่ชั้นบน แต่ถ้าเป็นไกลโคไซด์จะให้สีในชั้นน้ำซึ่งอยู่ชั้นล่าง

ข. การทดสอบลิวโคแอนโทไซยานิน (Leucoanthocyanin test)

นำสารละลายหลอดที่ 3 มาเติมนิโตรเลียมอีเทอร์กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 ลูกบาศก์-
เซนติเมตร อุณหภูมิ 5 นาที สังเกตสี ถ้ามีฟลาโวนอยด์ สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง

1.5 การทดสอบคูมาริน

สารคูมารินเมื่อละลายในเบส วงไพโรน (pyrone ring) จะแตก
ได้เกลือ หรือแอนไอออนของกรดคอรโรโท-ไฮดรอกซีซินนามิก (o-hydroxycinnamic acid)
ซึ่งเป็นรูปซิส (cis-form) ไม่เรืองแสง แต่เมื่อได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตจะเปลี่ยน
เป็นรูปทรานส์ (trans-form) เรืองแสงได้เป็นสีเขียวอมเหลือง ในเวลาไม่กี่นาที

ขั้นตอนการทดสอบ

นำเปลือกต้นพญารากคำแห้งบดละเอียด 3 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวย
ทำให้อุ่นด้วยน้ำกลั่น ปิดปากขวดด้วยกระดาษกรองที่อ้อมตัวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
เข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ปิดทับด้วยแผ่นอลูมิเนียมบาง อุณหภูมิ 30 นาที
นำกระดาษกรองที่ปิดปากขวด ไปฉายแสงอัลตราไวโอเลต สังเกตการเรืองแสง

2. การสกัดสาร

นำเปลือกต้นพญารากคำแห้งบดละเอียด 8 กิโลกรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอลตามลำดับ โดยแช่ในแต่ละตัวทำละลาย 3 ครั้ง ๆ ละ 2 สัปดาห์

การสกัดสารด้วยเอทเซนแช่เปลือกต้นพญารากคำในเอทเซนกรองสารละลายที่ได้ระเหยตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยแบบลดความดัน รวมสารสกัดเอทเซน ซึ่งน้ำหนักกากที่เหลือหลังการสกัดให้แห้ง แล้วสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม กรองสารละลายที่ได้ระเหยตัวทำละลายออก รวมสารสกัดคลอโรฟอร์ม นำไปซึ่งน้ำหนัก ผึ่งกากของเปลือกต้นพญารากคำให้แห้งแล้วนำไปสกัดด้วยเมทานอล กรองสารละลายที่ได้ ระเหยตัวทำละลายออก รวมสารสกัดเมทานอลทั้งหมด และนำไปซึ่งน้ำหนัก

3. การแยกและการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดแต่ละชนิดมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ เพื่อเป็นแนวทางในการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ต่อไป

3.1 การแยกสารสกัดเอทเซนและการทำให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดเอทเซนหนัก 15.5 กรัม มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร มีซิลิกาเจล 400 กรัมเป็นตัวดูดซับ แล้วชะด้วยตัวทำละลายเรียงตามลำดับดังนี้ เอทเซน ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทเซนกับคลอโรฟอร์มในอัตราส่วนต่างๆ คลอโรฟอร์ม ตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วนต่างๆ และเมทานอลตามลำดับ เก็บลำดับส่วนที่ชะได้ ครั้งละ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำแต่ละลำดับส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกให้เหลือปริมาตร 8-15 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วตรวจสอบสารในแต่ละลำดับส่วนนี้ด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน และนำส่วนที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วยเอทเซนต่อคลอโรฟอร์ม (50:50) มาตกผลึกในสารละลายผสมระหว่างเอทเซนกับคลอโรฟอร์มหลายๆ ครั้ง เพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์

3.2 การแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มและการทำให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดคลอโรฟอร์มหนัก 20 กรัม มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร มีซิลิกาเจล 600 กรัมเป็นตัวดูดซับ แล้วชะด้วย ตัวทำละลายและเรียงตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายจากน้อยไปมากดังนี้ ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทเซนกับคลอโรฟอร์ม คลอโรฟอร์ม ตัวทำละลายผสมระหว่าง

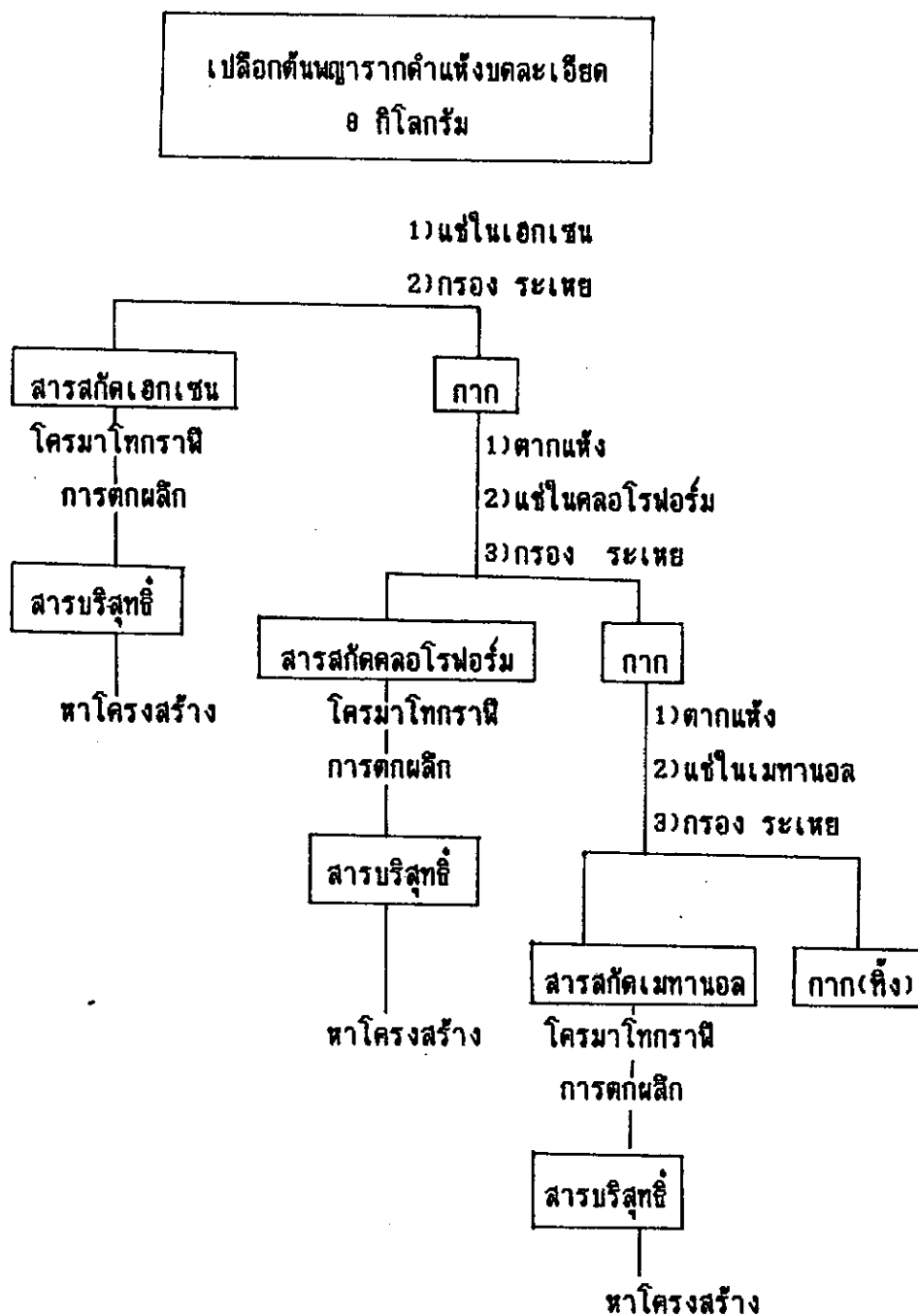
คลอโรฟอร์มกับเมทานอลและเมทานอลตามลำดับ เก็บลำดับส่วนที่ชะได้ครั้งละ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำแต่ละลำดับส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกให้เหลือปริมาตร 8-15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตรวจสอบในแต่ละลำดับส่วนด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน และนำส่วนที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วยเอทเธอร์ คลอโรฟอร์ม (50:50 และ 40:60) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีตกผลึกในสารละลายผสม ระหว่างเอทเธอร์กับคลอโรฟอร์มหลายๆครั้ง

3.3 การแยกสารสกัดเมทานอลและการทำให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดเมทานอลหนัก 25 กรัม มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบ คอลัมน์ ใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร มีซิลิกาเจล 625 กรัม เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามลำดับดังนี้ ตัวทำละลายผสมระหว่าง คลอโรฟอร์มกับเมทานอลในอัตราส่วนต่างๆ และเมทานอลตามลำดับ เก็บลำดับส่วนที่ชะ ได้ครั้งละ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วตรวจสอบสารในแต่ละลำดับส่วนด้วยโครมาโท- กราฟีแบบเยื่อบาง รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน และนำส่วนที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วย คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (85:15) มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีการตกผลึกในเมทานอล

4. การวิเคราะห์สาร

นำสารที่แยกได้มาหาจุดหลอมเหลวโดยใช้เครื่อง Electrothermal Melting Point Apparatus และตรวจหาโครงสร้างโดยใช้อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Infrared Spectroscopy) โดยเครื่อง Perkin-Elmer 298 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: NMR) โดยเครื่อง Varian XL-300, EM 360L และแมสสเปกโทรสโกปี (Mass Spectroscopy) โดยเครื่อง Finnigan 4021



ภาพประกอบ 2 แผนภูมิแสดงการสกัด การแยก และการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักจากเลือกต้นพันธุ์รากคำให้บริสุทธิ์

ผลการทดลอง

1. ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในเปลือกต้นหว้ารากดำ

1.1 ผลการทดสอบแอลคาลอยด์

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาแอลคาลอยด์ ใช้ปฏิกิริยาของแอลคาลอยด์กับรีเอเจนต์ที่ให้ตะกอนชัดเจน ดังผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตาราง 1

ตาราง 1 ผลการทดสอบเพื่อหาแอลคาลอยด์

รีเอเจนต์	การทดสอบแอลคาลอยด์เบื้องต้น	การทดสอบแอลคาลอยด์เพื่อยืนยันผล
ตราเจนดอร์ฟ	++	+
วากเนอร์	++	+
มาร์ม	-	-

หมายเหตุ +++ หมายถึง ตะกอนมาก
 ++ หมายถึง ตะกอนน้อย
 + หมายถึง สารละลายขุ่น

ผลการทดสอบ แสดงว่ามีแอลคาลอยด์ปริมาณเล็กน้อย

1.2 ผลการทดสอบคาร์ดินอกไกลโคไซด์

การทดสอบคาร์ดินอกไกลโคไซด์โดยวิธีทางเคมีที่ให้ผลนั้น ใช้รีเอเจนต์หรือปฏิกิริยาที่สามารถทดสอบองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 3 ส่วนของคาร์ดินอกไกลโคไซด์ ดังผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตาราง 2

