

องค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกรากตะครอง
(*Ziziphus cambodiana* Pierre)

ปริญญาโท
ของ
พนมวรรณ ปานสีทา

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กันยายน 2547
ลิขสิทธิ์เป็นของ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

583.86

W1880

จ 3

องค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกกรากตะครอง
(*Ziziphus cambodiana* Pierre)

บทคัดย่อ

ของ

พนมวรรณ ปานสีทา

31 ม.ค. 2548

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กันยายน 2547

17 2583510

พนมวรรณ ปานสีทา. (2547). องค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกกรากตะครอง (*Ziziphus cambodiana* Pierre). ปริญญาโท กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ, รองศาสตราจารย์ ดร. พินิติ ระตะนานุกุล.

การแยกสารบริสุทธิ์จากเปลือกกรากตะครอง (*Ziziphus cambodiana* Pierre) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rhamnaceae พบสารประกอบ triterpene 6 ชนิด คือ lupeol betulinaldehyde betulinic acid ceanothic acid alphaltolic acid และอนุพันธ์ของ alphaltolic acid คือ 2-O-trans-p-coumaroyl alphaltolic acid นอกจากนี้ยังพบ alphaltol ซึ่งเป็นสารประกอบ phenolic ที่ไม่เคยมีรายงานไว้ในพืชสกุลนี้มาก่อน ในการพิสูจน์โครงสร้างใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีได้แก่ IR UV MS และ NMR และใช้วิธีเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีกับสารที่ทราบโครงสร้างแล้ว

**CHEMICAL CONSTITUENTS FROM THE ROOT BARKS
OF *ZIZIPHUS CAMBODIANA* PIERRE**

AN ABSTRACT
BY
PANOMWAN PANSEETA

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

September 2004

Panomwan Panseeta. (2004). *Chemical constituents from the root barks of Ziziphus cambodiana Pierre*. Master thesis, E.d. (Chemistry). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc. Prof. Dr. Sunit Suksamrarn, Assoc. Prof. Dr. Piniti Ratananukul.

Six triterpenes, lupeol, betulinaldehyde, betulinic acid, ceanothic acid, alphitolic acid and alphitolic acid derivative, 2-*O-trans-p*-coumaroyl alphitolic acid, together with a phenolic compound, alphitol were isolated from the root barks of *Ziziphus cambodiana* Pierre. (Rhamnaceae). Alphitol has not been reported previously from this plant species. The structure of all compounds were elucidated by analysis of their spectroscopic data (IR, UV, MS and NMR) and by comparison with the reported value of the known compounds.

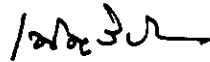
ปริญญาบัตร
เรื่อง

องค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกรกตะครอง
(*Ziziphus cambodiana* Pierre)

ของ

นางสาวพนมวรรณ ปานสีทา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

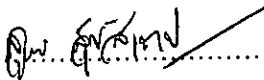


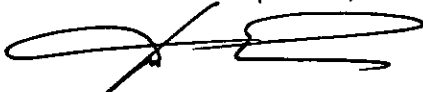
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

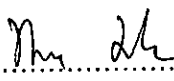
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญสิริ จีระเดชากุล)

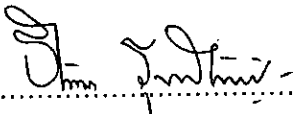
วันที่ 28 เดือน กันยายน พ.ศ. 2547

คณะกรรมการสอบปริญญาบัตร

 ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ)

 กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พินิติ รตะนานุกุล)

 กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย)

 กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธิดิมา รุกขไชยศิริกุล)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์อย่างยิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. พินิติ รัตนานุกูล กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่อง ต่างๆ ในทุกขั้นตอนของการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย และรองศาสตราจารย์ ดร. ธิตติมา รุกขไชยศิริกุล ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ ที่ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ Mr. James F. Maxwell ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการตรวจเอกลักษณ์พืชที่ใช้ในการวิจัย ขอกราบขอบพระคุณคุณนิติรัตน์ ฉิมน้อย แห่งสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการบันทึก mass spectrum และขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. พิทยา ดันติเวชวุฒิกุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ในการบันทึกค่า optical rotation

ขอกราบขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) และทบวงมหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนงานวิจัยให้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมี และภาควิชาทางการศึกษาทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ ความเมตตาแก่ผู้วิจัยในการศึกษาตามหลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิต ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโททุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด และขอขอบคุณคุณสุรียา ใจมา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือทั้งกำลังกาย และกำลังใจแก่ผู้วิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์ใด ๆ อันเกิดจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดา มารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

พนมวรรณ ปานสีทา

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	14
พืชที่ใช้ในการวิจัย.....	14
วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์เครื่องมือ.....	14
การสกัดสารจากเปลือกกรากตะครอง แยกและทำให้บริสุทธิ์.....	15
การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้.....	21
4 ผลการวิจัย.....	23
ผลการสกัดสารจากเปลือกกรากตะครอง.....	23
วิธีการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์.....	23
การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	27
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	29
การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	29
การพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้.....	30
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	64
อภิธานศัพท์.....	69
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	72

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเฮกเซนโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	23
2	ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตโดยคิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	25
3	ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเมทานอลโดยคิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	26
4	สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกรากตะครอง.....	29
5	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ lupeol (23) และ ^1H NMR ของสารประกอบ A.....	31
6	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinic acid (3) และสารประกอบ B และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ B.....	34
7	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ B.....	35
8	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinaldehyde (24) และสารประกอบ C และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ C	38
9	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ C.....	39
10	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ aliphitolic acid (32) และสารประกอบ F และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ F.....	43
11	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ F.....	44
12	ข้อมูล ^1H NMR ของ 2-O-trans-p-coumaroyl aliphitolic acid (40) และ สารประกอบ D และ ^{13}C NMR ข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของ สารประกอบ D.....	48
13	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ D	49
14	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinic acid (3) และสารประกอบ G และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ G.....	52
15	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ ceanothic acid (34) และสารประกอบ G และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ G.....	53
16	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ G.....	54
17	ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ aliphitol และสารประกอบ E และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ E	57
18	ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ E	57

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 สูตรโครงสร้างสารประกอบบางชนิดในเล็บเหยี่ยว.....	5
2 สูตรโครงสร้างสารประกอบบางชนิดในมะควัด.....	7
3 สูตรโครงสร้างสารประกอบบางชนิดในพุทรา.....	9
4 สูตรโครงสร้างสารประกอบบางชนิดในพุทราจีน.....	10
5 สูตรโครงสร้างสารประกอบในพุทราจีน.....	12
6 สูตรโครงสร้างสารประกอบในพุทราจีน.....	13
7 ขั้นตอนการสกัดสารจากเปลือกรากตะครอง.....	16
8 ขั้นตอนการแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเฮกเซน.....	18
9 ขั้นตอนการแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต.....	18
10 ขั้นตอนการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์จากเปลือกรากตะครอง.....	22
11 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ C.....	37
12 สูตรโครงสร้างสารประกอบ 62 divergioic acid.....	41
13 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ F.....	42
14 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ D.....	47
15 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ G.....	51
16 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ E.....	56
17 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (pyridine- d_5 in CDCl_3 , 300 MHz)....	66
18 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ D (pyridine- d_5 in CDCl_3 , 75 MHz)....	67
19 DEPT spectrum ของสารประกอบ D (pyridine- d_5 in CDCl_3 , 75 MHz).....	68

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ตะครอง (Ta khrong) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ziziphus cambodiana* Pierre เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Rhamnaceae (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 564-565) ตะครอง มีชื่อเรียกอื่น ๆ แตกต่างกันไปในแต่ละภาคของประเทศไทยดังนี้ ภาคกลาง เรียกว่า หมากกะทันช้าง ภาคเหนือ เรียกว่า มะต้นดง มะหมากมา หมากมา หนามคอม และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า หนามค้อม หนามตะคอง อังโกรง (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 564-565) ตะครอง มีลักษณะคล้ายกับพืชชนิดอื่น ๆ ในวงศ์พุทราคือ เป็นไม้ยืนต้นแบบไม้พุ่มหรือเลื้อย มีหนามเล็ก ๆ ดอกเป็นดอกเล็ก ๆ มีสีเขียว เกิดระหว่างก้านใบกับกิ่ง ลักษณะเป็นช่อมีแกนใหญ่แกนเดี่ยว ส่วนใหญ่เป็นดอกที่มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน กลีบเลี้ยงของดอกมี 4-5 กลีบ (Bhattacharyya & Johri. 1998 : 326-328)

พืชในวงศ์นี้กระจายอยู่ทั่วโลกประมาณ 900 ชนิด พบมากในบริเวณที่แห้งแล้ง (Gardner, Sidisunthorn & Anusarnsunthorn. 2000 : 130) และมีสมาชิกอยู่ 58 สกุล ลักษณะเป็นไม้พุ่มตั้งตรงหรือเลื้อยปีนป่ายด้วยหนามที่โค้ง พืชในสกุล *Ziziphus* มี 100 ชนิดที่พบกระจายทั่วไปในบริเวณเขตร้อนของอเมริกา แอฟริกา แถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย รวมทั้งยังพบในเขตร้อนของอินเดีย เนปาล ปากีสถาน ภูฏาน บังกลาเทศ และศรีลังกา (Bhattacharyya & Johri. 1998 : 326-328) พืชในสกุล *Ziziphus* ที่พบในประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์. 2544 : 564-565) ได้แก่

1. พุทราใบเหลี่ยม (*Z. angustifolia* (Miq.) Hatus. ex Steenis)
2. กำลิ่งเสือโคร่ง (*Z. attopoensis* Pierre)
3. ชินซี่ (*Z. calophylla* Wall.)
4. ตาฉูแม่ (*Z. incurva* Roxb.)
5. พุทราจีน (*Z. jujuba* Mill.)
6. พุทรา (*Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam.)
7. เล็บเหยี่ยว (*Z. oenoplia* (L.) Mill. var. *oenoplia*)
8. หนามเล็บแมว (*Z. oenoplia* (L.) Mill. var. *brunoniana* Tardieu)
9. มะควัด (*Z. rugosa* Lam.)

พืชในสกุล *Ziziphus* มีหลายชนิดที่ใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน เช่น พุทรา (*Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam.) ใช้ส่วนเปลือกแก้ท้องร่วง อาเจียน ฝี่ในคอ ฝี่เปื่อยพัง แก้ววม ขับพยาธิ ดกโลหิต ใบใช้แก้หวัดคัดจมูก พืชฝี่ ขับพยาธิ แก้ววม ดกโลหิต ท้องเสีย บิด มูกเลือด อาเจียน ส่วนผลใช้แก้ท้องร่วง แก้ไข้ ฟอกเลือด เป็นยาระบาย ขับเสมหะ แก้ไอ (นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542 : 328-329) ในประเทศเกาหลีใช้ผลของพุทราจีน (*Z. jujuba* Mill.) ที่เรียกว่า Dae-chu เป็นยากล่อมประสาท (sedative) ยาบำรุงกำลัง (Han, Park & Wah. 1987 : 3957-3958) รักษาโรคนอนไม่หลับและอาการอ่อนเพลียทางระบบประสาท (Woo, et al. 1980 : 2791-2793) ในทางการแพทย์ของอินเดียใช้มะควัด (*Z. rugosa* Lam.) รักษาโรคท้องร่วง อาการปวดขณะมีประจำเดือน และเชื้อโรคทางพัน (Acharya, et al. 1988 : 200-202) ในตำรายาสมุนไพรพื้นบ้านได้นำส่วนรากและเปลือกต้นของเล็บเหยี่ยว (*Z. oenoplia*) ต้มดื่มขับระดูขาว ขับปัสสาวะ แก้มดลูกพิการ แก้ฝี่ในมดลูก และเบาหวาน ส่วนผลใช้แก้เสมหะ แก้ไอ และทำให้ชุ่มคอ (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540 : 402) ส่วนของหนามใช้แก้ฝี่ประจำวัย (นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543 : 291-292)

จากสรรพคุณที่กล่าวมาของพืชในสกุล *Ziziphus* ประกอบกับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว (ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารที่แยกได้จากรากของเล็บเหยี่ยวมีฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดที่น่าสนใจ จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของต้นตะครองซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกันกับเล็บเหยี่ยว โดยเริ่มจากส่วนเปลือกกราก เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลเบื้องต้นในการหาองค์ประกอบทางเคมีและนำไปสู่การใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์
2. เพื่อศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกกรากตะครอง

ความสำคัญของการวิจัย

1. ศึกษาเทคนิคการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์
2. ทำให้เรียนรู้วิธีการหาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกกราก

ตะครอง

3. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพบางประการของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกกราก

ตะครอง

ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้เปลือกรกตะครอง เก็บจากอำเภอขำนิ จังหวัดบุรีรัมย์ เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2544
2. การสกัดสารจากเปลือกรกตะครองใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแยกชั้น เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ
3. นำส่วนสกัดจากชั้นแยกชั้น เอทิลอะซิเตต และเมทานอล มาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี
4. ศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโคปี ได้แก่ อินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (Infrared spectroscopy) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (Nuclear magnetic resonance spectroscopy) แมสสเปกโทรสโคปี (Mass spectroscopy) และอัลตราไวโอเล็ตสเปกโทรสโคปี (Ultraviolet spectroscopy)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากมีรายงานการวิจัยของพืชในสกุล *Ziziphus* จำนวนมาก ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะ รายงานการวิจัยของพืชในสกุล *Ziziphus* ที่พบในประเทศไทย ดังนี้

เล็บเหยี่ยว (*Z. oenoplia* (L.) Mill.)