ตาราง 2 ผลการทดสอบเพื่อหาคาร์ดินอกไกลโคไซด์

ปฏิกิริยา	ผลการทดลอง
ก. ทดสอบส่วนที่เป็นแอลกอฮอล์	สารละลายสีเหลืองอ่อน
ข. ทดสอบส่วนที่เป็นน้ำตาลคือออกซิ	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้น และสารละลายชั้นบนเป็นสีเขียวอ่อน
ค. ทดสอบส่วนที่เป็นสเตอรอยด์	สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลแดงเป็น สีเขียว

ผลการทดสอบ ไม่มีคาร์ดินอกไกลโคไซด์ แต่มีส่วนที่เป็นน้ำตาลคือออกซิและสเตอรอยด์

1.3 ผลการทดสอบซาโปนิน

การทดสอบซาโปนินโดยวิธีการทดสอบฟอง และการทดสอบสีด้วยวิธีลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด ดังผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตาราง 3

ตาราง 3 ผลการทดสอบเพื่อหาซาโปนิน

ปฏิกิริยา	ผลการทดลอง
การเกิดฟอง	เกิดฟองเล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้ฟองจะหายไป เมื่อเติมกรดแล้วเขย่า ไม่มีฟองและไม่เกิดตะกอน
ลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด	สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลแดง เป็นสีเขียว

ผลการทดสอบ จากการทดสอบฟองแสดงว่าไม่มีซาโปนิน แต่จากการทดสอบสีด้วยวิธีลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด แสดงว่ามีส่วนที่เป็นสเตอรอยด์

1.4 ผลการทดสอบฟลาโวนอยด์

การทดสอบฟลาโวนอยด์โดยปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของไซยานิดิน และลิวโคแอนโทไซยานิน ดังผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตาราง 4

ตาราง 4 ผลการทดสอบเพื่อหาฟลาโวนอยด์

ปฏิกิริยา	ผลการทดลอง
ไซยานิดิน	ชั้นออกทานอลมีสีส้ม ชั้นน้ำมีสีส้มแดงช้ำ
ลิวโคแอนโทไซยานิน	สารละลายมีสีม่วงแดง

ผลการทดสอบ แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์

1.5 ผลการทดสอบคูมาริน

การทดสอบคูมาริน โดยสังเกตจากการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ให้ผลการทดสอบดังนี้

ผลการทดสอบ ไม่มีการเรืองแสงที่กระดาดกรอง แสดงว่าไม่คูมาริน

2. ผลการสกัดสาร

จากการนำเปลือกต้นพญารากดำแห้งบดละเอียด 8 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเอทเซน คลอโรฟอร์มและเมทานอล ให้สารสีน้ำตาลดำหนัก 19.2 61.5 และ 96.7 กรัมตามลำดับ

3. ผลการแยกและการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักให้บริสุทธิ์

3.1 ผลการแยกสารสกัดเอทเซนและการทำให้บริสุทธิ์

การแยกสารสกัดเอทเซนด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้ผลดังตาราง 5 รวมส่วนที่ได้จากการชะด้วยเอทเซนต่อคลอโรฟอร์ม (50:50) ได้สารหนัก 8.7 กรัม แล้วนำมาตกผลึกในสารละลายผสมระหว่างเอทเซนกับคลอโรฟอร์ม ได้ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 168-170 องศาเซลเซียส หนัก 0.92 กรัม กำหนดให้เป็นสาร ก.

ตาราง 5 ผลการแยกสารสกัดเอกเซนด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลายที่ใช้ชะคอลัมน์		ลักษณะสารที่แยกได้
เอกเซน		ไม่มีสาร
เอกเซน : คลอโรฟอร์ม	90 : 10	คราบสีเหลืองอ่อน
	70 : 30	คราบสีเหลืองอ่อน
	60 : 40	สารเหนียวสีเหลืองอ่อน
	50 : 50	สารเหนียวสีเหลืองอ่อนปนผลึกสีขาว
	40 : 60	สารเหนียวสีน้ำตาลปนน้ำมันและ ผลึกสีขาวเล็กน้อย
	20 : 80	คราบสีน้ำตาล
คลอโรฟอร์ม		คราบสีน้ำตาล
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล	90 : 10	คราบสีน้ำตาล
	80 : 20	คราบสีน้ำตาล
	70 : 30	สารเหนียวสีน้ำตาล
	60 : 40	สารเหนียวสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล
	50 : 50	สารเหนียวสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล
	40 : 60	สารเหนียวสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล
	20 : 80	คราบสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล
เมทานอล		คราบสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล

3.2 ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มและการทำให้บริสุทธิ์

การแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มได้ผลดังตาราง 6 เมื่อรวมลำดับส่วนที่ได้จากการชะด้วยเอกเซนต่อคลอโรฟอร์ม (50:50 และ 40:60) ได้สารหนัก 0.24 กรัม และตกผลึกในสารละลายผสมระหว่างเอกเซนกับคลอโรฟอร์ม ได้ผลึกรูปเข็มสีขาว จุกหลอมเหลว 167-170 องศาเซลเซียส หนัก 0.056 กรัม กำหนดให้เป็นสาร.ข.

ตาราง 6 ผลการแยกสารสกัดคลอโรฟอร์มด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลายที่ใช้ชะคอลัมน์		ลักษณะสารที่แยกได้
เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม	95 : 5	คราบสีเหลืองอ่อน
	90 : 10	คราบสีเหลืองอ่อน
	80 : 20	คราบสีเหลืองอ่อน
	70 : 30	คราบสีเหลืองอ่อน
	60 : 40	คราบสีเหลืองอ่อน
	50 : 50	สารเหนียวสีเหลืองอ่อนปนผลึกสีขาว
	40 : 60	สารเหนียวสีเหลืองเข้มปนผลึกสีขาว
	30 : 70	คราบสีน้ำตาล
	20 : 80	คราบสีน้ำตาล
	10 : 90	คราบสีน้ำตาล
คลอโรฟอร์ม		คราบสีน้ำตาล
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล	95 : 5	คราบสีน้ำตาล
	90 : 10	สารเหนียวสีน้ำตาล
	80 : 20	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม
	70 : 30	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม
	50 : 50	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล
	30 : 70	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล
	10 : 90	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล
เมทานอล		สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล

3.3 ผลการแยกสารสกัดเมทานอลและการทำให้บริสุทธิ์

ผลการแยกสารสกัดเมทานอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้แสดงไว้ใน

ตาราง 7 การชะคอลัมน์ด้วยคลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (85:15) ได้สาร 2 ชนิด

สารชนิดแรกหนัก 1.2 กรัม นำไปตกผลึกในเมทานอลได้ผลึกรูปสี่เหลี่ยมใสไม่มีสี จุดหลอมเหลว 222-224 องศาเซลเซียสหนัก 0.18 กรัม กำหนดให้เป็นสาร ค.

สารชนิดที่สองหนัก 0.35 กรัม นำไปตกผลึกในเมทานอล ได้ผลึกเป็นรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 136-138 องศาเซลเซียสหนัก 0.038 กรัม กำหนดให้เป็นสาร ง.

ตาราง 7 ผลการแยกสารสกัดเมทานอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลายที่ใช้หาคอลัมน์		ลักษณะสารที่แยกได้
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล	95 : 5	คราบสีน้ำตาลอ่อน
	90 : 10	คราบสีน้ำตาลอ่อน
	85 : 15	สารเหนียวสีน้ำตาลปนผลึกสีขาว
	75 : 25	สารเหนียวสีน้ำตาล
	65 : 35	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม
	50 : 50	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้ม
	35 : 65	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล
	20 : 80	สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล
เมทานอล		สารเหนียวสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนสีน้ำตาล

4. การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร

4.1 การวิเคราะห์สาร ก. สาร ก. มีจุดหลอมเหลว 168-170 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม ละลายได้เล็กน้อยในเอทิลแอลกอฮอล์ มีค่า Rf 0.5 (ซิลิกาเจล/เอทิลแอลกอฮอล์ : คลอโรฟอร์ม 3:7).

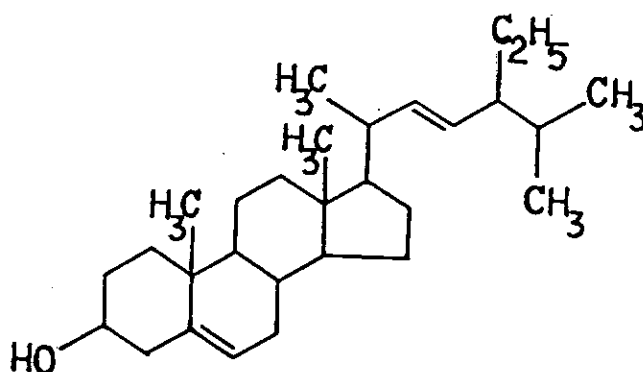
การดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้ค่า $\frac{1}{\text{cm}} \times 10^3$ (cm^{-1}) 3400 (การยืด O-H), 2900-2800 (การยืด C-H ของ $-\text{CH}_2$ และ $-\text{CH}_3$), 1450 (การงอ C-H ของ $-\text{CH}_2$), 1370 (การงอ C-H ของ $-\text{CH}_3$), 1050 (การยืด C-O), 960 (การงอออกซิเจน C-H ของ $=\text{CH}-$) ปรากฏสเปกตรัมตั้งภาพประกอบ 3

^1H NMR สเปกตรัม (300 MHz, CDCl_3) ได้ค่า δ (ppm) 0.6-2.4 (CH_2 , $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$), 3.5 ($-\text{C}-\text{OH}$), 4.95-5.35 ($-\text{HC}=\text{CH}-$) ปรากฏสเปกตรัมตั้งภาพประกอบ 4

แมสสเปกตรัมแสดงค่า m/e และร้อยละความเข้มสัมพัทธ์ได้ 412 (M^+ , 25.0), 369 (13.9), 329 (10.1), 271 (28.2), 255 (35.6) ซึ่งตรงกับสูตร

โมเลกุล $C_{25}H_{42}O$ ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 5

จากสมบัติต่างๆของสาร ก. ได้แก่ จุดหลอมเหลว และข้อมูลทางสเปกตรัม เมื่อเปรียบเทียบกับสเตกมาสเตอรอล ซึ่งมีจุดหลอมเหลว 170 องศาเซลเซียส (Cadogan. 1965:2918) และสเปกตรัมมาตรฐานในภาพประกอบ 6-7 อาจสรุปได้ว่า องค์ประกอบหลักของสาร ก. คือ สเตกมาสเตอรอล ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



สเตกมาสเตอรอล

4.2 การวิเคราะห์สาร ข. สาร ข. มีจุดหลอมเหลว 168-170 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม ละลายได้เล็กน้อยในเอทเธน มีค่า Rf 0.5 (ซิลิกาเจล/เอทเธน:คลอโรฟอร์ม 8:7) และข้อมูลจากสเปกตรัมต่างๆเหมือนสาร ก.

จากการเปรียบเทียบสมบัติต่างๆของสาร ข. กับสาร ก. ได้แก่ จุดหลอมเหลว การละลาย ค่า Rf และข้อมูลจากสเปกตรัมต่างๆ มีลักษณะเหมือนกัน จึงสรุปได้ว่าสาร ข. เป็นสารชนิดเดียวกับสาร ก. คือ สเตกมาสเตอรอล

4.3 การวิเคราะห์สาร ค. สาร ค. มีจุดหลอมเหลว 222-224 องศาเซลเซียส ละลายได้เล็กน้อยในเมทานอล

การดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้ค่า λ_{max}^{IR} (cm^{-1}) 3400-3200 (การยืด O-H), 2920 (การยืด C-H), 1450 (การงอ C-H ของ $-CH_2-$), 1320 (การงอ C-H), 1280 (การยืด C-O), 1180 (การยืด C-O), 1070, 1040 (การยืด C-O-H) ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 8

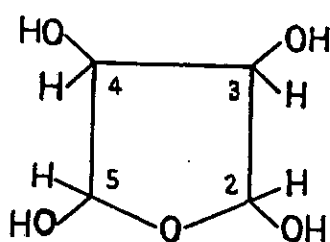
^1H NMR สเปกตรัม (60 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) ได้ค่า δ (ppm) 1.62 (C_5-H), 3.43 (C_2-H), 4.5 (OH) ปรากฏสเปกตรัมดังกล่าวประกอบ 9

เมื่อเติม D_2O ลงในสาร ค. ซึ่งละลายใน $\text{DMSO}-d_6$ พบว่า ^1H NMR สเปกตรัมแสดงค่า 1.66 และ 3.56 ppm และแสดง integration ในอัตราส่วน 1:1 ส่วนค่าเรโซแนนซ์ที่ 4.5 ppm นั้นเป็นหมู่ OH ซึ่งเกิดการแลกเปลี่ยนกับ D_2O ดังนั้นโปรตอนในสาร ค. มีเพียง 2 ชนิดจำนวนเท่ากัน

^{13}C NMR สเปกตรัม (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) ได้ค่า δ (ppm) 35.0 (C_5), 69.8 (C_2) ซึ่งแสดงว่าโมเลกุลของสาร ค. มีคาร์บอนที่ลักษณะต่างกันเพียง 2 ชนิด ปรากฏสเปกตรัมดังกล่าวประกอบ 10

แมสสเปกตรัมแสดงค่า m/e และร้อยละความเข้มสัมพัทธ์ได้ 130 (6.8), 112 (7.6), 86 (35.0), 73 (95.0), 60 (93), 57 (100.0), 43 (49.0) ซึ่งปรากฏสเปกตรัมดังกล่าวประกอบ 11

จากข้อมูลต่างๆนี้ ทำให้สรุปได้ว่าสาร ค. เป็นโมเลกุลที่มีระนาบสมมาตร เนื่องจาก ^{13}C NMR แสดงเรโซแนนซ์ของคาร์บอนเพียง 2 ชนิด นอกจากนี้โปรตอนทั้ง 2 ชนิดที่ต่อกับคาร์บอนอะตอมยังมีอัตราส่วนเท่ากัน การดูดกลืนแสงอินฟราเรดแสดง 3400-3200 cm^{-1} ซึ่งเป็นหมู่ OH ดังนั้นสาร ค. อาจเป็นเทตระไฮโดรนิวราน-2,3,4,5-เททรอล ซึ่งมีโครงสร้างดังนี้



เทตระไฮโดรนิวราน-2,3,4,5-เททรอล

4.4 การวิเคราะห์สาร ง. สาร ง. มีจุดหลอมเหลว 136-138 องศาเซลเซียส ละลายได้เล็กน้อยในเมทานอล

การดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้ค่า λ_{max} (cm^{-1}) 3250 (การยืด O-H), 2775 (การยืด C-H ของ $-\text{CH}_3$), 1780-1660 (การยืด C=O), 1600 (การยืด C=C), 1520 (การงอ C-H), 1430, 1400 (การงอของ C-H), 1270 (การยืด C-O)

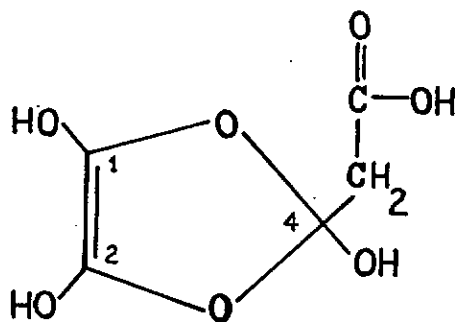
ของ C-O-C), 1170 (การยืดของ C-O), 1050, 1010 (การยืด C-O-H) ปรากฏ
สเปกตรัมดัดภาพประกอบ 12

^1H NMR สเปกตรัม (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) ได้ค่า δ (ppm) 5.25
และ 6.87 ($\text{C}_1\text{-OH}$ และ $\text{C}_2\text{-OH}$), 5.78 ($-\text{CH}_2-$), 8.05 ($\text{C}_4\text{-OH}$), 10.85
($-\text{COOH}$) ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 13

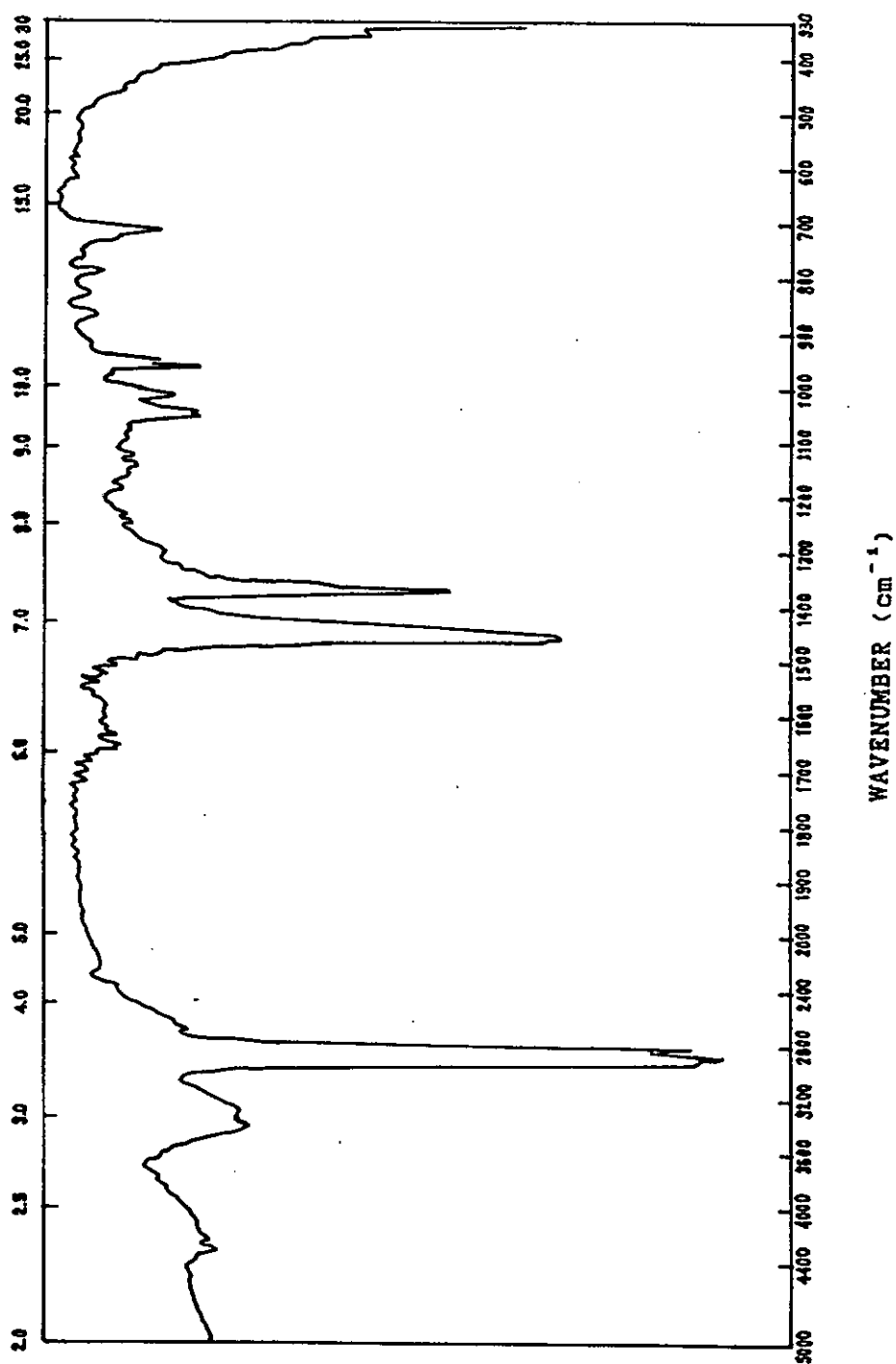
เมื่อเติม D_2O ลงในสาร 4. ซึ่งละลายใน $\text{DMSO}-d_6$ ปรากฏว่า
 ^1H NMR สเปกตรัมแสดงค่า δ 5.22 ppm เพียงค่าเดียว ซึ่งเป็นเรโซแนนซ์ของหมู่ $-\text{CH}_2-$
 ^{13}C NMR สเปกตรัม (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) ได้ค่า δ (ppm) 39.63
($-\text{CH}_2-$), 62.868 ($\text{C}_1\text{-OH}$), 156.74 ($\text{C}_2\text{-OH}$), 157.29 ($\text{C}_4\text{-OH}$), 178.54
($-\text{COOH}$) ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 14

มวลสเปกตรัมแสดงค่า m/e และร้อยละความเข้มสัมพัทธ์ได้ 158 (M^+
($\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$), 3.4), 141 (5.4), -130 (42.5), 87 (42.0), 44 (100.0) ซึ่ง
คาดว่าสูตรโมเลกุลควรเป็น $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_7$ ปรากฏสเปกตรัมดัดภาพประกอบ 15