เมনারด์ และคณะ (Menard, et al. 1963 : 1801-1811) พบสารประกอบ zizyphin (1) zizyphinine (2) betulinic acid (3) และน้ำตาล D-glucose D-fructose sucrose จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของเปลือกกราก

เทสซี, เคาสส์มานน์ และ เอกคาร์ด์ (Tschesche, Kaussmann & Eckhardt. 1973 : 2577-2580) พบ zizyphine A (1) ซึ่งเป็น 13-membered ring cyclopeptide จากเปลือกต้น

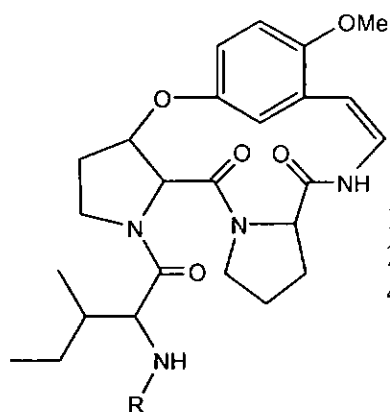
เคสเซล และคณะ (Cassels, et al. 1974 : 2461-2466) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ zizyphine A (1) zizyphine B (2) zizyphine C (4) และแบบ 15-membered ring cyclopeptide 4 ชนิดได้แก่ zizyphine D (5) zizyphine E (6) abyssinine A (7) และ abyssinine B (8) จากเปลือกต้น โครงสร้างของสารประกอบ 5 และ 6 ต่างจากสารประกอบ 7 และ 8 คือมีหมู่ 3-hydroxy isoleucine

เทสซี และคณะ (Tschesche, et al. 1974 : 2941-2944) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ zizyphine F (9) และแบบ 14-membered ring cyclopeptide คือ zizyphine G (10) จากเปลือกต้น

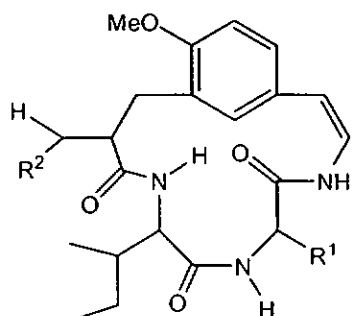
โกการ์ และอะมาด (Khokhar & Ahmad. 1993 : 54-58) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ zizyphin I (11) จากเปลือกต้น

มัวร์ยา และคณะ (Maurya, et al. 1995 : 372) พบสารประกอบ triterpenoid saponin ชนิดใหม่คือ zizyotin (12) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ frangufoline (13) และแบบ 14-membered ring cyclopeptide คือ mauritine D (14) และ amphibine B (15) จากเปลือกต้น

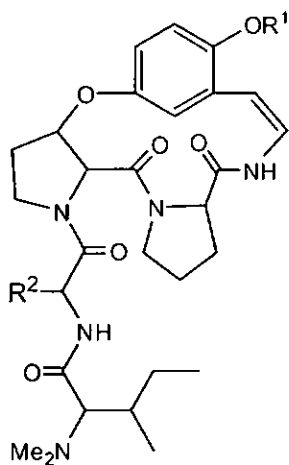
นาฮาร์ และคณะ (Nahar, et al. 1997 : 151-158) พบ betulinic acid (3) จากส่วนสกัดชั้นคลอโรฟอร์มของเปลือกต้น



- 1 Zizyphin or zizyphine A : R = *N,N*-dimethyl-Ileu
 2 Zizyphinine or zizyphine B : R = *N*-methyl-Ileu
 4 Zizyphine C : R = *N,N*-dimethyl-Phe

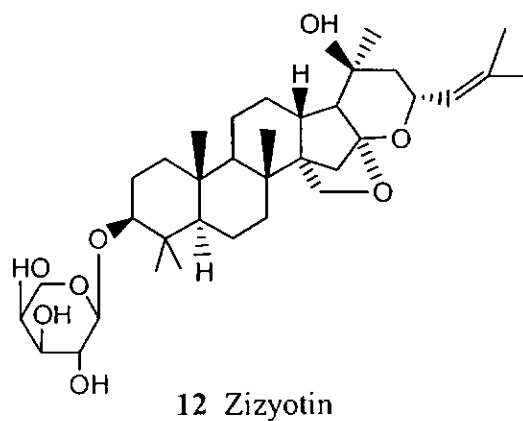
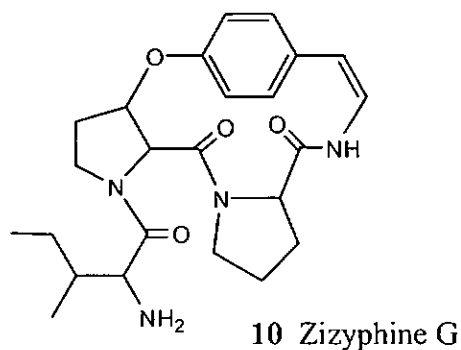


- 5 Zizyphine D : R¹ = 3-OH Ileu, R² = Me
 6 Zizyphine E : R¹ = 3-OH Ileu, R² = H
 7 Abyssinine A : R¹ = *i*-Bu, R² = Me
 8 Abyssinine B : R¹ = *s*-Bu, R² = Me



- 9 Zizyphine F : R¹ = H, R² = CH(Me)Et
 11 Zizyphine I : R¹ = Me, R² = CH₂Ph

leu = leucine
 Ileu = *isoleucine*
i-Bu = *isobuthyl*
s-Bu = *secondarybuthyl*
 Phe = *phenylalanine*



ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในเล็บเหยี่ยว

มะควัด (*Z. rugosa* Lam.)

เทสซี และคณะ (Tschesche, et al. 1981 : 511) พบสารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide คือ amphibine D (16) จากเปลือกต้น

โกชา, มีนา และ แพนดี (Khosa, Meena & Pandey. 1987 : 323) พบสารประกอบ betulinic acid (3) จากเปลือกต้น

แพนดี และคณะ (Pandey, et al. 1988 : 1915-1918) พบ rugosanine A (17) ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่ม 13-membered *N*-formyl cyclopeptide ชนิดใหม่จากส่วนสกัดผสมระหว่างเบนซีน-เมทานอล-แอมโมเนีย (100:1:1) ของเปลือกต้น

ไตรพาที และคณะ (Tripathy, et al. 1988 : 158) พบ betulinic acid (3) vanillic acid (18) และ betulin (19) จากส่วนสกัดชั้นเอทานอลของเปลือกต้น

วาย. ซี. ไตรพาที และคณะ (Y. C. Tripathi, et al. 1989 : 1563-1565) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ rugosanine B (20) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ นอกจากนี้ยังพบ nummularine P (21) และ sativanine H (22) จากส่วนสกัดผสมระหว่างเบนซีน-เมทานอล-แอมโมเนีย (100:1:1) ของเปลือกต้น

นาฮาร์ และคณะ (Nahar, et al. 1997 : 151-158) พบ betulinic acid (3) betulin (19) lupeol (23) และ betulinaldehyde (24) จากส่วนสกัดชั้นคลอโรฟอร์มของเปลือกต้น

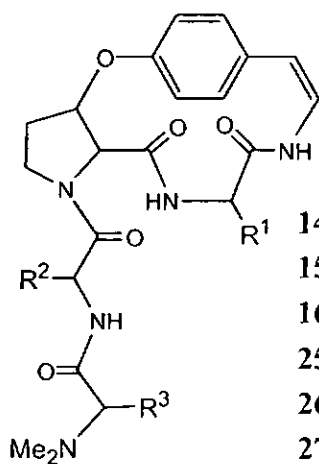
พุดรา (*Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam.)

เทสซี, วิลเฮลม และ เฟลฮาเบอร์ (Tschesche, Wilhelm & Fehlhaber. 1972 : 2609-2612) พบสารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide ได้แก่ frangufoline (13) amphibine D (16) mauritine A (25) และ mauritine B (26) จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของพุดรา

เทสซี และคณะ (Tschesche, et al. 1977 : 1025-1028) พบสารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide คือ mauritine H (27) จากเปลือกต้น

ชัวฮาน และเอส. เค. ศรีवासเทวา (Chauhan & S. K. Srivastava. 1978 : 6) พบ betulin (19) lupeol (23) betulonic acid (28) β -sitosterol (29) และ β -sitosterol acetate (30) จากส่วนต้น

เอส. เค. ศรีवासเทวา และเอส. ดี. ศรีवासเทวา (S. K. Srivastava & S. D. Srivastava. 1979 : 1758-1759) พบสารประกอบชนิดใหม่คือ zizogenin (31) จากส่วนสกัดชั้นเอทานอลของต้น



14 Mauritine D : $R^1 = R^3 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$

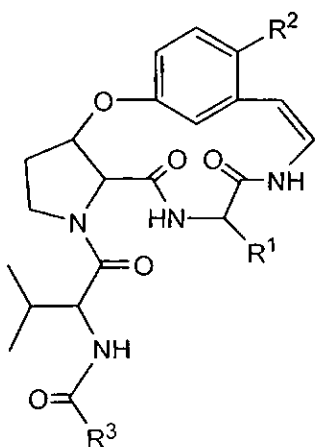
15 Amphibine B : $R^1 = R^3 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$

16 Amphibine D : $R^1 = R^2 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$, $R^3 = \text{CH}_2\text{Ph}$

25 Mauritine A : $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = i\text{-Pr}$, $R^3 = \text{Me}$

26 Mauritine B : $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = i\text{-Pr}$, $R^3 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$

27 Mauritine H : $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^3 = \text{Me}$

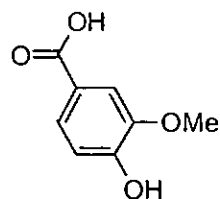
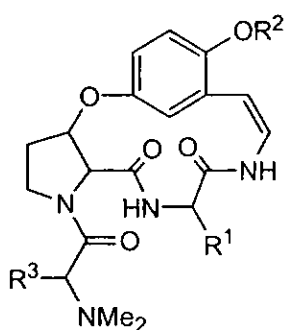


17 Rugosanine A : $R^1 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^2 = \text{OMe}$, $R^3 = \text{CH}(\text{Me})\text{N}(\text{Me})\text{CHO}$

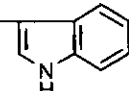
21 Nummularine P : $R^1 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^2 = \text{OMe}$, $R^3 = \text{CH}(\text{Me})\text{NHMe}$

22 Sativanine H : $R^1 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^2 = \text{OMe}$, $R^3 = \text{CH}_2\text{NMe}_2$

51 Jubanine D : $R^1 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CH}_2\text{Ph}$



18 Vanillic acid

20 Rugosanine B : $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$, $R^3 = \text{CH}_2$ 

47 Daechucyclopeptide-I : $R^1 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$, $R^2 = \text{Me}$, $R^3 = \text{CH}_2\text{Ph}$

ภาพประกอบ 2 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในมะควัด

ชาร์มา และกุมาร์ (Sharma & Kumar. 1982 : 809-810) พบ *n*-octacosanol และ alphitolic acid (32) จากส่วนสกัดชั้นเอทานอลของใบ

कुन्दु และคณะ (Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) พบ betulinic acid (3) lupeol (23) และสารประกอบ pentacyclic triterpenoid ชนิดใหม่คือ zizyberanolic acid (33) ซึ่งมีชื่อทางเคมีว่า 3 α -hydroxy-2 β -aldehydo-A(1)-norlup-20(29)-en-28-oic acid จากส่วนเปลือกต้นที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ร้อน นอกจากนี้ยังพบ ceanothic acid (34) ในส่วนของรากที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต

จอสแซง, ซาไฮ และ ไดกิติ (Jossang, Zahir & Diakite. 1996 : 565-567) พบ สารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide คือ mauritine J (35) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ และ amphibine E (36) จากส่วนสกัดชั้นเมทิลีนคลอไรด์ของเปลือกกราก

เพซซุโต, ดาสกุปตา และ คิม (Pezzuto, Dasgupta & Kim. 1998) สังเคราะห์อนุพันธ์ของ betulinic acid จาก betulinic acid (3) ของเปลือกต้น โดยทำการปรับเปลี่ยนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และพบว่าอนุพันธ์ของ betulinic acid เหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก

พุทราจีน (*Z. jujuba* Mill.)

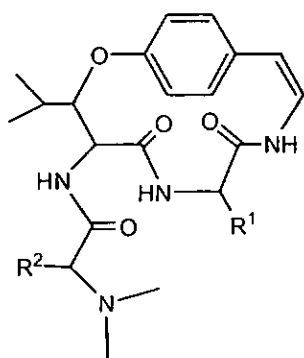
โอทซูกะ, โอกิฮารา และ ชิบาตะ (Otsuka, Ogihara & Shibata. 1974 : 2016) พบ frangulanine (37) และ adouetine X (38) จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของเปลือกกราก

เมซีลแมน, ฮาลเพิร์น และ ดาเตโอ (Meiselman, Halpern & Dateo. 1976 : 313-317) พบว่าสารประกอบ saponin ในส่วนที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดชั้นเอทานอลของใบมีฤทธิ์ลดความหวานของสารละลายน้ำตาลซูโครส

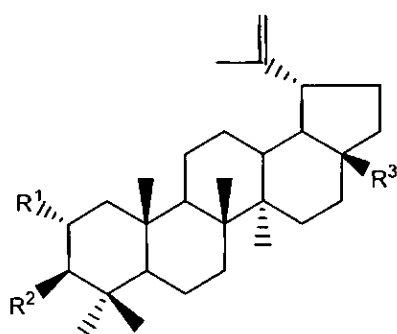
ซง และฮานาบุสะ (Cyong & Hanabusa. 1980 : 2747-2748) พบว่าส่วนสกัดชั้นน้ำของผลมีปริมาณ cyclic adenosine monophosphate (cAMP) มาก ซึ่ง cAMP มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับโรคมะเร็งและการหลั่งฮอร์โมนต่าง ๆ

ยากิ และคณะ (Yagi, et al. 1978 : 1798-1802 ; 3075-3079) พบ betulinic acid (3) betulonic acid (28) alphitolic acid (32) และสารอนุพันธ์ของ alphitolic acid คือ 3-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl alphitolic acid (39) 2-*O*- *trans*-*p*-coumaroyl alphitolic acid (40) และ 3-*O*-*cis*-*p*-coumaroyl alphitolic acid (41) นอกจากนี้ยังพบ oleanonic acid (42) maslinic acid (43) 3-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl maslinic acid (44) และ 3-*O*-*cis*-*p*-coumaroyl maslinic acid (45) จากส่วนสกัดชั้นเอทานอลของผล

ฟูคูกยามา และคณะ (Fukuyama, et al. 1986 : 501-502) พบสารประกอบชนิดใหม่คือ neolignan (46) จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของใบ

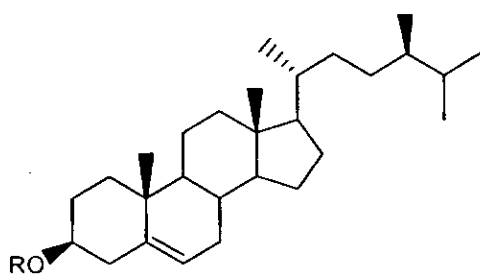


- 13 Frangufoline : $R^1 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^2 = \text{CH}_2$
 37 Frangulanine : $R^1 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$, $R^2 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$
 38 Adouetine X : $R^1 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CHMe}_2$
 59 Scutianine C : $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$, $R^2 = \text{CH}(\text{Me})\text{Et}$

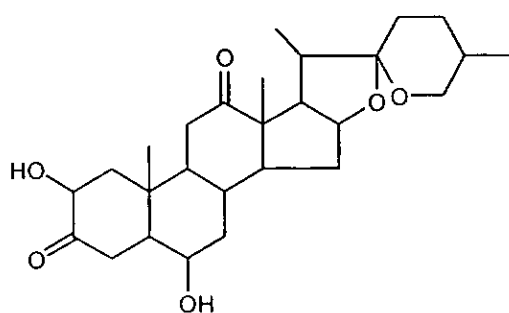


- 3 Betulinic acid : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$
 19 Betulin : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CH}_2\text{OH}$
 23 Lupeol : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CH}_3$
 24 Betulinaldehyde : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CHO}$
 28 Betulonic acid : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{O}$, $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$
 32 Alphitolic acid : $R^1 = R^2 = \text{OH}$, $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$

- 39 3-*O-trans-p*-Coumaroyl alphitolic acid : $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = -\text{O}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$,
 $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$
 40 2-*O-trans-p*-Coumaroyl alphitolic acid : $R^1 = -\text{O}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$, $R^2 = \text{OH}$,
 $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$
 41 3-*O-cis-p*-Coumaroyl alphitolic acid : $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = -\text{O}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$,
 $R^3 = \text{CO}_2\text{H}$

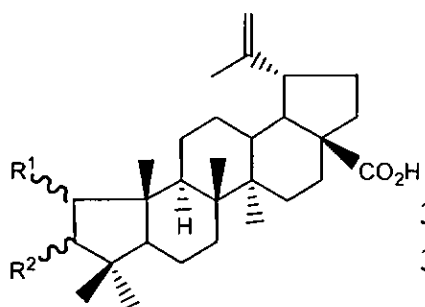


- 29 β -Sitosterol : $R = \text{H}$
 30 β -Sitosterol acetate : $R = \text{Ac}$



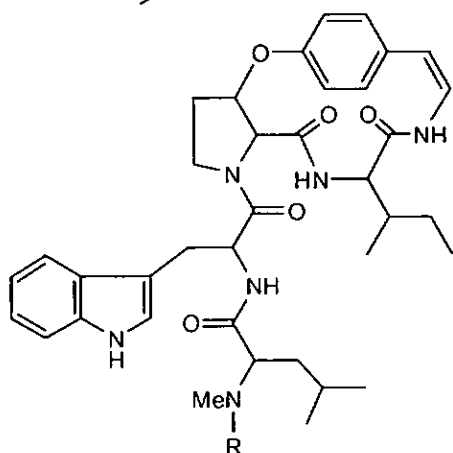
31 Zizogenin

ภาพประกอบ 3 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในพุทรา



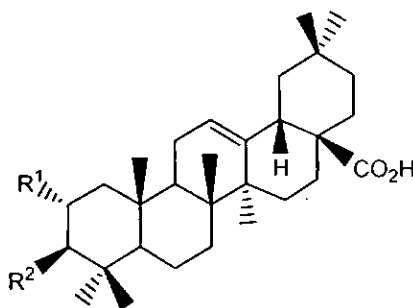
33 Zizyberanolic acid : $R^1 = \beta\text{-CHO}$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$

34 Ceanothic acid : $R^1 = \alpha\text{-CO}_2\text{H}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$



35 Mauritine J : $R = \text{H}$

36 Amphibine E : $R = \text{Me}$

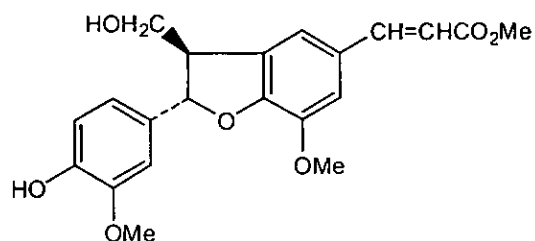


42 Oleanonic acid : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{O}$

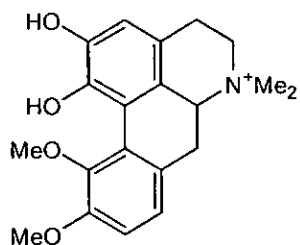
43 Maslinic acid : $R^1 = R^2 = \text{OH}$

44 3-*O-trans-p*-Coumaroyl maslinic acid : $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{-O}_2\text{C-CH=CH-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$

45 3-*O-cis-p*-Coumaroyl maslinic acid : $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{-O}_2\text{C-CH=CH-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$



46 Neolignan



48 Zizyphusine

ภาพประกอบ 4 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในพุทราจีน

เดวี และคณะ (Devi, et al. 1987 : 3374-3375) พบสารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide คือ frangufoline (13) จากส่วนสกัดของเปลือกต้น

ฮาน และปาร์ค (Han & Park. 1987 : 208-211) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ daechucyclopeptide-I (47) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ และ zizyphusine (48) จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของผล นอกจากนี้ ฮาน, ปาร์ค และ วา (Han, Park & Wah. 1987 : 3957-3958) ยังพบ pyrrolidine alkaloid ชนิดใหม่คือ daechualkaloid A (49)

โกล์โคฟ, โคซลอบสกี และ พูชิน (Klochkov, Kozlovskii & Pushin. 1989 : 416-419) พบว่า α -bisabolene และ β -bisabolene (50) จากต้นพุทราจีนเป็นสารดึงดูด (trail attractant) ของปลวก (*Reticulotermes lucifugus*)

โกการ์, อะมาต และ คาสมีรี (Khokhar, Ahmad & Kashmiri. 1994 : 159-163) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ jubanine D (51) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ จากส่วนสกัดชั้นเมทานอล

ลี, ลิน และ เซน (Lee, Lin & Chen. 1995 : 511-519) พบสารประกอบ triterpenoid จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของรากได้แก่ betulinic acid (3) betulin (19) ceanothic acid (34) ursolic acid (52) 2α -hydroxyursolic acid (53) และสารผสมระหว่าง β -sitosterol 3-O- β -glucoside และ stigmasterol 3-O- β -glucoside ต่อมา ลี, ลิน และ หลิว (Lee, Lin & Liu. 1996 : 847-851) พบสารประกอบ triterpene ester ชนิดใหม่ 3 ชนิดคือ 2-O-protocatechuoyl aliphitic acid (54) 2α -hydroxypyraacrenic acid (55) จากส่วนสกัดชั้นคลอโรฟอร์มของราก และ 3-O-protocatechuoyl ceanothic acid (56) จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของราก

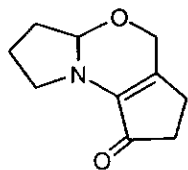
ชุย และลี (Sheu & Lee. 1996 : 257-261) พบว่าสารประกอบ sanjoinine A หรือ frangufoline (13) จากเมล็ดพุทราจีนมีฤทธิ์กล่อมประสาทอ่อน ๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคนอนไม่หลับ

มอนดอล และคูนดู (Mondal & Kundu. 1998 : 384-385) พบสารประกอบ triterpenoid ชนิดใหม่คือ α -norlupa-2,20-diene-14,17-dicarboxylic acid (57) จากใบ

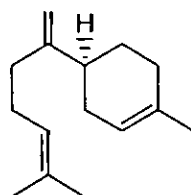
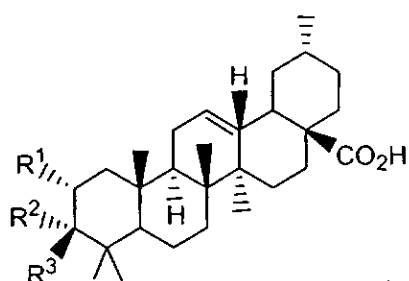
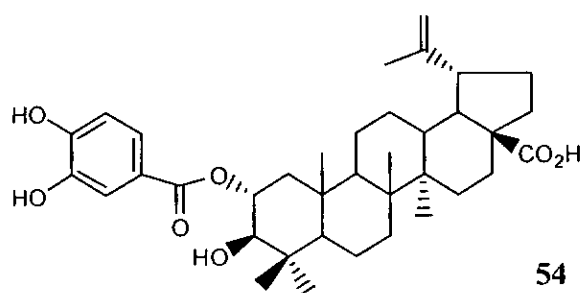
เป่ง และคณะ (Peng, et al. 2000 : 435-441) พบว่าส่วนสกัดชั้นเมทานอลของเมล็ดมีผลลดความเครียด (anxiolytic) และมีฤทธิ์กล่อมประสาท (sedative) ในหนูทดลอง (mice)

เอ็ม. ไตรพาที และคณะ (M. Tripathi, et al. 2001 : 507-510) พบสารประกอบ 14-membered ring cyclopeptide คือ jubanine C (58) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ และยังพบ scutianine C (59) และ zizyphine A (1) จากเปลือกต้น

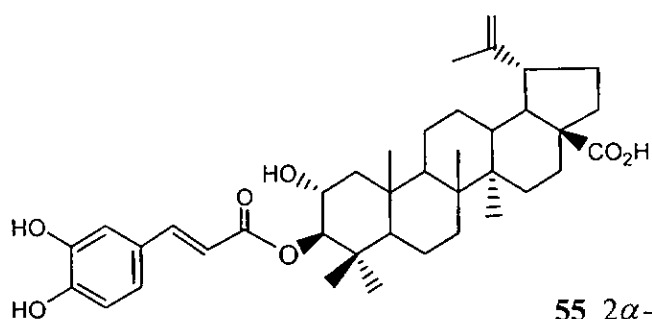
ฮวง และคณะ (Huang, et al. 2001 : 179-184) พบ betulonic acid (28) oleanonic acid (42) zizyberenalic acid (60) และ ursolonic acid (61) จากผล



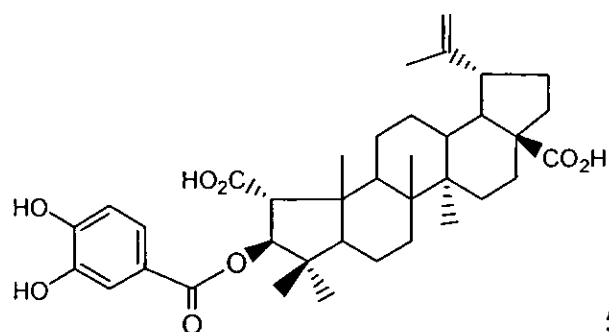
49 Daechualkaloid A

50 β -Bisabolene52 Ursolic acid : $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = OH$ 53 2α -Hydroxyursolic acid : $R^1 = \alpha-OH, R^2 = H, R^3 = OH$ 61 Ursolonic acid : $R^1 = H, R^2, R^3 = O$ 

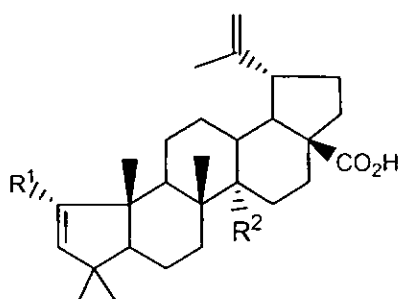
54 2-O-Protocatechuoylalphitolic acid

55 2α -Hydroxypyracrenic acid

ภาพประกอบ 5 สูตรโครงสร้างของสารประกอบในพุทราจีน

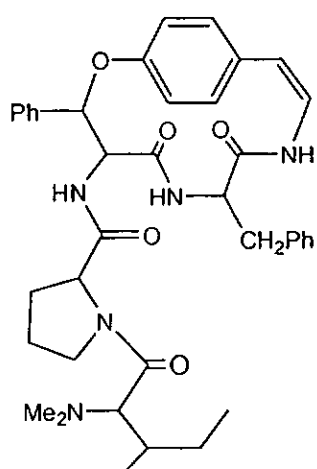


56 3-O-protocatechuoylceanothic acid



57 A-norlupa-2,20-diene-14,17-dicarboxylic acid : $R^1 = H$, $R^2 = CO_2H$

60 Zizyberenalic acid : $R^1 = CHO$, $R^2 = Me$



58 Jubanine C

ภาพประกอบ 6 สูตรโครงสร้างของสารประกอบในพุดราจีน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในการวิจัย

ใช้เปลือกรากตะครองเก็บจากอำเภอลำสนธิ จังหวัดบุรีรัมย์ เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2544 และได้รับการตรวจเอกลักษณ์โดย Mr. James F. Maxwell ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อุปกรณ์/เครื่องมือ และสารเคมี

วัสดุและสารเคมี

1. เปลือกรากตะครอง
2. ตัวทำละลายอินทรีย์ (ทำให้บริสุทธิ์โดยการกลั่น)
3. ซิลิกาเจลสำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี
 - ซิลิกาเจล (< 0.063 mm, Merck 1.07729)
 - ซิลิกาเจล (0.063-0.200 mm, Merck 1.07734)
4. ซิลิกาเจลสำหรับโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
 - ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄ (Merck 1.07730)
5. sephadex LH-20
6. developing reagent (ภาคผนวก)
7. pre-coated TLC aluminium sheets of silica gel 60GF₂₅₄ (Merck 1.05554)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. หลอดกำเนิดแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 254 และ 356 นาโนเมตร (Spectrolin® Model CM-10)
2. เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Griffin)
3. อินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Perkin Elmer FT-IR spectrum BX)
4. เครื่องระเหยสารภายใต้ความดัน (Buchi B-580)
5. แมสสเปกโทรมิเตอร์ (Finnigan MAT 90)
6. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์ (Bruker Avance 300)

7. โพลาริมิเตอร์ (Jasco DIP-370)
8. เครื่องระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดัน (Buchi Rotavapor R-114)
9. ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu UV-2401PC)

การสกัดสารจากเปลือกกรากตะครอง แยกและทำสารให้บริสุทธิ์

1. การสกัดสารจากเปลือกกรากตะครอง

ใช้วิธีการสกัดสารจากเปลือกกรากตะครองที่แห้งและบดละเอียด โดยแช่ในเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลตามลำดับ

1.1 การสกัดด้วยเฮกเซน

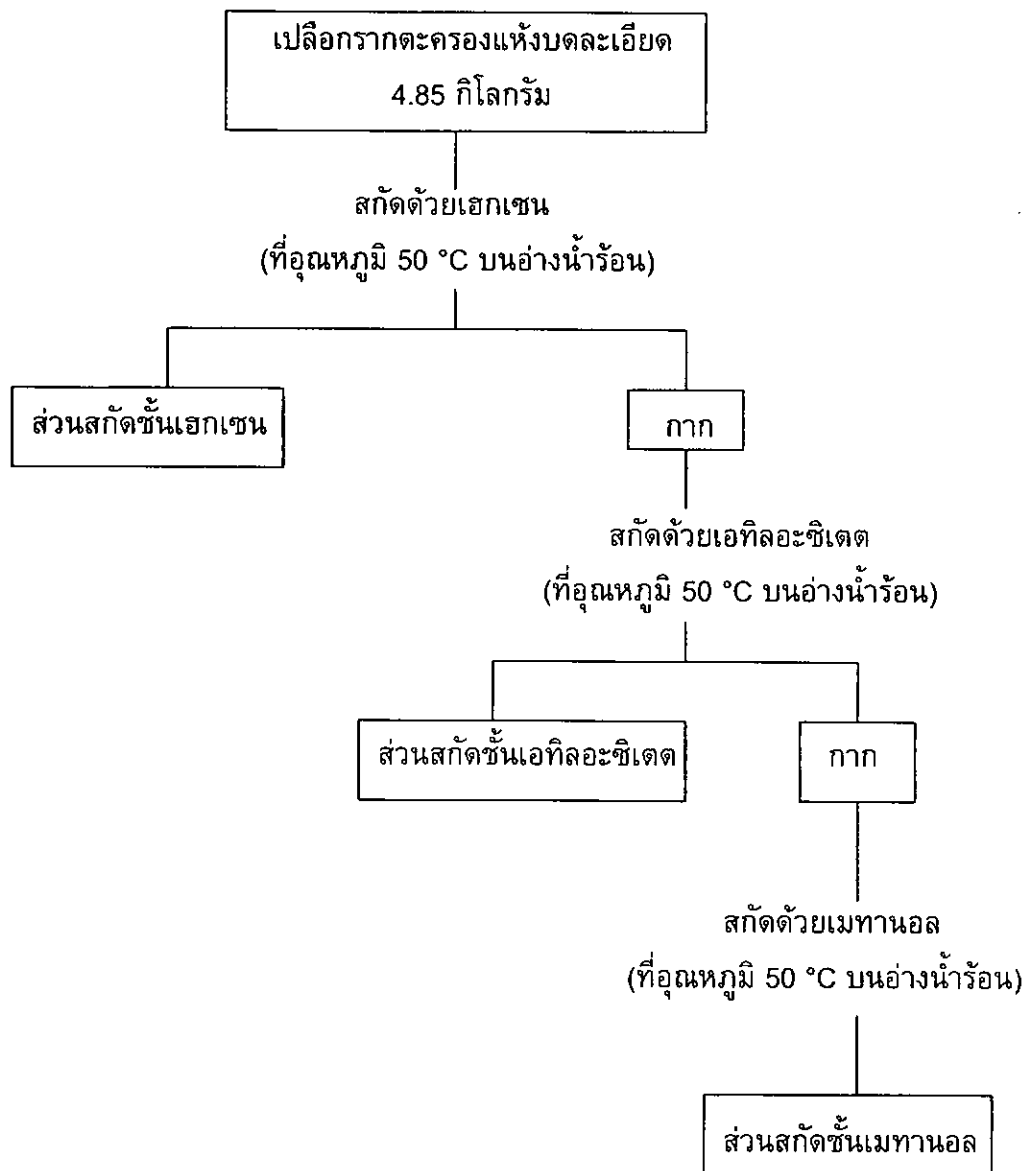
สกัดเปลือกกรากตะครองที่แห้งและบดละเอียด น้ำหนัก 4.85 กิโลกรัม ด้วยเฮกเซน 3 ครั้ง ครั้งละ 15 ลิตรที่อุณหภูมิ 50 °C บนอ่างน้ำร้อน แต่ละครั้งใช้เวลา 50 ชั่วโมง นำสารละลายที่สกัดได้มากรองแล้วระเหยเฮกเซนออกจนแห้ง สารที่ได้คือส่วนสกัดจากชั้นเฮกเซน

1.2 การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต

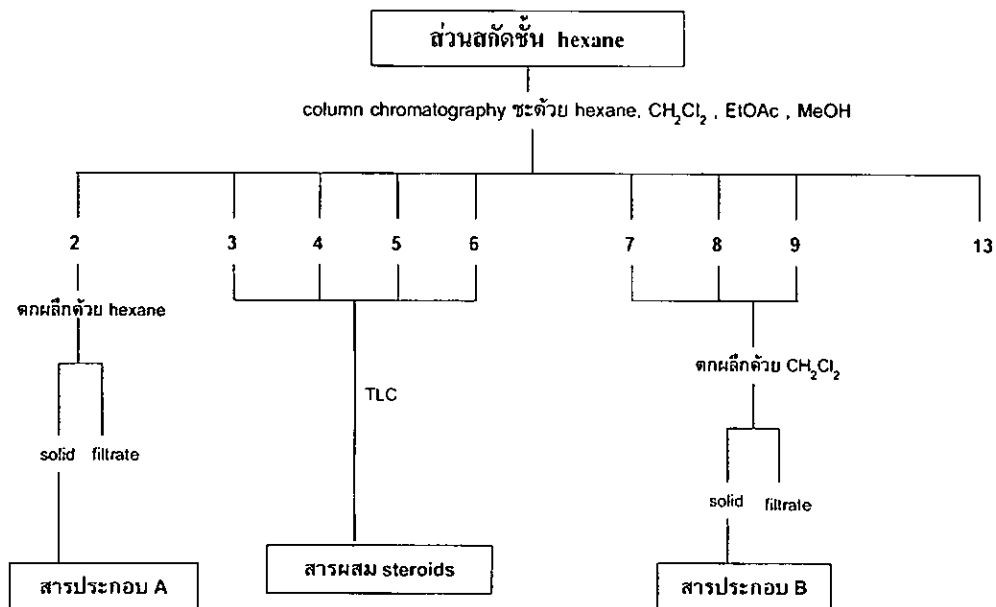
นำกากที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซนมาผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตต 3 ครั้ง โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนการสกัดด้วยเฮกเซน สารที่ได้คือส่วนสกัดจากชั้นเอทิลอะซิเตต

1.3 การสกัดด้วยเมทานอล

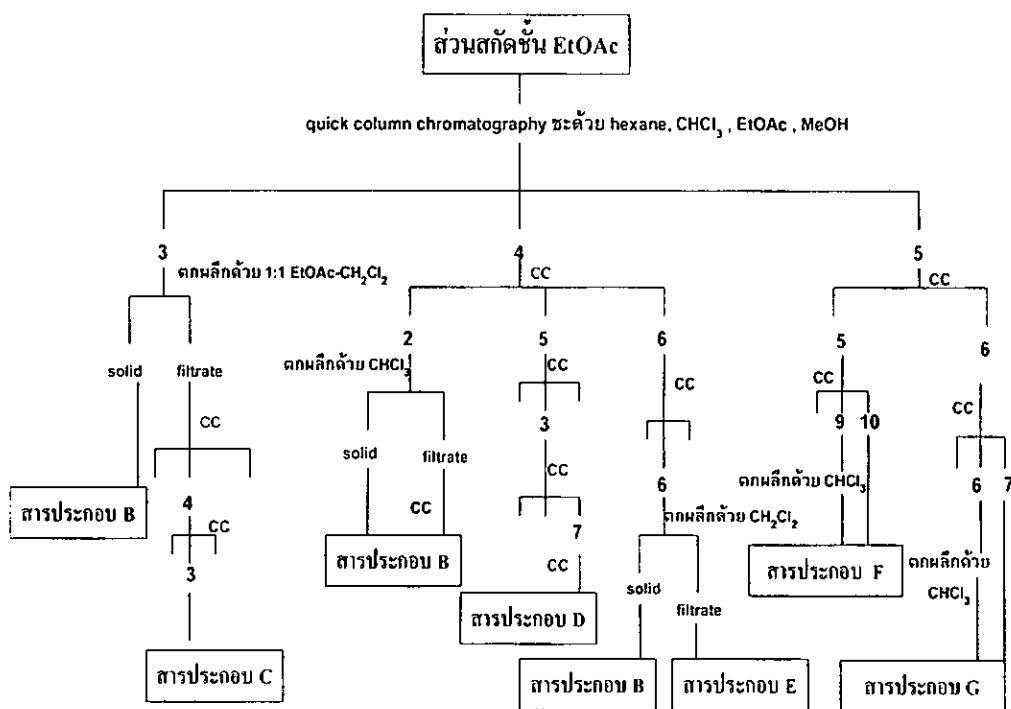
นำกากที่ผ่านการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมาทำให้แห้ง แล้วสกัดต่อด้วยเมทานอล 3 ครั้ง โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต จะมีส่วนสกัดจากชั้นเมทานอล



ภาพประกอบ 7 ขั้นตอนการสกัดสารจากเปลือกหอยคั่วแห้ง



ภาพประกอบ 8 ขั้นตอนการแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเฮกเซน



ภาพประกอบ 9 ขั้นตอนการแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต

เมทานอล (98.5:1.5)] นำไปแยกต่อโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [sephadex LH-20 12 กรัม ชะด้วยเมทานอล] สามารถแยกสารประกอบ D (3 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.2.2.3 สารกลุ่มย่อยที่ 4.6 [2.34 กรัม, ของแข็งสีน้ำตาล ชะออกด้วย คลอโรฟอร์ม-เอทิลอะซิเตต (30:70) จนถึงเอทิลอะซิเตต] ทำการแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (0.063-0.200 มิลลิเมตร) ชะด้วยไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (ตั้งแต่ 99.8:0.2 ถึง 90:10)] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 11 กลุ่ม

2.2.2.3.1 สารกลุ่มย่อยที่ 4.6.6 [159 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ชะออกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (96.5:3.5)] ทำการตกผลึกในเมทานอลใต้ของแข็งสีขาว (18 มิลลิกรัม) เป็นสารประกอบ B ส่วน filtrate (140 มิลลิกรัม, ของแข็งสีเหลือง) นำไปแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (< 0.063 มิลลิเมตร) ชะด้วยไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (ตั้งแต่ 99.8:0.2 ถึง 90:10)] สามารถแยกสารประกอบ E [8 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว ได้จากการชะด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (98.8:1.2)]

2.2.3 สารกลุ่ม 5 [15.40 กรัม, ของแข็งสีขาวปนน้ำตาล ได้จากการชะด้วย เอทิลอะซิเตต-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95)] นำไปแยกต่อโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (0.063-0.200 มิลลิเมตร) ชะด้วยเฮกเซน-คลอโรฟอร์ม (ตั้งแต่ 50:50 ถึง 10:90), คลอโรฟอร์ม, คลอโรฟอร์ม-อะซีโตน (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95), อะซีโตน, อะซีโตน-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95) และเมทานอล] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 14 กลุ่ม

2.2.3.1 สารกลุ่มย่อยที่ 5.5 [271 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ได้จากการชะด้วยคลอโรฟอร์ม-อะซีโตน (75:25)] นำไปแยกต่อโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (< 0.063 มิลลิเมตร) ชะด้วยคลอโรฟอร์ม, คลอโรฟอร์ม-เมทานอล (ตั้งแต่ 99.8:0.2 ถึง 90:10)] ได้สารทั้งหมด 11 กลุ่ม

2.2.3.1.1 สารกลุ่มย่อยที่ 5.5.9 [48 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ได้จากการชะคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (98:2)] ทำการตกผลึกด้วยคลอโรฟอร์มได้สารประกอบ F (14 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.2.3.1.2 สารกลุ่มย่อยที่ 5.5.10 [14 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว ได้จากการชะคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (97:3)] เป็นสารประกอบ F

2.2.3.2 สารกลุ่มย่อยที่ 5.6 [279 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ได้จากการชะด้วยคลอโรฟอร์ม-อะซีโตน (70:30)] นำไปแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (< 0.063 มิลลิเมตร) ชะด้วยคลอโรฟอร์ม, เมทานอล-คลอโรฟอร์ม (ตั้งแต่ 99.8:0.2 ถึง 90:10)] ได้สารทั้งหมด 11 กลุ่ม

2.2.3.2.1 สารกลุ่มย่อยที่ 5.6.6 [32 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ะออกด้วยคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (99.6:0.4)] ทำการตกผลึกด้วยคลอโรฟอร์มได้ สารประกอบ G (16 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.2.3.2.2 สารกลุ่มย่อยที่ 5.6.7 [9 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว ได้จากการชะด้วยคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (99.4:0.6)] คือสารประกอบ G

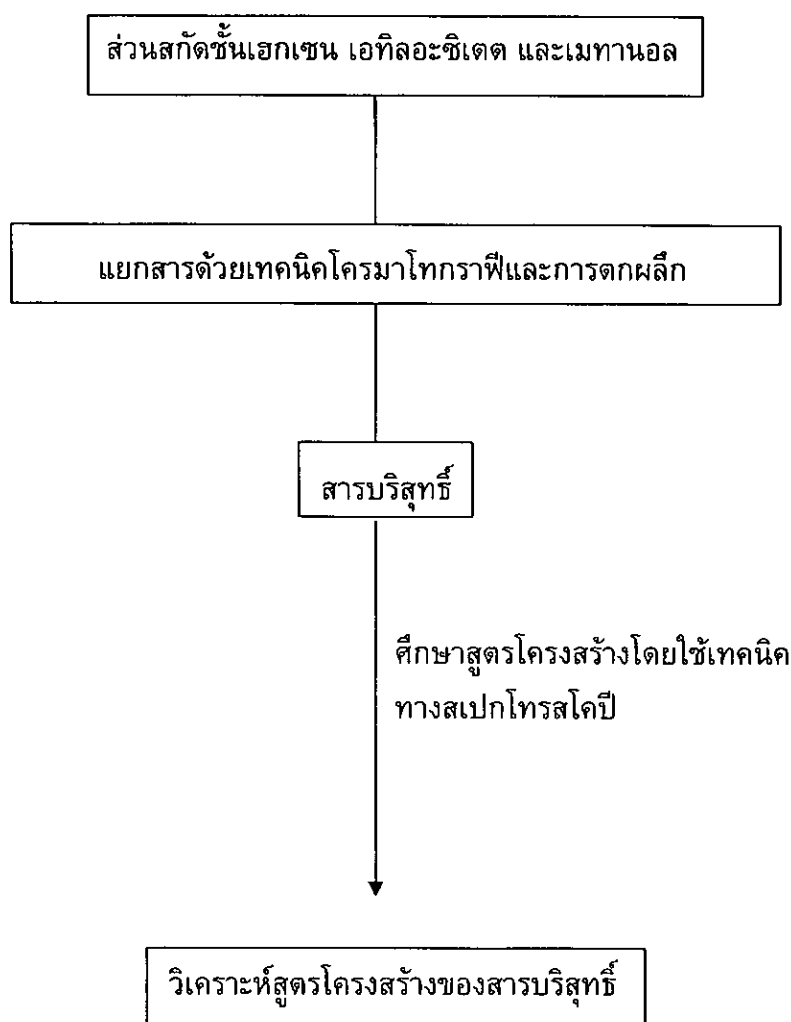
2.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเมทานอล และทำสารให้บริสุทธิ์