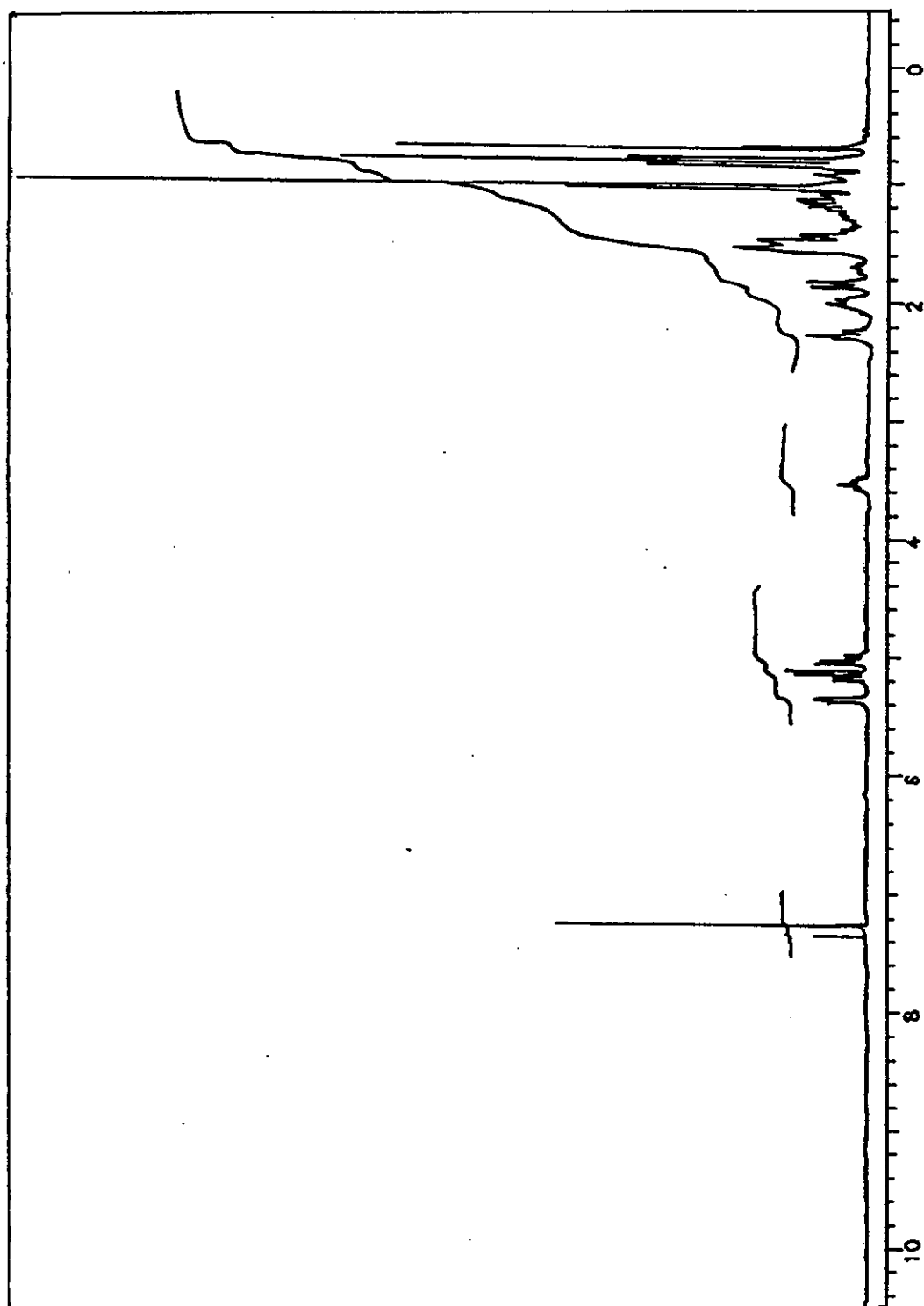
จากสเปกตรัมต่างๆของสาร อาจสรุปได้ว่าสาร 4. คือ 1,2,4-ไตรไฮดรอกซี-
3,5-ไดออกซะไซโคลเพนทีน-4-แอซิดิกแอซิด (1,2,4-trihydroxy-3,5-dioxacyclopentene-4-acetic acid) มีสูตรโครงสร้างดังนี้



1, 2, 4-ไตรไฮดรอกซี-3,5-ไดออกซะไซโคลเพนทีน-4-แอซิดิกแอซิด

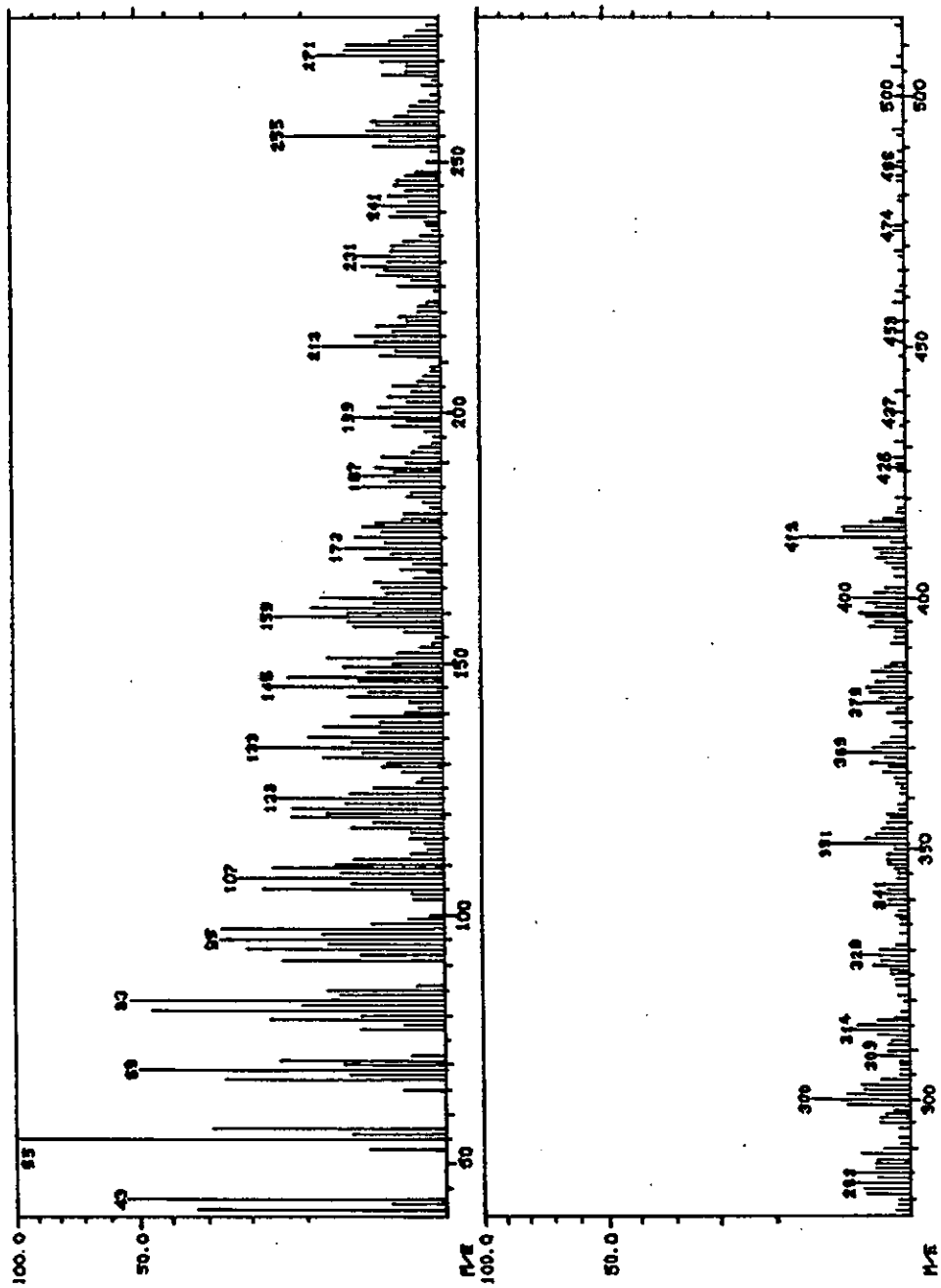


ภาพประกอบ 3 IR สเปกตรัมของสาร ก.

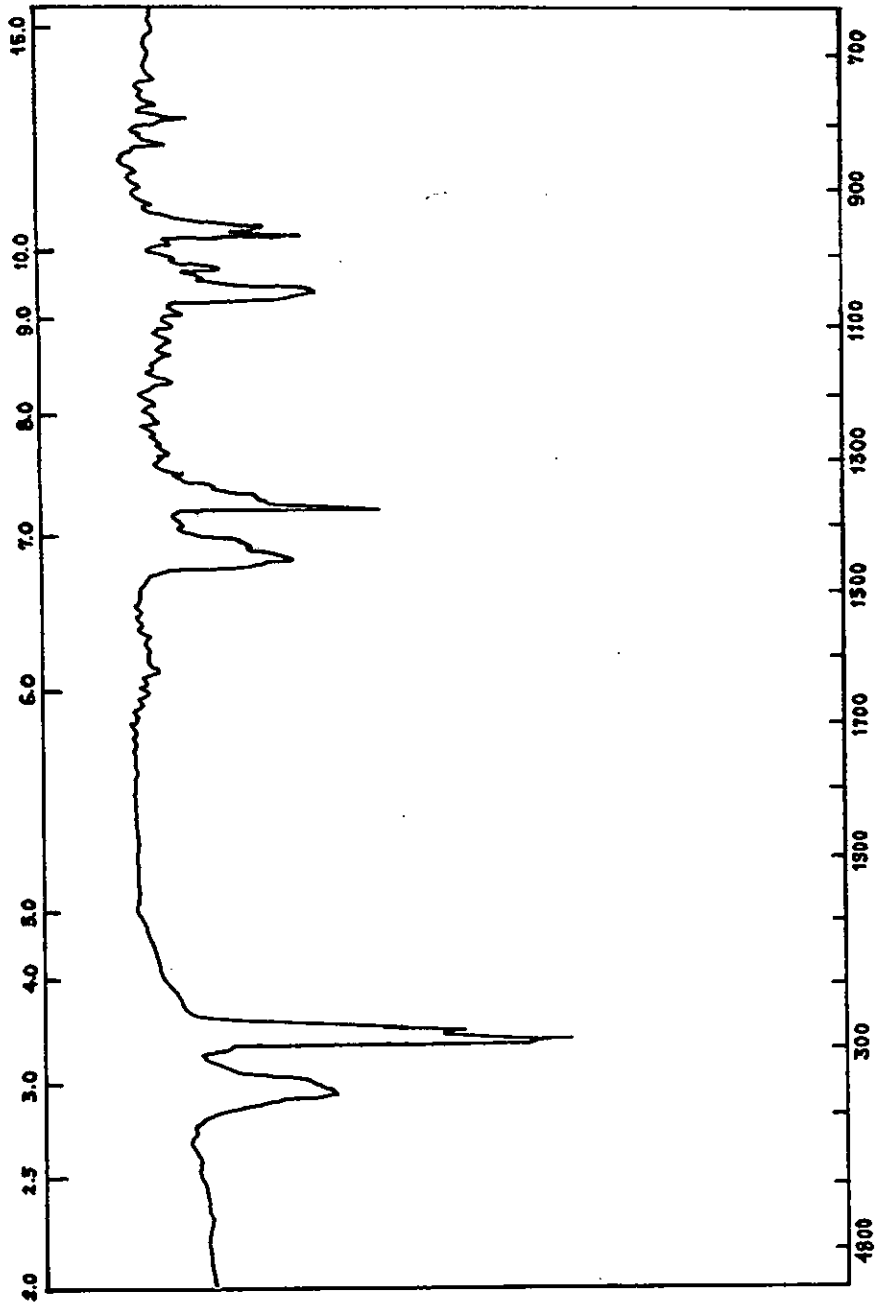


CHEMICAL SHIFT (ppm)

ภาพประกอบ 4 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร ก.