นำส่วนสกัดชั้นเมทานอล (30.00 กรัม) มาแยกด้วยควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄ ชะด้วยไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95), เมทานอล-น้ำ (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95) และน้ำ] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 15 กลุ่ม

2.3.1 สารกลุ่ม 1 (188 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวปนเหลือง ะออกด้วยไดคลอโรมีเทน) จาก TLC พบว่าน่าจะมีสารประกอบ B เป็นส่วนผสม จึงทำการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทนได้สารประกอบ B (10 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้

นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากชั้นเฮกเซน, เอทิลอะซิเตต และเมทานอลวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างด้วยการหาจุดหลอมเหลว (m.p.) แถบของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (IR) แถบการดูดกลืนรังสียูวี-วิสิเบิล (UV-visible) ในตัวทำละลายเมทานอล (นอกจากจะบ่งเป็นตัวทำละลายอื่น) ข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR บันทึกโดยใช้เครื่อง NMR spectrometer ที่ 300 MHz และ 75 MHz ตามลำดับ ใช้ deuteriochloroform (CDCl₃) เป็นตัวทำละลาย (นอกจากจะบ่งว่าเป็นตัวทำละลายอื่น) และรายงานในหน่วย δ ที่ downfield จาก TMS (tetramethylsilane) ซึ่งใช้เป็น internal standard (δ 0.00) นำสารบางส่วนไปบันทึกค่า Optical rotation บันทึกเป็นค่า [α]_D ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้ microcell 50 mm ข้อมูล Mass spectrometer บันทึกเป็น m/z



ภาพประกอบ 10 ขั้นตอนการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์จากเปลือกรากตะครอง

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากเปลือกธัญพืช

เปลือกธัญพืชแห้งที่บดละเอียด (4.85 กิโลกรัม) เมื่อสกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 3 ครั้ง เป็นเวลา 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 °C ได้ส่วนสกัดชั้นเฮกเซน (9.52 กรัม) เป็นสารกึ่งของแข็งสีเหลือง จากนั้นนำกากตากให้แห้ง แล้วนำมาสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนการสกัดด้วยเฮกเซน ได้ส่วนสกัดจากชั้นเอทิลอะซิเตต (60.43 กรัม) เป็นของแข็งสีเหลือง และส่วนสกัดชั้นเมทานอล (30.00 กรัม) มีลักษณะเป็นสารกึ่งของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

2. วิธีการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์

2.1 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเฮกเซนและทำสารให้บริสุทธิ์

นำส่วนสกัดชั้นเฮกเซน (9.52 กรัม) แยกและทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล (0.063-0.200 มิลลิเมตร) ๕๕ ด้วยเฮกเซน, เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน (ตั้งแต่ 95:5 จนถึง 5:95), ไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน-เอทิลอะซิเตต (ตั้งแต่ 95:5 จนถึง 5:95), เอทิลอะซิเตต, เอทิลอะซิเตต-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 จนถึง 5:95) และเมทานอล] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 13 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเฮกเซนโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบตัวชะ	กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
เฮกเซน			
เฮกเซน : ไดคลอโรมีเทน			
95 : 5 - 20 : 80	1	0.160	น้ำมันสีเหลือง
10 : 90 - 5 : 95	2	0.090	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
ไดคลอโรมีเทน	3	0.005	ของแข็งสีขาว
ไดคลอโรมีเทน	4	0.036	กึ่งของแข็งสีเหลือง

ตาราง 1 (ต่อ)

ระบบตัวชะ	กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
ไคคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตต			
95 : 5	5	0.027	กึ่งของแข็งสีเหลือง
90 : 10	6	0.540	กึ่งของแข็งสีเขียว
90 : 10	7	0.340	กึ่งของแข็งสีเขียว
85 : 15	8	0.314	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
80 : 20	9	0.580	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
75 : 25 - 60 : 40	10	1.717	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
55 : 45	11	0.223	ของหนืดสีเหลือง
50 : 50 - เอทิลอะซิเตต	12	1.527	ของหนืดสีเหลืองเข้ม
เอทิลอะซิเตต : เมทานอล			
95 : 5 - เมทานอล	13	1.291	ของหนืดสีน้ำตาลเข้ม

แยกสารได้ทั้งหมด 13 กลุ่ม นำมาแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด ได้แก่

2.1.1 สารประกอบ A ได้จากสารกลุ่ม 2 (34 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.1.2 สารประกอบ B ได้จากสารกลุ่ม 7 (504 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.2 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตและทำสารให้บริสุทธิ์

นำส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต (60.43 กรัม) มาแยกด้วยควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี 2 ครั้ง ครั้งแรก 30.22 กรัมและครั้งที่สอง 30.21 กรัมตามลำดับ [ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄ ชะด้วย เฮกเซน, เฮกเซน-คลอโรฟอร์ม (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95), คลอโรฟอร์ม, คลอโรฟอร์ม-เอทิลอะซิเตต (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95), เอทิลอะซิเตต, เอทิลอะซิเตต-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95) และ เมทานอล] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 6 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตโดยคwikคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบตัวชะ	กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
เฮกเซน			
เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม			
95 : 5 - 10 : 90	1	0.838	น้ำมันสีเหลืองเข้ม
5 : 95 - คลอโรฟอร์ม	2	2.110	กึ่งของแข็งสีขาวปนเขียว
คลอโรฟอร์ม : เอทิลอะซิเตต			
95 : 5 - 50 : 50	3	9.939	ของแข็งสีขาวปนเขียว
45 : 55 - เอทิลอะซิเตต	4	19.860	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
เอทิลอะซิเตต : เมทานอล			
95 : 5 - 5 : 95	5	15.403	ของแข็งสีขาวปนน้ำตาล
เมทานอล	6	0.875	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

แยกสารได้ทั้งหมด 6 กลุ่ม นำมาแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่

- 2.2.1 สารประกอบ B ได้จากสารกลุ่ม 3 และ 4 (2.73 กรัม, ของแข็งสีขาว)
- 2.2.2 สารประกอบ C ได้จากสารกลุ่ม 3 (4 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)
- 2.2.3 สารประกอบ D ได้จากสารกลุ่ม 4 (3 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)
- 2.2.4 สารประกอบ E ได้จากสารกลุ่ม 4 (8 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)
- 2.2.5 สารประกอบ F ได้จากสารกลุ่ม 5 (28 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)
- 2.2.6 สารประกอบ G ได้จากสารกลุ่ม 5 (25 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

2.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเมทานอลและทำสารให้บริสุทธิ์

นำส่วนสกัดชั้นเมทานอล (30.00 กรัม) มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคwikคอลัมน์โครมาโทกราฟี [ซิลิกาเจล 60GF₂₅₄ ะด้วยไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95), เมทานอล-น้ำ (ตั้งแต่ 95:5 ถึง 5:95) และน้ำ] ได้กลุ่มสารทั้งหมด 15 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ผลการแยกส่วนสกัดชั้นเมทานอลโดยควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบตัวชะ	กลุ่ม	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
ไดคลอโรมีเทน	1	0.188	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
	2	0.191	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล			
95 : 5	3	0.076	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล			
90 : 10	4	0.151	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
90 : 10	5	0.051	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
85 : 15 - 80 : 20	6	0.142	ของแข็งสีน้ำตาล
75 : 25 - 70 : 30	7	0.100	ของแข็งสีน้ำตาล
65 : 35	8	0.362	กึ่งของแข็งสีน้ำตาล
60 : 40	9	0.920	กึ่งของแข็งสีน้ำตาล
60 : 40	10	1.067	กึ่งของแข็งสีน้ำตาล
50 : 50	11	3.020	กึ่งของแข็งสีน้ำตาล
40 : 60	12	2.850	กึ่งของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
35 : 65	13	2.200	ของแข็งสีน้ำตาล
เมทานอล	14	0.436	ของแข็งสีน้ำตาล
เมทานอล : น้ำ			
95 : 5 - น้ำ	15	2.007	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

แยกสารได้ทั้งหมด 15 กลุ่ม นำมาแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด ได้แก่

2.3.1 สารประกอบ B ได้จากสาร กลุ่ม 1 (10 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

3. การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้นำมาวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี

3.1 สารประกอบ A

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 34 มิลลิกรัม mp 198-200 °C (mp 222-224 °C, Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) ค่า R_f 0.52 (20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน)

IR V_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3330, 2945, 2871, 2853, 1457, 1380, 1043, 880

1H NMR (1% methanol- d_4 in $CDCl_3$) : แสดงในตาราง 5

3.2 สารประกอบ B

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 3.25 กรัม mp 278-280 °C (d) (mp 293-295 °C, Yagi, et al. 1978 : 1798-1798) ค่า R_f 0.36 (2% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน)

IR V_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3448, 2942, 2868, 1685, 1560, 1385, 1289, 853, 812, 763

1H NMR และ ^{13}C NMR (10% methanol- d_4 in $CDCl_3$) : แสดงในตาราง 6 และ 7

3.3 สารประกอบ C

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 4 มิลลิกรัม mp 167-169 °C (d) (mp 183-187 °C, Ziegler, et al. 2004 : 119-127) ค่า R_f 0.41 (20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน)

IR $V_{\max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} : 2941, 2867, 1718, 1457, 1376, 1032, 885

1H NMR และ ^{13}C NMR ($CDCl_3$) : แสดงในตาราง 8 และ 9

ES MS m/z : 463 $[M+Na]^+$

3.4 สารประกอบ D

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 3 มิลลิกรัม mp 284-285 °C (d) (mp 279-280 °C, Yagi, et al. 1978 : 1798-1802) ค่า R_f 0.37 (4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน)

$[\alpha]_D^{30} = -12.8$ (c 0.14, MeOH)

UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) : 311 (3.29)

IR V_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3425, 2949, 2867, 1705, 1686, 1606, 1515, 1457, 1376, 1255, 1173, 833

1H NMR และ ^{13}C NMR (5% pyridine- d_5 in $CDCl_3$) : แสดงในตาราง 12 และ 13

HR FAB m/z : 617.3842 $[M-H]^-$ (คำนวณสำหรับ $C_{39}H_{54}O_6$ 617.3841)

3.5 สารประกอบ E

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 8 มิลลิกรัม mp 170-172 °C (d) ค่า R_f 0.22 (6% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) : 269 (3.05)

IR $V_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹ : 3433, 3345, 2958, 1603, 1537, 1450, 1358, 1193, 1047, 988, 840, 660

¹H NMR และ ¹³C NMR (methanol-*d*₄) : แสดงในตาราง 17 และ 18

EI MS *m/z* (% relative intensity) : 184 ([M]⁺, 25), 154 ([M-30]⁺, 50), 153 ([M-31]⁺, 100), 139 ([M-45]⁺, 12), 138 ([M-46]⁺, 12), 111 ([M-66]⁺, 9), 110 ([M-67]⁺, 43)

3.6 สารประกอบ F

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 28 มิลลิกรัม mp 287-290 °C (d) (mp 294-298 °C, Yaguchi, et al. 1988 : 1419-1424) ค่า R_f 0.33 (4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน)

$[\alpha]_D^{29} = +10.7$ (c 0.149, MeOH)

IR $V_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹ : 3432, 2941, 1692, 1660, 1454, 1376, 1225, 1046, 965, 886

¹H NMR และ ¹³C NMR (pyridine-*d*₅) : แสดงในตาราง 10 และ 11

ES MS *m/z* : 495 [M+Na]⁺

3.7 สารประกอบ G

เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 25 มิลลิกรัม mp 325-329 °C (d) (mp 328-331 °C, Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) ค่า R_f 0.31 (4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน)

IR $V_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹ : 3474, 3068, 2939, 2871, 1689, 1376, 1308, 1033, 882

¹H NMR และ ¹³C NMR (5% methanol-*d*₄ in CDCl₃) : แสดงในตาราง 14, 15 และ 16

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

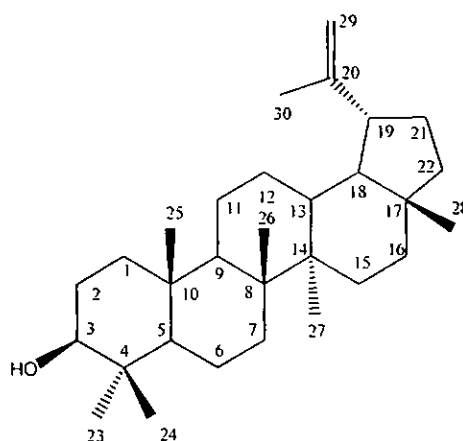
ในการแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล โดยใช้โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่บรรจุด้วยซิลิกาเจลและ/หรือ sephadex LH-20 สามารถแยกสารประกอบบริสุทธิ์ได้ 7 ชนิด (ตาราง 4) ในการพิสูจน์โครงสร้างของสารกระทำโดยการใช้ข้อมูลสเปกโทรสโคปี (UV, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR และ MS) และเปรียบเทียบข้อมูลกับข้อมูลที่มีผู้รายงานไว้แล้ว นอกจากนี้ในบางกรณีอาจเปรียบเทียบค่า R_f ของสารกับสาร authentic