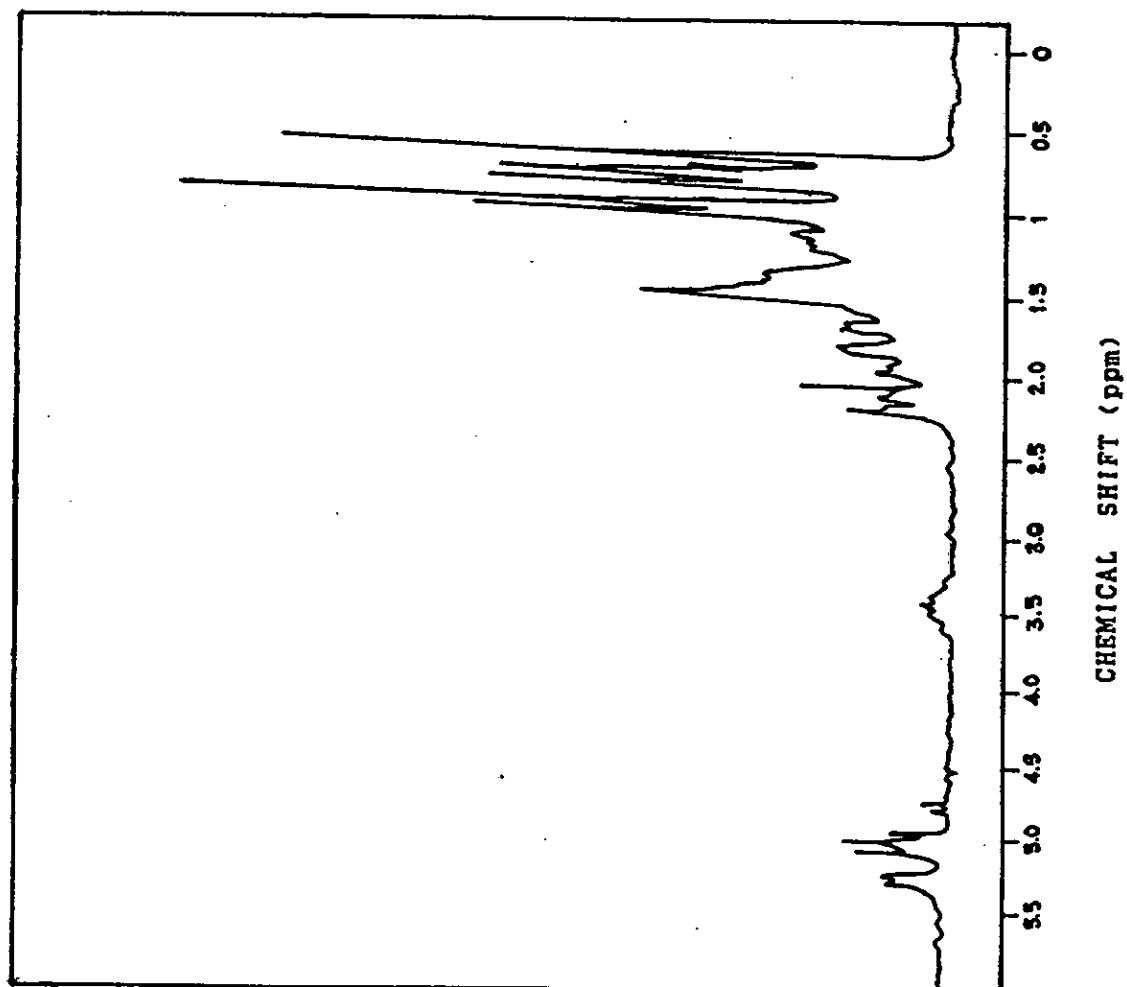


ภาพประกอบ 5 แมสสเปกตรัมของสาร ก.

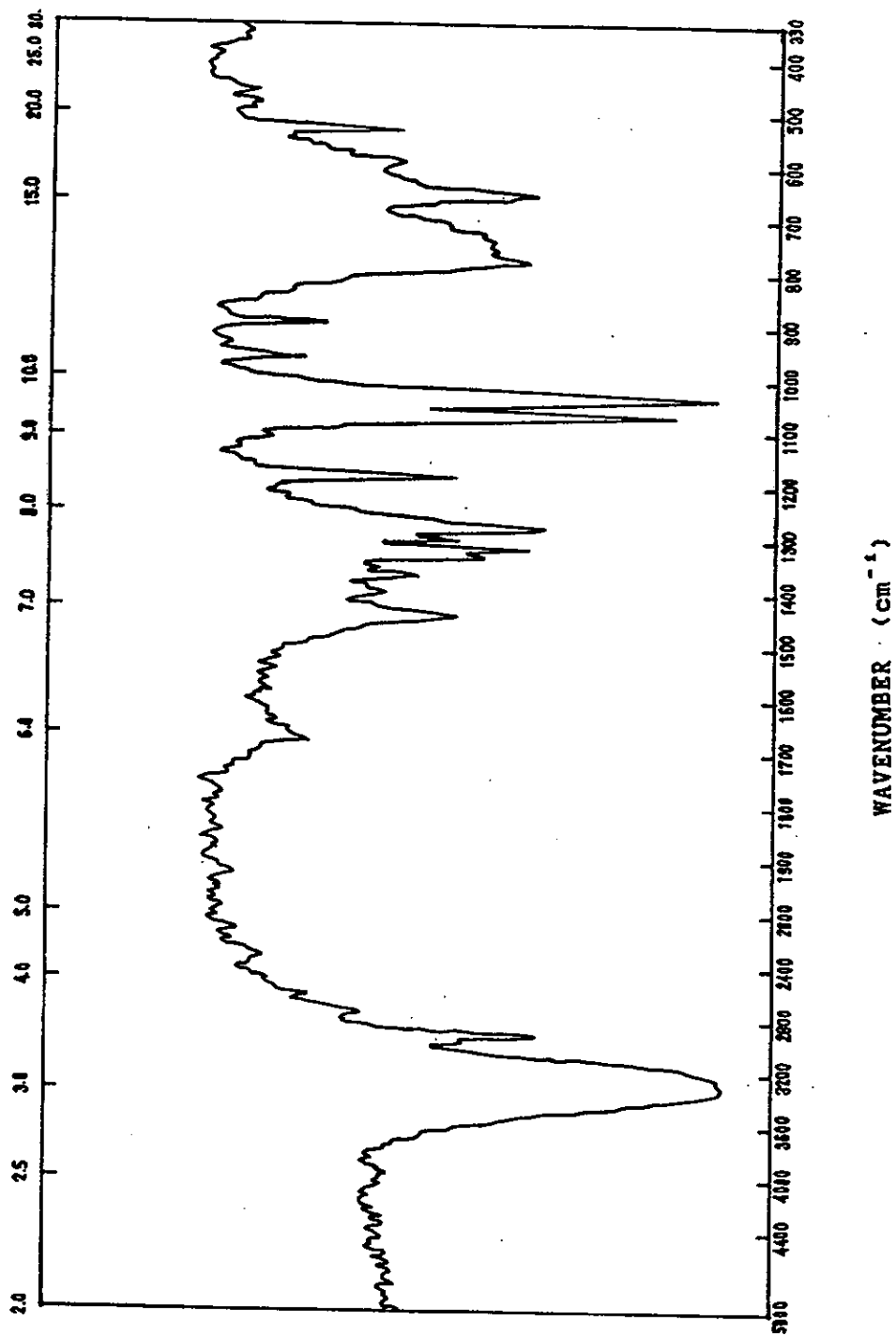


WAVENUMBER (cm⁻¹)

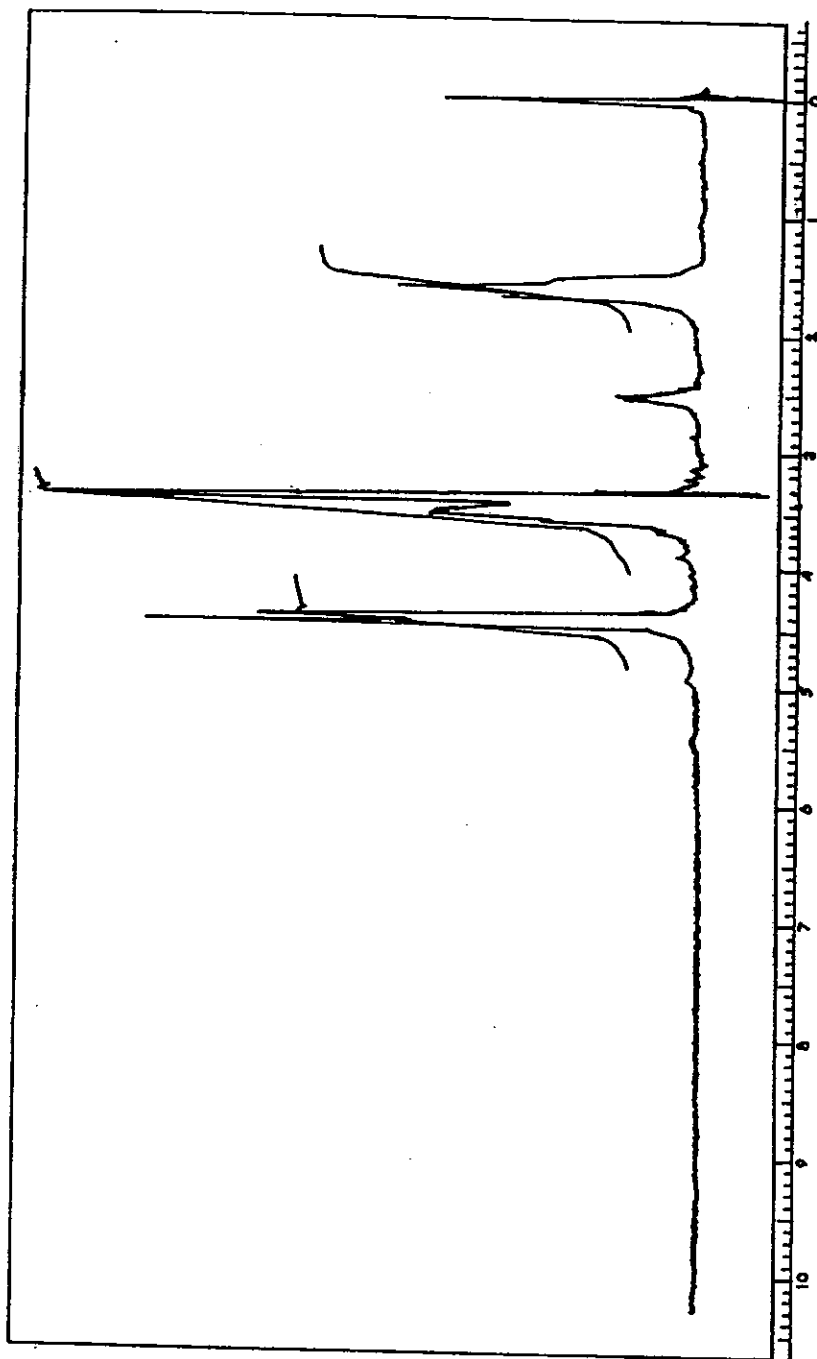
ภาพประกอบ 6 IR สเปกตรัมของสลิกมาสเตอร์



ภาพประกอบ 7 ^1H NMR สเปกตรัมของสลิคมาสเตอรอล

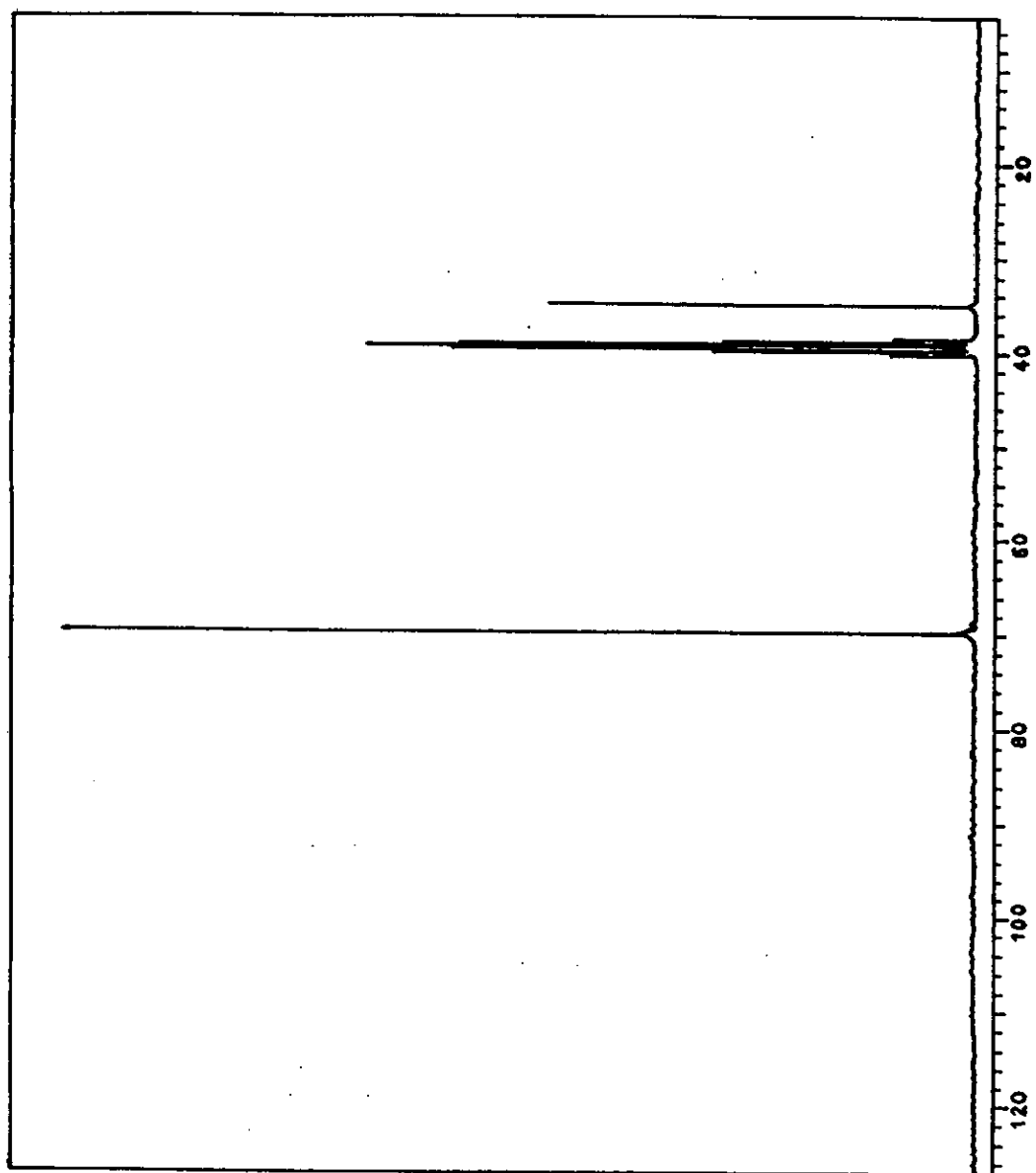


ภาพประกอบ 8 IR สเปกตรัมของสาร ค.



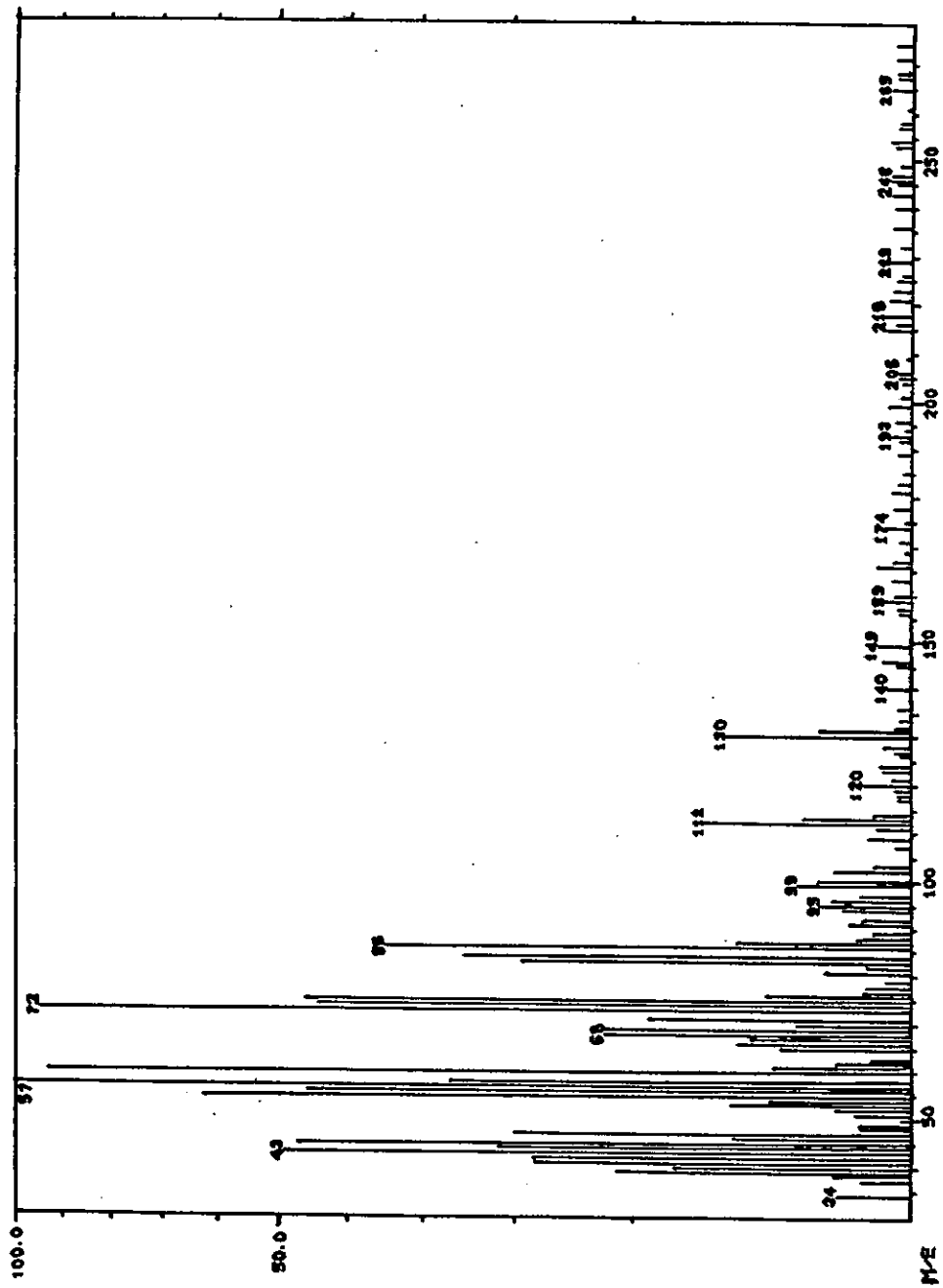
CHEMICAL SHIFT (ppm)

ภาพประกอบ 9 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร ค.

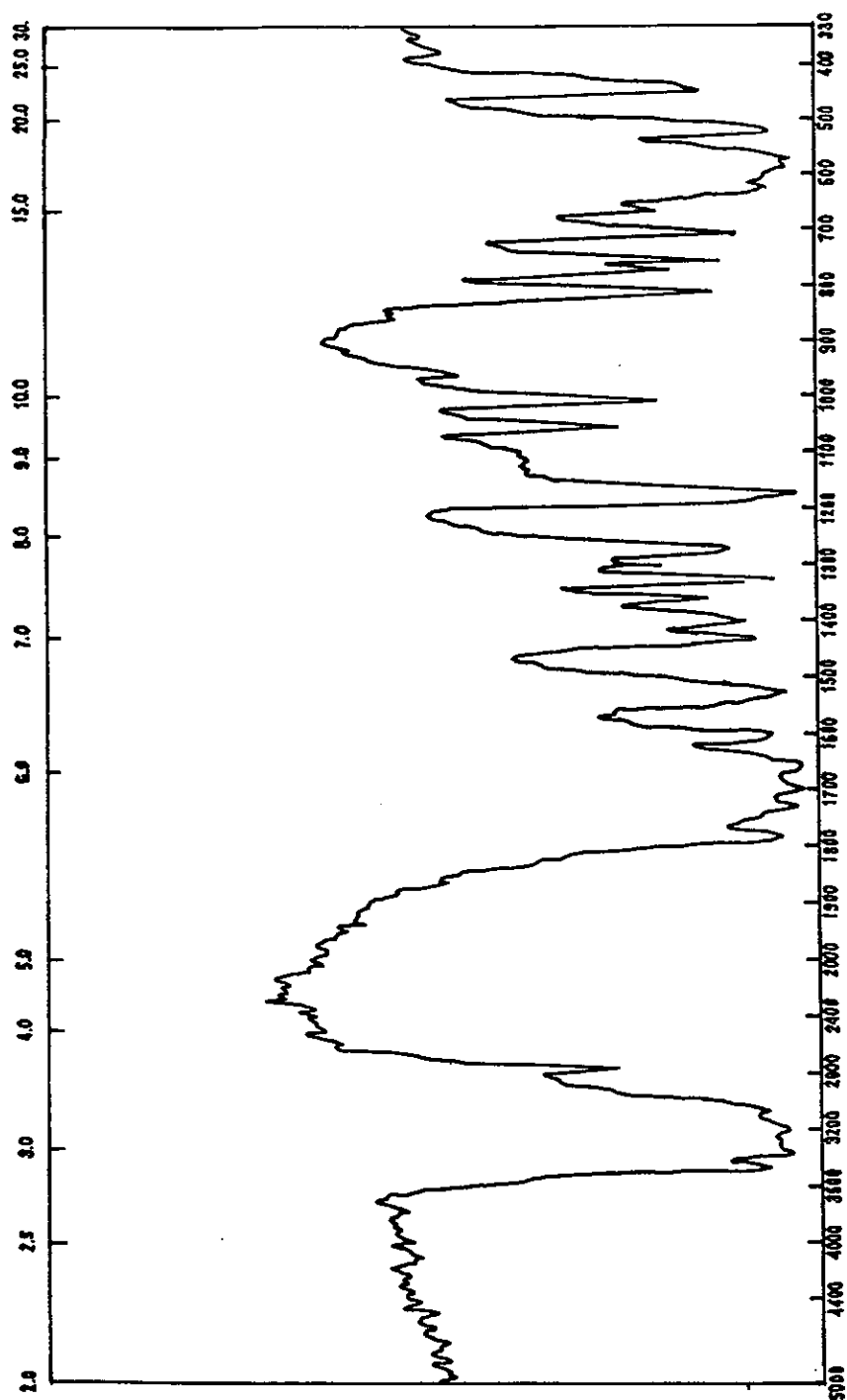


CHEMICAL SHIFT (ppm)

ภาพประกอบ 10 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร ค.