ตาราง 4 สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกกรากตะครอง

สารประกอบ	ชื่อสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)		
		ชั้นเฮกเซน	ชั้นเอทิลอะซิเตต	ชั้นเมทานอล
A	lupeol	34	-	-
B	betulinic acid	504	2,733	10
C	betulinaldehyde	-	4	-
D	2-O-trans-p-coumaroyl alphitolic acid	-	3	-
E	alphitol	-	8	-
F	alphitolic acid	-	28	-
G	ceanothic acid	-	25	-

การพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

สารประกอบ A



สารประกอบ A เป็นของแข็งสีขาว มีค่า R_f 0.52 (20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน) ให้สีม่วงกับ anisaldehyde-sulphuric reagent จาก IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืดของ O-H ที่ 3330, หมู่ C-O ที่ 1043, หมู่ C=C ที่ 1637 cm^{-1}

จากข้อมูล ^1H NMR (ตาราง 5) พบสัญญาณของหมู่ isopropenyl โดยมีสัญญาณ vinylic proton ที่ δ 4.53 (1H, br s) และ δ 4.65 (1H, br s) หมู่ methyl ที่ δ 1.64 (3H, s) ดังนั้นสารประกอบ A น่าจะเป็นสารประกอบ triterpene ชนิด lupane นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ carbinol proton ที่ δ 3.15 (1H, dd, $J = 10.8, 5.4$ Hz) และสัญญาณของหมู่ methyl แบบ singlet 6 หมู่ที่ δ 0.72, 0.75, 0.79, 0.91, 0.93, 0.99 และ 1.64 ppm เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR ของสารประกอบ A กับ lupeol (23) (ตาราง 5) พบว่าคล้ายคลึงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า R_f ของสารประกอบ A กับ authentic lupeol ในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ พบว่ามีค่า R_f เท่ากัน จึงสรุปว่าสารประกอบ A คือ lupeol

lupeol เป็นสารประกอบ triterpene ที่พบได้ทั่วไปในพืช และมีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* เช่น พบในส่วนเปลือกต้นของ *Z. rugosa* Lam. (Nahar, et al. 1997 : 151-158), ส่วนเปลือกต้นและรากของ *Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam. (Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) และส่วนต้นของ *Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam. (Chauhan & S. K. Srivastava. 1978 : 6) นอกจากนี้ยังพบในพืชชนิดอื่นเช่น ส่วนเปลือกต้นของ *Acacia mellifera* (Leguminosae) (Mutai, et al. 2004 : 1159-1164) และส่วนเปลือกต้นของ *Gossampinus malabarica* L. Merr (Aratanechemuge, et al. 2004 : 289-292)

ตาราง 5 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ lupeol (23) และ ^1H NMR ของสารประกอบ A

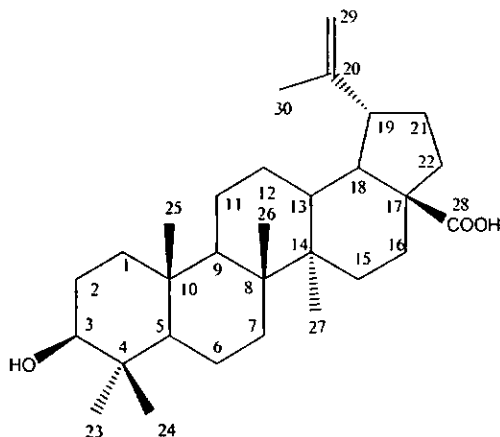
ตำแหน่ง	lupeol ^a		สารประกอบ A ^b
	δ_c	δ_H	δ_H
1	38.7		
2	27.4		
3	79.0	3.20 (1H, dd, $J = 11.5, 5.0$ Hz)	3.15 (1H, dd, $J = 10.8, 5.4$ Hz)
4	38.8		
5	55.3	0.68 (1H, m)	0.64 (1H, m)
6	18.3		
7	34.3		
8	40.8		
9	50.4		
10	37.1		
11	20.9		
12	25.1		
13	38.1		
14	42.8		
15	27.4		
16	35.6		
17	42.9		
18	48.3		
19	47.9	2.38 (1H, ddd, $J = 11.0, 11.0, 5.0$ Hz)	2.38 (1H, ddd, $J = 11.1, 11.1, 5.4$ Hz)
20	150.9		
21	29.8		
22	39.9		
23	27.9	0.97 (3H, s)	0.93 ^c (3H, s)
24	15.4	0.76 (3H, s)	0.72 ^d (3H, s)
25	16.1	0.83 (3H, s)	0.79 ^d (3H, s)
26	15.9	1.03 (3H, s)	0.99 ^c (3H, s)
27	14.5	0.94 (3H, s)	0.91 ^c (3H, s)
28	17.9	0.79 (3H, s)	0.75 ^d (3H, s)
29	109.3	4.54 (1H, br s)	4.53 (1H, br s)
		4.67 (1H, br s)	4.65 (1H, br s)
30	19.3	1.68 (3H, s)	1.64 (3H, s)

^a บันทึกใน methanol- d_4 (Aratanechemuge, et al. 2004 : 289-292)

^b บันทึกใน 1% methanol- d_4 in CDCl_3

^{c,d} ภายใต้อุปกรณ์เดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กันได้

สารประกอบ B



สารประกอบ B เป็นของแข็งสีขาว ซึ่งพบในปริมาณมากที่สุด มีค่า R_f 0.36 (2% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) ให้สีม่วงกับ anisaldehyde-sulphuric reagent จาก IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืดของ O-H ของ alcohol ที่ 3448, C=O ที่ 1685, C-O ของ carboxylic acid ที่ 1289 และ C=C ที่ 1637 cm^{-1}

จาก ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, COSY และ HMQC spectrum (ตาราง 6 และ 7) พบข้อมูลดังนี้

1. สัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 30 คาร์บอน ซึ่งเป็นของ methyl carbon 6 สัญญาณที่ δ 15.1, 15.9, 15.7, 27.7, 14.5 และ 19.1 ; methylene carbon 11 สัญญาณที่ δ 18.1, 20.7, 25.4, 26.9, 30.4, 29.5, 32.1, 34.2, 37.0, 38.6 และ 109.3 ; methine carbon 6 สัญญาณที่ δ 38.1, 46.9, 48.9, 50.4, 55.3 และ 78.7 และ quaternary carbon 7 สัญญาณที่ δ 37.0, 38.6, 40.5, 42.3, 56.1, 150.6 และ 179.1

2. สัญญาณของหมู่ isopropenyl โดยมีสัญญาณของหมู่ vinyl ที่ δ_{H} 4.47 (1H, br s) และ δ_{H} 4.60 (1H, br s), δ_{C} 109.3 หมู่ methyl ที่ δ_{H} 1.56 (3H, s), δ_{C} 19.1 และ quaternary carbon ที่ δ_{C} 150.6 แสดงว่าสารประกอบ B น่าจะเป็น triterpene ชนิด lupane

3. สัญญาณของหมู่ carboxylic acid ที่ δ_{C} 179.1

4. สัญญาณของ carbinol proton ที่ δ_{H} 3.04 (1H, dd, $J = 8.3, 7.6\text{ Hz}$), δ_{C} 78.7

5. สัญญาณ methine proton ที่ δ_{H} 2.89 (1H, m), δ_{C} 46.8 และที่ δ_{H} 0.56 (1H, d, $J = 9.3\text{ Hz}$), δ_{C} 55.2

6. สัญญาณของหมู่ methyl 5 หมู่ที่ δ_{H} 0.62 (3H, s), δ_{C} 15.1 ; δ_{H} 0.70 (3H, s), δ_{C} 15.9 ; δ_{H} 0.81 (3H, s), δ_{C} 15.7 ; δ_{H} 0.83 (3H, s), δ_{C} 27.7 และ δ_{H} 0.85 (3H, s), δ_{C} 14.5

จากข้อมูล NMR ข้างต้น พบว่าสารประกอบ **B** น่าจะมีโครงสร้างคล้ายกับ lupeol (23) (ตาราง 5) จึงทำการเปรียบเทียบค่า R_f พบว่าสารประกอบ **B** มีค่า R_f น้อยกว่า lupeol แสดงว่าสารประกอบ **B** น่าจะมีหมู่แทนที่ที่มีขั้วสูงกว่า lupeol สอดคล้องกับข้อมูลใน IR spectrum พบหมู่ carbonyl ที่ 1685 cm^{-1} และ ^{13}C NMR พบสัญญาณของหมู่ carboxylic acid หนึ่งหมู่ (δ_c 179.1) และสัญญาณของหมู่ methyl 5 สัญญาณซึ่งน้อยกว่าใน lupeol เพียง 1 สัญญาณเท่านั้น จึงเป็นไปได้ที่สารประกอบ **B** น่าจะมีหมู่ carboxylic acid ต่อกับ C-17 แทนที่หมู่ methyl ใน lupeol เนื่องจาก C-17 (δ_c 56.1) ของสารประกอบ **B** ถูก deshield ไปยังตำแหน่งที่ low field กว่า C-17 (δ_c 42.9) ของ lupeol

เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูล IR, ^1H และ ^{13}C NMR spectrum ระหว่างสารประกอบ **B** ซึ่งบันทึกใน methanol- d_4 - CDCl_3 กับ betulinic acid (3) ซึ่งบันทึกใน CDCl_3 (ตาราง 6) พบว่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเทียบค่า R_f ใน TLC พบว่าสารประกอบ **B** กับ authentic betulinic acid มีค่า R_f เท่ากัน นอกจากนี้ข้อมูล HMBC (ตาราง 7) ของสารประกอบ **B** พบความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง carbinol proton (H-3) กับ C-1, C-2, C-4, C-23 และ C-24 ; methylene proton (H-29) กับ C-19, C-20 และ C-30 ของหมู่ isopropenyl ; H-19 กับ C-18, C-20, C-21, C-29 และ C-30

จากข้อมูลดังกล่าว สรุปได้ว่าสารประกอบ **B** มีโครงสร้างเป็น 3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid หรือ betulinic acid

betulinic acid เป็นสารประกอบ triterpene ที่มักพบในพืชสกุล *Ziziphus* โดยมีรายงานการพบ betulinic acid ในปริมาณมากจากส่วนรากของ *Z. oenoplia* (L.) Mill. (ณัฐชัย อุ๋นใจ. 2545 : 38), พบในเปลือกรากของ *Z. oenoplia* (L.) Mill. (Menard, et al. 1963 : 1801-1811), เปลือกต้นของ *Z. oenoplia* (L.) Mill. (Nahar, et al. 1997 : 151-158), เปลือกต้นและรากของ *Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam. (Kundu, et al. 1989 : 3155-3158), ส่วนเหนือดินของ *Z. spina* Crsti (Ikram and Tomlinson. 1976 : 289-290), เปลือกต้นของ *Z. rugosa* Lam. (Khosa, Meena & Pandey. 1987 : 323), เปลือกต้นของ *Z. rugosa* Lam. (Tripathi, et al. 1988 : 158) (Nahar, et al. 1997 : 151-158), ส่วนผลของ *Z. jujuba* Mill. (Yaki, et al. 1978 : 1798-1802 ; 3075-3079), ส่วนรากของ *Z. jujuba* Mill. (Lee, Lin & Chen. 1995 : 511-519) นอกจากนี้ยังพบในพืชชนิดอื่น เช่น ส่วนเปลือกต้นของ *Alphitonia zizyphoides* (Rhamnaceae) (Dunstan, et al. 1998 : 495-497), พบในส่วนเหนือดินของ *Zataria multiflora* Boiss. (Ziegler, et al. 2004 : 119-127) และส่วนเปลือกต้นของ *Acacia mellifera* (Leguminosae) (Mutai, et al. 2004 : 1159-1164)

ตาราง 6 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinic acid (3) และสารประกอบ B และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ B

ตำแหน่ง	betulinic acid ^a		สารประกอบ B ^b			
	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H	DEPT 90	DEPT 135
1	38.7		38.6			38.6
2	27.4		26.9			26.9
3	79.0	3.16 (1H, dd, $J = 10.8, 5.1$ Hz)	78.7	3.04 (1H, dd, $J = 8.3, 7.6$ Hz)	78.7	78.7
4	38.0		38.6			
5	55.3	0.66 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	55.2	0.56 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)	55.2	55.2
6	18.3		18.1			18.1
7	34.3		34.2			34.2
8	40.7		40.5			
9	50.5		50.4		50.4	50.4
10	37.2		37.0			
11	20.8		20.7			20.7
12	25.5		25.4			25.4
13	38.4		38.1		38.1	38.1
14	42.4		42.3			
15	30.5		29.5			29.5
16	32.1		32.1			32.1
17	56.3		56.1			
18	49.3		48.9		48.9	48.9
19	46.9	2.99 (1H, m)	46.8	2.89 (1H, m)	46.8	46.8
20	150.4		150.6			
21	29.7		30.4			30.4
22	37.0		37.0			37.0
23	28.0	0.94 (3H, s)	27.7	0.83 (3H, s)		27.7
24	15.3	0.73 (3H, s)	15.1	0.62 (3H, s)		15.1
25	16.1	0.80 (3H, s)	15.9 ^c	0.70 (3H, s)		15.9
26	16.0	0.91 (3H, s)	15.7 ^c	0.81 (3H, s)		15.7
27	14.7	0.95 (3H, s)	14.5	0.85 (3H, s)		14.5
28	180.0		179.1			
29	109.7	4.58 (1H, br s) 4.72 (1H, br s)	109.3	4.47 (1H, br s) 4.60 (1H, br s)		109.3
30	19.4	1.67 (3H, s)	19.1	1.56 (3H, s)		19.1

^a บันทึกใน CDCl_3 (ฉันทชัย อุ่นใจ. 2545 : 42)

^b บันทึกใน 10% methanol- d_4 in CDCl_3 , ^c เครื่องหมายภายใต้สัญญาณเดียวกันอาจเปลี่ยนที่กันได้