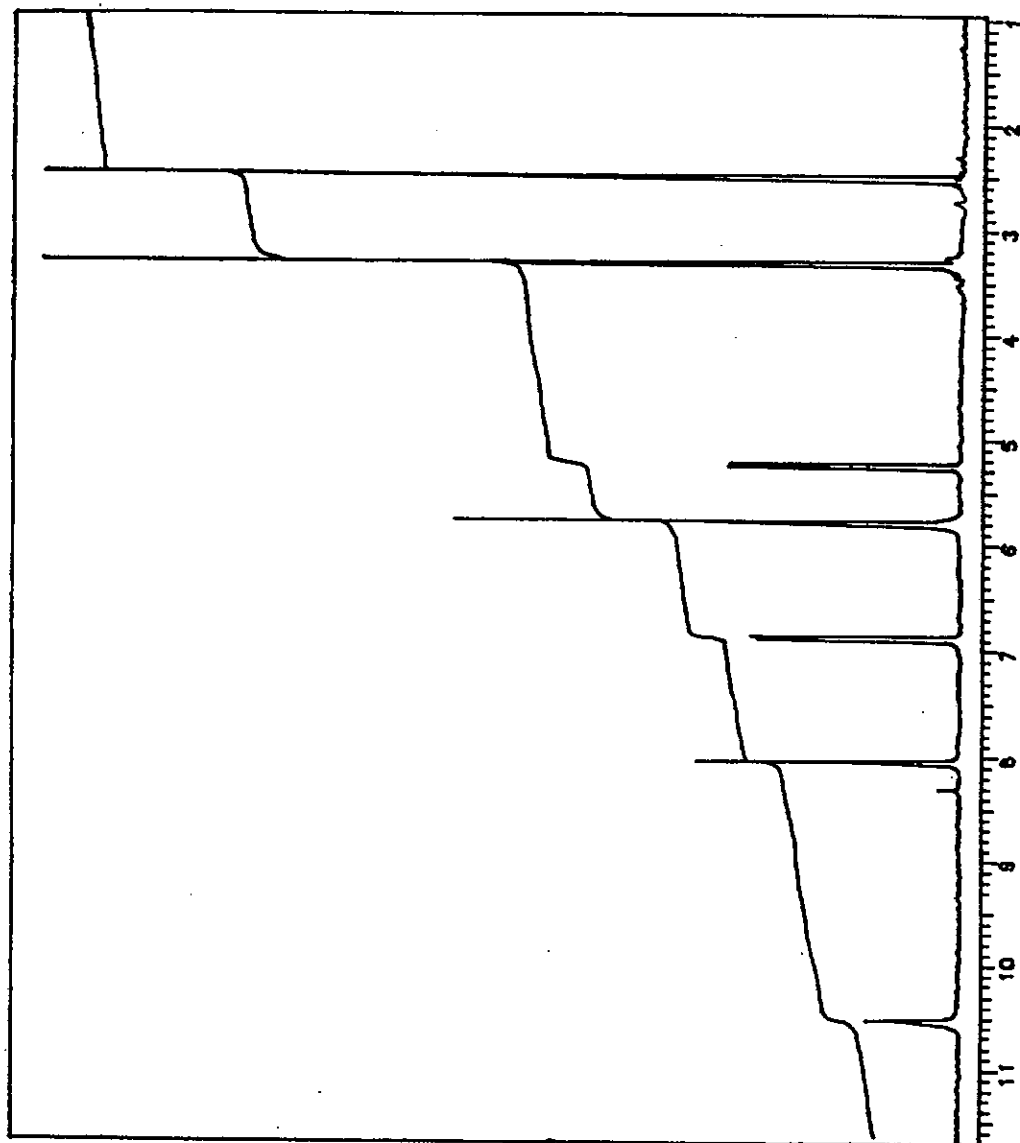


ภาพประกอบ 11 แผนผังปฏิกิริยาของสาร ค.



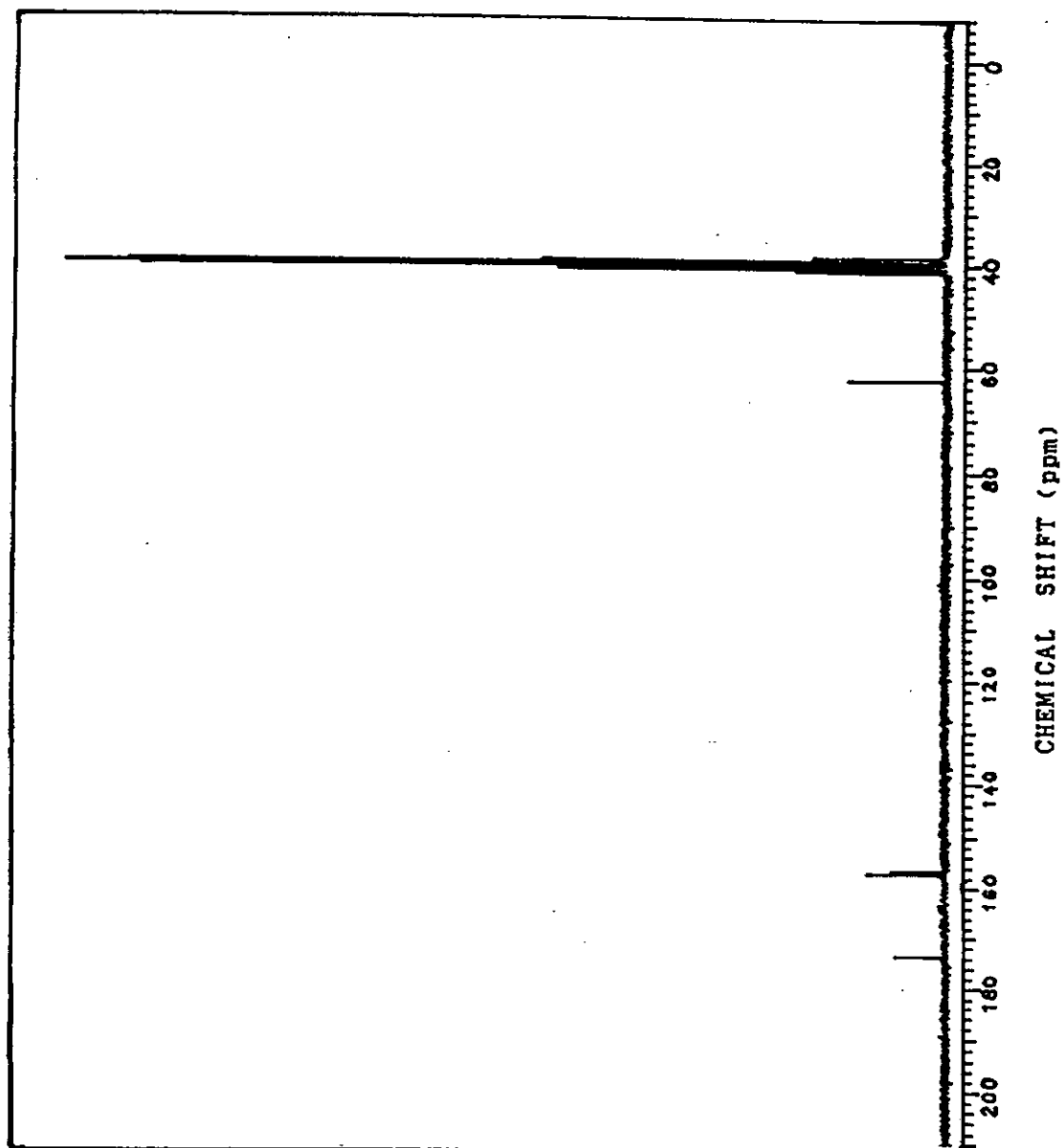
WAVENUMBER (cm⁻¹)

ภาพประกอบ 12 IR สเปกตรัมของสาร ง.

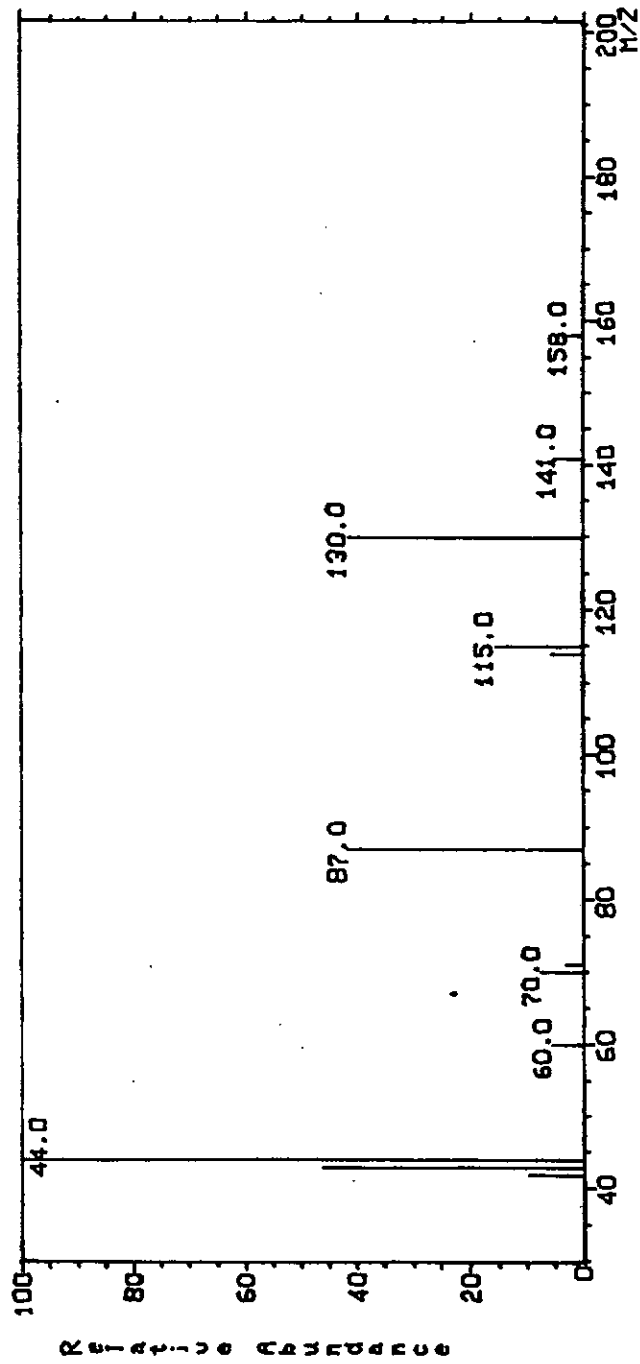


CHEMICAL SHIFT (ppm)

ภาพประกอบ 13 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร 13



ภาพประกอบ 14 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร ง.