ตาราง 7 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ B

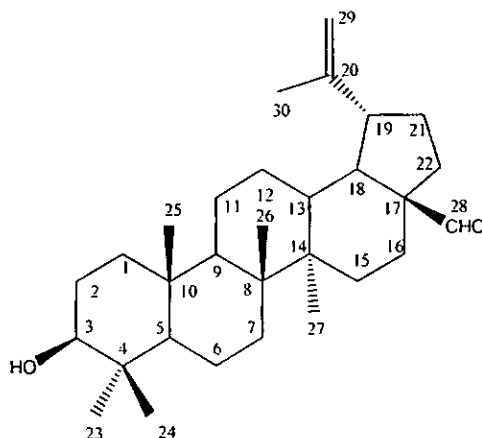
ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
3	3.04 (1H, dd, $J = 8.3, 7.6$ Hz)		C-3	C-1, C-2, C-4, C-23, C-24
5	0.56 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)		C-5	C-1, C-4, C-10, C-25
19	2.89 (1H, m)		C-19	C-18, C-20, C-21, C-29, C-30
23	0.83 (3H, s)		C-23	C-4, C-5, C-24
24	0.62 (3H, s)		C-24	C-4, C-5, C-23
25	0.70 (3H, s)		C-25	C-1, C-5, C-9, C-10
26	0.81 (3H, s)		C-26	C-7, C-8, C-9, C-14
27	0.85 (3H, s)		C-27	C-8, C-13, C-14, C-15
29	4.47 (1H, br s) 4.60 (1H, br s)	H-30	C-29	C-19, C-20, C-30
30	1.56 (3H, s)	H-29	C-30	C-19, C-20, C-29

^a proton-proton correlation

^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

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

สารประกอบ C



สารประกอบ C เป็นของแข็งสีขาว มีค่า R_f 0.41 (20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน) ซึ่งมีความเป็นขั้วอยู่ระหว่าง lupeol (R_f 0.62 ใน 20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน) และ betulinic acid (R_f 0.08 ใน 20% เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน) ให้สีม่วงกับ anisaldehyde-sulphuric reagent เช่นเดียวกัน แสดงว่าเป็นสารประกอบ triterpene เช่นกัน จาก IR spectrum (CHCl_3) พบแถบการสั่นแบบยืด O-H ของหมู่ alcohol ที่ 3400, C-H ของหมู่ aldehyde ที่ 2867 และ 2700, C=O ที่ 1718 และ หมู่ C=C ที่ 1654 cm^{-1} และ ES MS แสดง m/z 463 ของ $[\text{M}+\text{Na}]^+$

ข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT ของสารประกอบ C พบสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 30 คาร์บอน ซึ่งเป็นของ methyl carbon 6 สัญญาณที่ δ 14.2, 15.3, 15.8, 16.1, 18.9 และ 27.9 ; methylene carbon 11 สัญญาณที่ δ 18.2, 20.7, 25.5, 27.3, 28.7, 29.2, 29.8, 33.2, 34.3, 38.8 และ 110.1 ; methine carbon 7 สัญญาณที่ δ 38.6, 47.5, 48.0, 50.4, 55.3, 78.9 และ 206.7 และ quaternary carbon 6 สัญญาณที่ δ 37.1, 38.6, 40.8, 42.5, 59.3 และ 149.7

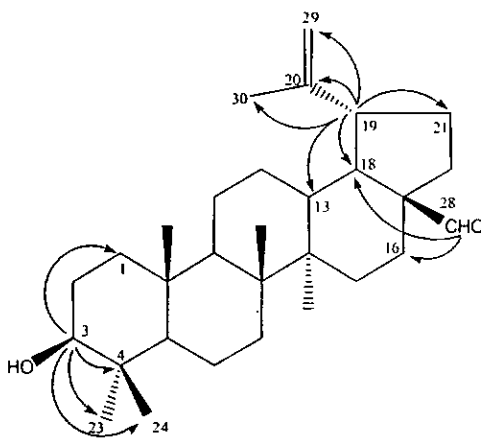
ข้อมูล ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, COSY และ HMQC ของสารประกอบ C (ตาราง 8 และ 9) พบสัญญาณของหมู่ aldehyde หนึ่งหมู่ที่ δ_{H} 9.67 (1H, s), δ_{C} 206.7 และสัญญาณอื่นที่คล้ายกับ betulinic acid คือหมู่ isopropenyl แสดงค่า chemical shift ของหมู่ vinyl ที่ δ_{H} 4.62 (1H, br s) และ δ_{H} 4.75 (1H, br s), δ_{C} 110.1 ; หมู่ methyl ที่ δ_{H} 1.69 (3H, s), δ_{C} 18.9 และ quaternary carbon ที่ δ_{C} 149.7 พบสัญญาณของ carbinol proton ที่ δ_{H} 3.18 (1H, dd, $J = 10.8, 5.1$ Hz), δ_{C} 78.9 พบ methine proton ที่ δ_{H} 2.86 (1H, dt, $J = 11.0, 5.7$ Hz), δ_{C} 47.5 และที่ δ_{H} 0.67 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), δ_{C} 55.3 และหมู่ methyl 5 หมู่ที่ δ_{H} 0.75 (3H, s), δ_{C} 15.3 ; δ_{H} 0.81 (3H, s), δ_{C} 16.1 ; δ_{H} 0.91 (3H, s), δ_{C} 15.8 ; δ_{H} 0.96 (3H, s), δ_{C} 27.9 และ δ_{H} 0.97 (3H, s), δ_{C} 14.2

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูล NMR spectrum ของสารประกอบ C กับ betulinic acid (ตาราง 6) พบว่ามีส่วนคล้ายกันมาก แต่ต่างกันที่สารประกอบ C ไม่พบสัญญาณของหมู่

carboxylic acid ที่ C-17 แต่กลับพบสัญญาณของหมู่ aldehyde ที่ C-17 แสดงว่าสารประกอบ C น่าจะมีหมู่ aldehyde ที่ C-17 สอดคล้องกับข้อมูล HMBC (ตาราง 9) ของสารประกอบ C พบความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง aldehyde proton กับ C-16 และ C-18 นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง H-3 กับ C-1, C-4, C-23 และ C-24 ; H-19 กับ C-13, C-18, C-20, C-21, C-29 และ C-30 ดังนั้นสารประกอบ C น่าจะมีโครงสร้างเป็น betulinaldehyde (24)

เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูล IR, ^1H และ ^{13}C NMR ของสารประกอบ C กับ betulinaldehyde (ตาราง 8) พบว่าใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปได้ว่าสารประกอบ C มีโครงสร้างเป็น betulinaldehyde

betulinaldehyde เป็นสารประกอบ triterpene ที่มีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* เช่น พบในส่วนเปลือกต้นของ *Z. rugosa* Lam. (Nahar, et al. 1997 : 151-158) และส่วนรากของ *Z. vulgaris* Lam. (Ziegler, et al. 2004 : 119-127)



ภาพประกอบ 11 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ C

ตาราง 8 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinaldehyde (24) และสารประกอบ C และ
ข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ C

ตำแหน่ง	betulinaldehyde		สารประกอบ C			
	δ_c^a	δ_H^b	δ_c	δ_H	DEPT 90	DEPT 135
1	38.7		38.8			38.8
2	27.3		27.3			27.3
3	78.9	3.17 (1H, dd, $J = 11.1$, 5.0 Hz)	78.9	3.18 (1H, dd, $J = 10.8$, 5.1 Hz)	78.9	78.9
4	38.8		38.6			
5	55.5	0.67 (1H, d, $J = 9.8$ Hz)	55.3	0.67 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)	55.3	55.3
6	18.2		18.2			18.2
7	34.3		34.3			34.3
8	40.8		40.8			
9	50.4		50.4		50.4	50.4
10	37.1		37.1			
11	20.7		20.7			20.7
12	25.5		25.5			25.5
13	38.7		38.6		38.6	38.6
14	42.5		42.5			
15	29.2		28.7			28.7
16	28.8		29.2			29.2
17	59.3		59.3			
18	48.0		48.0		48.0	48.0
19	47.5	2.85 (1H, dt, $J = 11.1$, 5.4 Hz)	47.5	2.86 (1H, dt, $J = 11.0$, 5.7 Hz)	47.5	47.5
20	149.7		149.7			
21	29.8		29.8			29.8
22	33.2		33.2			33.2
23	27.9	0.95 (3H, s)	27.9	0.96 (3H, s)		27.9
24	15.4	0.74 (3H, s)	15.3	0.75 (3H, s)		15.3
25	15.9	0.80 (3H, s)	16.1 ^c	0.81 (3H, s)		16.1
26	16.1	0.90 (3H, s)	15.8 ^c	0.91 (3H, s)		15.8
27	14.2	0.96 (3H, s)	14.2	0.97 (3H, s)		14.2
28	205.6	9.66	206.7	9.67 (1H, s)	206.7	206.7
29	110.1	4.62 (1H, d, $J = 1.9$ Hz) 4.74 (1H, d, $J = 1.9$ Hz)	110.1	4.62 (1H, br s) 4.75 (1H, br s)		110.1
30	19.0	1.68 (3H, s)	18.9	1.69 (3H, s)		18.9

บันทึกใน CDCl_3

^aMahato & Kundu, A. P. 1994 : 1517-1575, ^bMacias, Simonet & Esteban. 1994 : 1369-1379

^c ภายใต้อุปกรณ์เดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กันได้

ตาราง 9 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ C

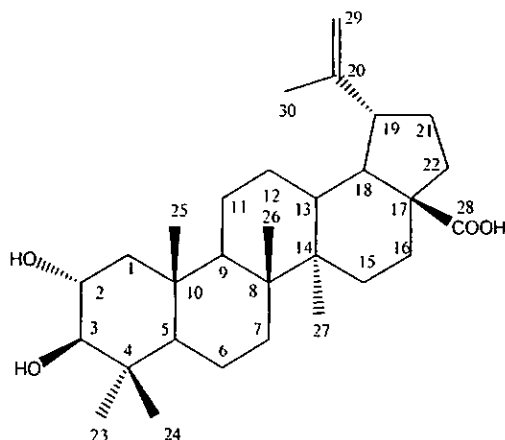
ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
3	3.18 (1H, dd, $J = 10.8, 5.1$ Hz)		C-3	C-1, C-4, C-23, C-24
5	0.67 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)		C-5	C-1, C-4, C-10, C-25
19	2.86 (1H, dt, $J = 11.0, 5.7$ Hz)		C-19	C-13, C-18, C-20, C-21, C-29, C-30
23	0.96 (3H, s)		C-23	C-3, C-4, C-5, C-24
24	0.75 (3H, s)		C-24	C-3, C-4, C-5, C-23
25	0.81 (3H, s)		C-25	C-1, C-5, C-9, C-10
26	0.91 (3H, s)		C-26	C-7, C-8, C-9, C-14
27	0.97 (3H, s)		C-27	C-8, C-13, C-14, C-15
28	9.67 (1H, s)		C-28	C-16, C-18
29	4.62 (1H, br s)	H-30	C-29	C-19, C-30
	4.75 (1H, br s)			
30	1.69 (3H, s)	H-29	C-30	C-19, C-20, C-29

^a proton-proton correlation

^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

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

สารประกอบ F



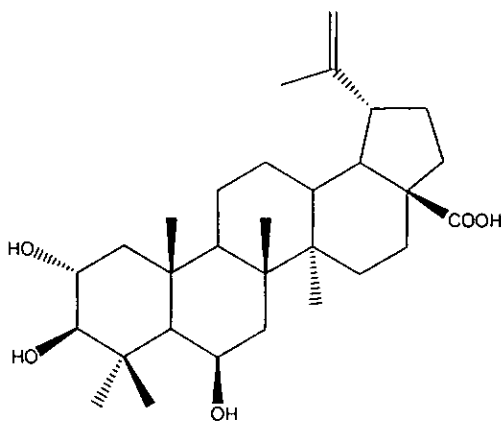
สารประกอบ F เป็นของแข็งสีขาว ให้สีม่วงน้ำเงินกับ anisaldehyde-sulphuric reagent แสดงว่าเป็นสารประกอบ triterpene (Yaki, et al. 1978 : 1798-1802) ES MS พบ m/z 495 $[M+Na]^+$ จาก IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืด O-H ของ alcohol ที่ 3432, O-H ของ carboxylic acid ที่ 3200-3500, C=O ที่ 1692, C=C ที่ 1600, C-O ของ carboxylic acid ที่ 1225 และ C-O ของ alcohol ที่ 1046 cm^{-1}

ข้อมูล ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, COSY และ HMQC (ตาราง 10 และ 11) ของสารประกอบ F พบสัญญาณของหมู่ isopropenyl ของ lupane triterpene โดยมีสัญญาณของหมู่ vinyl ที่ δ_{H} 4.75 (1H, br s) และ δ_{H} 4.90 (1H, br s), δ_{C} 110.0 ; methyl ที่ δ_{H} 1.76 (3H, s), δ_{C} 19.5 และ quaternary carbon ที่ δ_{C} 151.4 พบสัญญาณของหมู่ methyl 5 หมู่ที่ δ_{H} 0.87 (3H, s), δ_{C} 17.7 ; δ_{H} 1.01 (3H, s), δ_{C} 17.5 ; δ_{H} 1.03 (3H, s), δ_{C} 14.9 ; δ_{H} 1.03 (3H, s), δ_{C} 16.5 และ δ_{H} 1.22 (3H, s), δ_{C} 29.2 พบหมู่ carboxylic acid ที่ δ_{C} 179.1 และพบสัญญาณของ carbinol proton 2 ตัวที่ couple กันที่ δ_{H} 3.38 (1H, d, $J = 9.3\text{ Hz}$), δ_{C} 83.8 และ δ_{H} 4.07 (1H, m), δ_{C} 68.9

ข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT ของสารประกอบ F พบสัญญาณทั้งหมด 30 คาร์บอน ซึ่งเป็นของ methyl carbon 6 สัญญาณที่ δ 14.9, 16.5, 17.5, 17.7, 19.5 และ 29.2 ; methylene carbon 10 สัญญาณที่ δ 18.8, 21.4, 26.1, 30.2, 31.2, 32.9, 34.8, 37.6, 48.2 และ 110.0 ; methine carbon 7 สัญญาณที่ δ 38.6, 47.8, 49.8, 51.0, 56.1, 68.9 และ 83.8 และ quaternary carbon 7 สัญญาณที่ δ 38.7, 39.9, 41.2, 42.9, 56.7, 151.3 และ 179.1

จากข้อมูล ^1H NMR ข้างต้น เห็นได้ว่าสารประกอบ F มีโครงสร้างคล้ายกับ betulinic acid (3) แต่ต่างกันที่สารประกอบ F พบสัญญาณ carbinol proton 2 สัญญาณ ซึ่งมากกว่าใน betulinic acid 1 สัญญาณ แสดงว่าสารประกอบ F น่าจะมีหมู่ hydroxyl 2 หมู่ในโครงสร้าง โดยหมู่ hydroxyl ที่เพิ่มขึ้นมา 1 หมู่นี้ น่าจะอยู่ที่ C-2 นอกจากนี้ stereochemistry ของ H-2 กับ