ภาพประกอบ 15 แผนผังสเปกตรัมของสาร ง.

สรุปและอภิปรายผล

สรุปผล

การทดสอบประเภทของสารอินทรีย์ทั้ง 5 ประเภท จากเปลือกต้นพุทราภาคพบว่า มีสเตอรอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์อยู่ปริมาณเล็กน้อย แต่ไม่พบคาร์ดิแอก-ไกลโคไซด์ ซาโปนิน และคูมาริน

การแยกสารสกัดเอทเธน และสารสกัดคลอโรฟอร์ม พบว่ามีสารประเภท สเตอรอยด์ คือ สติกมาสเตอรอล จุดหลอมเหลว 168-170 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัด เมทานอล พบสาร 2 ชนิด ซึ่งคาดว่าเป็ น เทตระไฮโดรนิวราน-2,3,4,5-เททรอล มีจุดหลอมเหลว 222-224 องศาเซลเซียส สูตรโมเลกุล $C_{27}H_{46}O_2$ และสารประกอบ คาร์บอกซิลิก คือ 1,2,4-ไตรไฮดรอกซี-3,5-ไดออกซีไซโคลเพนทีน-4-แอซิดิกแอซิด ซึ่งมีสูตรโมเลกุล $C_5H_8O_7$ จุดหลอมเหลว 136-138 องศาเซลเซียส

อภิปรายผล

การแยกสารสกัดเอทเธน สารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอล ไม่พบ สารประเภทฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ อาจเป็นเพราะมีสารประเภทนี้อยู่ปริมาณน้อย มาก จึงไม่สามารถแยกและทำให้บริสุทธิ์ได้ การที่พืชจะสะสมสารไว้มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับ ปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ชนิด และส่วนของพืชที่นำมาศึกษา บริเวณที่พืชเจริญเติบโต และช่วงเวลาที่เก็บแตกต่างกัน

การแยกสารสกัดเอทเธน และสารสกัดคลอโรฟอร์ม พบสติกมาสเตอรอล ซึ่ง เป็นประเภทสเตอรอยด์ ตรงกับผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี และสารสติกมาสเตอรอลนี้ สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตฮอร์โมนได้

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, สำนักงาน. เอกสารการวิจัยปริทัศน์สมุนไพร. กรุงเทพฯ : กองทะเบียนการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, ม.ป.ป.
- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พฤกษศาสตร์จำแนกพวก เล่ม 1. กรุงเทพฯ : แผนกวิชาเภสัช-พฤกษศาสตร์ และแผนกวิชาเภสัชวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ม.ป.ป.
- ชมรมพฤกษเคมี. การลัมนาเชิงปฏิบัติการพฤกษเคมี ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2523.
- เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : พันธุ์พืชมงคล, 2523.
- บุศบรรณ ณ สงขลา. สมุนไพร ตอนที่ 1. กรุงเทพฯ : พันธุ์พืชมงคล, 2525.
- วิทย์ เกียรติบุรณธรรม. พจนานุกรมสมุนไพร. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์, 2531.
- สมบัติ พุ่มสาขา. การศึกษาผลของสมุนไพรต่อหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วยแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ กค.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, 2530. อุดลำนเา.
- สมภพ อินทสุวรรณ. พืชเศรษฐกิจ. พิมพ์ครั้งที่ 3. สงขลา : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สงขลา, 2525.
- เสนาะ บุญมี. อนุกรมวิธานของพืชมีดอก. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาสารคาม : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม, 2523.
- สุภาพ บุณยะรัตเวช และคนอื่น ๆ. "การทดสอบประเภทสารเคมีในพืชสมุนไพรไทย" ในรายงานผลการวิจัยเล่ม 7. หน้า 117-141. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2523.

สุภาลักษณ์ ปรัชญาลิทธิกุล และเชนโค โยชิดา. "การวิเคราะห์ธาตุในสมุนไพรรโดย Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry," วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 4(1) : 31-35; มิถุนายน 2531.

อาจารย์แพทย์แผนโบราณ, คณะ. ไม้เทศเมืองไทย. กรุงเทพฯ : บุญชัยการพิมพ์, 2518.

Cadogan, J.I.G. Dictionary of Organic Compounds. Third. London: Eyre and Spottiswoode (Publishers) Ltd., 1965.

Etse, Joseph T., Alexander I. Gray and Peter G. Waterman. "Chemistry in the Annonaceae, XXIV. Kaurane and Kaur-16-enditerpenes from the stem bark of *Annona reticulata*," Journal of Natural Products, 50(5) : 979-983; September/October, 1987.

Etse, Joseph T., and Peter G. Waterman. "Chemistry in the Annonaceae, XXII. 14-Hydroxy-25-desoxyrollinidin from the stem bark of *Annona reticulata*," Journal of Natural Products, 49(4): 684-686; July/August, 1986.

Hasan, Chouldhury M. and others. "Chemistry in the Annonaceae, XXIII. 24-Methylene-lanosta-7,9 (11)-dien-3-ol from *Artabotrys odoratissimus* stem bark," Journal of Natural Products, 50(4) : 762-763; July/August, 1987.

Hufford, Charles D., and other. "Anticandidal activity of eupolauridine and onychine, alkaloids from *Cleistopholis pantens*," Journal of Natural Products, 50(5):961-964; September/October, 1987.

Lenton, John A., L. John Goad and Trevor W. Goodwin. "Sitosterol Biosynthesis in *Hordeum Vulgare*," Phytochemistry, 14: 1523-1528; January, 1975.

McCasland, G.E. and E. Clyde Horswell. "Cylitols. VII Debromination of Irositol Dibromohydrins. Synthesis of New Cyclohexanetetrols," The Journal of the American Chemical Society, 76(5):2373-2379; May, 1954.

McCasland, G.E., and others. "Synthesis of the Five Diastereomeric 1,2,4,5-Cyclohexanetetrols. Nuclear Magnetic Resonance Configuration Proofs," Journal of Organic Chemistry, 28: 894-900; April, 1963.

- Mohammad, I., P.G. Waterman and D.W. Thomas. "Chemistry in the Annonaceae XVII. Phenylpropenes from *Uvariadendron connivens* seed," Journal of Natural Products, 48(2): 328-329; March / April, 1985.
- Rao, J.U.M. and others. "Sampangine, a new alkaloid from *Cananga odorata*," Journal of Natural Product, 49(2):346-347; March/April, 1986.
- Thompson, Malcolm J. and Samson R. Dutky. "NMR Spectra of C-24 Isomeric Sterols," Phytochemistry, 11:1781-1790; June, 1972.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

การเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทดสอบประเภทของสารอินทรีย์

1. รีเอเจนต์คราเจนคอร์น

นำบิสมีตไนเตรต 8 กรัม ละลายในกรดไนตริก 12 ลูกบาศก์เซนติเมตร
เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 27.2 กรัมในน้ำ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมน้ำจนมีปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. รีเอเจนต์นวกเนอร์

นำโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร
แล้วเติมไอโอดีน 1.27 กรัม คนจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 ลูกบาศก์-
เซนติเมตร

3. รีเอเจนต์มาร์ม

ละลายแคดเมียมไอโอไดด์ 10.0 กรัม ในน้ำกลั่น 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร
แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 20 กรัม ในน้ำ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้
สารละลายมีปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยเติมน้ำกลั่น

4. รีเอเจนต์เคตต์

นำกรด 3,5-ไดไนโตรเบนโซอิก (3,5-dinitrobenzoic acid) 1 กรัม
มาละลายในเมทานอล 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. รีเอเจนต์เคลเลอร์-คิลัน

ทำได้โดยการนำเฟอร์ริกคลอไรด์ 10% โดยน้ำหนัก 0.3 ลูกบาศก์เซนติเมตร
ผสมกับกรดแอสติคบริสติก 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวกรรณิกา	ชื่อสกุล สุขนิษฐ์
เกิดวันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์	พุทธศักราช 2500
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	44 ถนนดำรงรักษ์ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2519	มัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนลิรินธร อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์
พ.ศ. 2523	กศ.บ. (เคมี) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
พ.ศ. 2534	กศ.ม. (เคมี) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

การศึกษาสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดจากเปลือกต้นทุเรียนดำ

บทคัดย่อ
ของ
กรรณิกา สุขนิษฐ์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี
กุมภาพันธ์ 2534

บทคัดย่อ

การศึกษาสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดจากเปลือกต้นทุเรียนการค้า พบสารประกอบ 3 ชนิด คือ สติกมาสเทอร์อล (จุดหลอมเหลว 168-170 องศาเซลเซียส) และสารอีก 2 ชนิด อาจเป็นเทอร์เพนไฮโดรคาร์บอน-2,3,4,5-เทอร์พีนอล (จุดหลอมเหลว 222-224 องศาเซลเซียส) และ 1,2,4-ไตรไฮดรอกซี-3,5-ไดออกซีไซโคลเพนทีน-4-แอซิดไดแกอิด (จุดหลอมเหลว 136-138 องศาเซลเซียส)

A STUDY OF SOME MAJOR CHEMICAL CONSTITUENTS FROM STEM
BARK OF Polyalthia cerasoides (Roxb.) Benth.ex Bedd.

AN ABSTRACT
BY
KANNIKA SUKANIT

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Education degree in Chemistry
at Srinakarinwirot University
February 1991

Abstract

A study of some major chemical constituents from stem bark of Polyalthia cerasoides (Roxb.) Benth.ex Bedd., three compounds were found. There is stigmasterol (m.p. 168-170 °C), other two compounds are tentatively assigned to be tetrahydrofuran-2,3,4,5-tetrol (m.p. 222-224 °C) and 1,2,4-trihydroxy-3,5-dioxacyclopentene-4-acetic acid (m.p. 136-138 °C).