H-3 เป็นแบบ *trans* ($J_{2,3} = 9.3$ Hz) ซึ่งสอดคล้องกับของ divergioic acid (62) ซึ่งมี H-2 กับ H-3 เป็นแบบ *trans* และ $J_{2,3} = 9.3$ Hz เช่นกัน ดังนั้นสารประกอบ F น่าจะมีโครงสร้างเป็น $2\alpha,3\beta$ -dihydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid หรือ alphaltolic acid (32) ซึ่งเคยมีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* เช่นกัน



62 divergioic acid

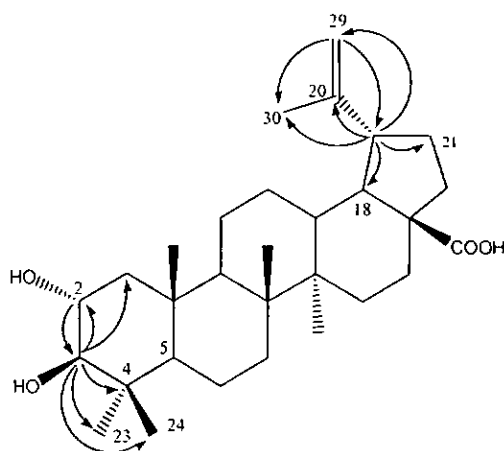
ภาพประกอบ 12 สูตรโครงสร้างสารประกอบ 62 divergioic acid

เมื่อเปรียบเทียบ ^1H และ ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ F และ alphaltolic acid (ตาราง 10) พบว่าใกล้เคียงกันมาก จากการสืบค้นข้อมูล ^{13}C NMR ของ alphaltolic acid พบว่ายังไม่เคยมีการรายงานไว้อย่างสมบูรณ์ จึงได้ทำการกำหนดค่า chemical shift ของ ^{13}C ของ alphaltolic acid ซึ่งแสดงไว้ในตาราง 10 โดยใช้วิธีเปรียบเทียบข้อมูล ^{13}C กับสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ได้แก่ divergioic acid และ betulinic acid ในตัวทำละลายเดียวกัน และทำการยืนยันค่าที่ได้ด้วย 2D NMR โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HMBC

ข้อมูล HMBC (ตาราง 11) ของสารประกอบ F พบความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง H-2 กับ C-3 ; H-3 กับ C-1, C-2, C-4, C-23 และ C-24 ; methylene proton (H-29) ของหมู่ isopropenyl กับ C-19, C-20 และ C-30 ; H-19 กับ C-18, C-20, C-21, C-29 และ C-30

จากข้อมูลข้างต้น และข้อมูล mp 287-290 °C (d) (mp 294-298 °C, Yaguchi, et al. 1978 : 1798-1802) และค่า R_f ของสารประกอบ F (R_f 0.33 ใน 4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) แสดงความเป็นขั้วสูงกว่า betulinic acid (R_f 0.36 ใน 2% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) จึงสรุปได้ว่าสารประกอบ F มีโครงสร้างเป็น $2\alpha,3\beta$ -dihydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid หรือ alphaltolic acid

alphaltolic acid เป็นสารประกอบ triterpene ที่มีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* เช่น พบในส่วนใบของ *Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam. (Sharma & Kumar. 1982 : 809-810), ผลของ *Z. jujuba* Mill. (Yaki, et al. 1978 : 1798-1802 ; 3075-3079) นอกจากนี้ยังพบใน พืชชนิดอื่น เช่นพบในเปลือกต้นของ *Myrica rubra* SIEB. ET Zucc (Myricaceae) (Yaguchi, Sakurai & Nagai. 1988 : 1419-1424)



ภาพประกอบ 13 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ F

ตาราง 10 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ aliphatic acid (32) และสารประกอบ F และ
ข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ F

ตำแหน่ง	aliphatic acid ^a		สารประกอบ F			
	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H	DEPT 90	DEPT 135
1	ไม่ได้รายงานไว้		48.2	2.20 (1H, m)		48.2
2	68.8	4.08 (1H, sex, $J = 10.0$, 10.0, 4.0 Hz)	68.9	4.07 (1H, m)	68.9	68.9
3	83.7	3.38 (1H, d, $J = 10.0$ Hz)	83.8	3.38 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)	83.8	83.8
4	ไม่ได้รายงานไว้		39.9 ^b			
5	ไม่ได้รายงานไว้	0.66 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	56.1		56.1	56.1
6	ไม่ได้รายงานไว้		18.8			18.8
7	ไม่ได้รายงานไว้		34.8			34.8
8	ไม่ได้รายงานไว้		41.2			
9	ไม่ได้รายงานไว้		51.0		51.0	51.0
10	ไม่ได้รายงานไว้		38.7 ^b			
11	ไม่ได้รายงานไว้		21.4			21.4
12	ไม่ได้รายงานไว้		26.1			26.1
13	ไม่ได้รายงานไว้		38.6	2.69 (1H, m)	38.6	38.6
14	ไม่ได้รายงานไว้		42.9			
15	ไม่ได้รายงานไว้		30.2			30.2
16	ไม่ได้รายงานไว้		32.9			32.9
17	ไม่ได้รายงานไว้		56.7			
18	ไม่ได้รายงานไว้		49.8		49.8	49.8
19	ไม่ได้รายงานไว้		47.8	3.49 (1H, m)	47.8	47.8
20	151.2		151.3			
21	ไม่ได้รายงานไว้		31.2	2.20 (1H, m, H _a)		31.2
22	ไม่ได้รายงานไว้		37.6	2.20 (1H, m, H _b)		37.6
23	ไม่ได้รายงานไว้	1.06 (3H, s)	29.2	1.22 (3H, s)		29.2
24	ไม่ได้รายงานไว้	0.92 (3H, s)	17.5	1.01 (3H, s)		17.5
25	ไม่ได้รายงานไว้	1.06 (3H, s)	17.7	0.87 (3H, s)		17.7
26	ไม่ได้รายงานไว้	1.06 (3H, s)	16.5	1.03 (3H, s)		16.5
27	ไม่ได้รายงานไว้	1.06 (3H, s)	14.9	1.03 (3H, s)		14.9
28	178.7		179.1			
29	109.9	4.77 (1H, d like) 4.92 (1H, d like)	110.0	4.75 (1H, br s) 4.90 (1H, br s)		110.0
30	ไม่ได้รายงานไว้	1.79 (3H, s)	19.5	1.76 (3H, s)		19.5

บันทึกใน pyridine- d_5

^a Yaguchi, et al. 1988 : 1419-1424

^b ภายใต้เครื่องหมายเดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กันได้

ตาราง 11 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ F

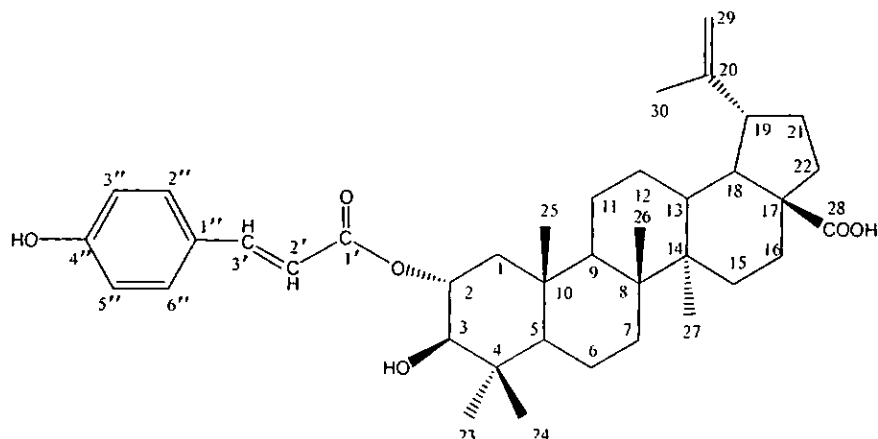
ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
2	4.07 (1H, m)	H-3	C-2	C-3
3	3.38 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)	H-2	C-3	C-1, C-2, C-4, C-23, C-24
13	2.69 (1H, m)		C-13	C-18
19	3.49 (1H, m)		C-19	C-18, C-20, C-21, C-29, C-30
23	1.22 (3H, s)		C-23	C-3, C-4, C-5, C-24
24	1.01 (3H, s)		C-24	C-3, C-4, C-5, C-23
25	0.87 (3H, s)		C-25	C-1, C-5, C-9, C-10
26	1.03 (3H, s)		C-26	C-7, C-8, C-9, C-14
27	1.03 (3H, s)		C-27	C-8, C-14
29	4.75 (1H, br s) 4.90 (1H, br s)	H-30	C-29	C-19, C-20, C-30
30	1.76 (3H, s)	H-29	C-30	C-19, C-20, C-29

^a proton-proton correlation

^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

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

สารประกอบ D



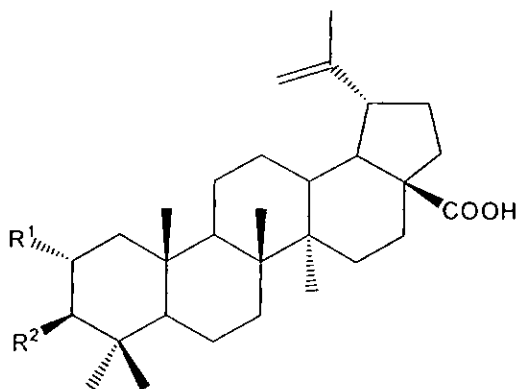
สารประกอบ D เป็นของแข็งสีขาว มีค่า R_f 0.37 (4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) มีความเป็นขั้วต่ำกว่า aliphatic acid (R_f 0.33 ใน 4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) ให้สีม่วงน้ำเงินกับ anisaldehyde-sulphuric reagent จาก IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืด O-H ของหมู่ carboxylic acid ที่ 2800-3500, O-H ของหมู่ alcohol ที่ 3425, C=O ที่ 1705 และหมู่ α,β -unsaturated carbonyl ester ที่ 1686 และ 1606 cm^{-1} และแสดงแถบการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ 311 nm

ข้อมูล ^{13}C NMR, DEPT ของสารประกอบ D (บันทึกใน 5% pyridine- d_5 in CDCl_3) (ตาราง 12) พบสัญญาณทั้งหมด 37 สัญญาณของ 39 คาร์บอน ซึ่งเป็นของ methyl carbon 6 สัญญาณที่ δ 14.5, δ 15.9, δ 16.4, δ 17.0, δ 19.2 และ δ 28.3 ; ของ methylene carbon 10 สัญญาณที่ δ 18.1, δ 20.9, δ 25.3, δ 29.6, δ 30.6, δ 34.1, δ 37.1, δ 42.4, δ 44.1 และ δ 109.2 ; ของ methine carbon 11 สัญญาณที่ δ 38.0, δ 46.8, δ 49.2, δ 50.4, δ 55.2, δ 73.3, δ 80.5, δ 114.5, δ 116.0, δ 129.8 และ δ 144.8 ; และของ quaternary carbon 10 สัญญาณที่ δ 38.4, δ 39.7, δ 40.6, δ 42.4, δ 56.1, δ 125.5, δ 150.7, δ 160.2, δ 167.7 และ δ 178.9

ข้อมูล ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, COSY และ HMQC (บันทึกใน 5% pyridine- d_5 in CDCl_3) (ตาราง 12 และ 13) พบสัญญาณที่สำคัญคือ สัญญาณ aromatic proton แบบ AB ที่ δ_{H} 6.88 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), δ_{C} 116.0 และ δ_{H} 7.36 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), δ_{C} 129.8 แสดงว่าสารประกอบ D มี *p*-disubstituted benzene พบสัญญาณของ *trans*-conjugated olefinic proton ที่ 6.20 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), δ_{C} 114.5 และ δ_{H} 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), δ_{C} 144.8 นอกจากนี้ยังพบสัญญาณ lupane triterpene ที่คล้ายกับ aliphatic acid (32) (ตาราง 10) คือพบ carbinol proton ที่ δ_{H} 3.28 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), δ_{C} 80.5 ; methine proton ที่ δ_{H} 5.08 (1H, m), δ_{C} 73.3 ; หมู่ isopropenyl โดยมีสัญญาณ vinylic proton ที่ δ_{H} 4.58 (1H,

br s) และ δ_H 4.74 (1H, br s), δ_C 109.2 ; methyl proton ที่ δ_H 1.68 (3H, s), δ_C 19.2 และของ quaternary carbon ที่ δ_C 150.7 และสัญญาณของหมู่ methyl 5 หมู่ที่ δ_H 0.88 (3H, s), δ_C 16.4 ; δ_H 0.97 (3H, s), δ_C 15.9 ; δ_H 0.97 (3H, s), δ_C 17.0 ; δ_H 0.99 (3H, s), δ_C 14.5 และ δ_H 1.07 (3H, s), δ_C 28.3

จากข้อมูลดังกล่าวนี้ สารประกอบ D น่าจะมีโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ aliphatic acid เมื่อสืบค้นข้อมูลของผู้ที่มีรายงานไว้แล้ว พบว่า ยากิ และคณะ (Yagi, et al. 1978 : 1798-1802) สามารถแยกสารอนุพันธ์ของ aliphatic acid คือ 3-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid (39) 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid (40) และ 3-O-*cis-p*-coumaroyl aliphatic acid (41) จากผลของ *Z. jujuba* Mill. ต่อมา ลี, ลิน และ หลิว (Lee, Lin & Liu. 1996 : 847-851) พบ 2-O-protocatechuoyl aliphatic acid (54) และ 2 α -hydroxypyraecenic acid (55) จากส่วนรากของ *Z. jujuba* Mill.



- 39 3-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid : R¹ = OH, R² = -O₂C-CH=CH-C₆H₄OH
 40 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid : R¹ = -O₂C-CH=CH-C₆H₄OH, R² = OH
 41 3-O-*cis-p*-coumaroyl aliphatic acid : R¹ = OH, R² = -O₂C-CH=CH-C₆H₄OH
 54 2-O-protocatechuoyl aliphatic acid : R¹ = -O₂C-C₆H₃(OH)₂, R² = OH
 55 2 α -hydroxypyraecenic acid : R¹ = OH, R² = -O₂C-CH=CH-C₆H₃(OH)₂

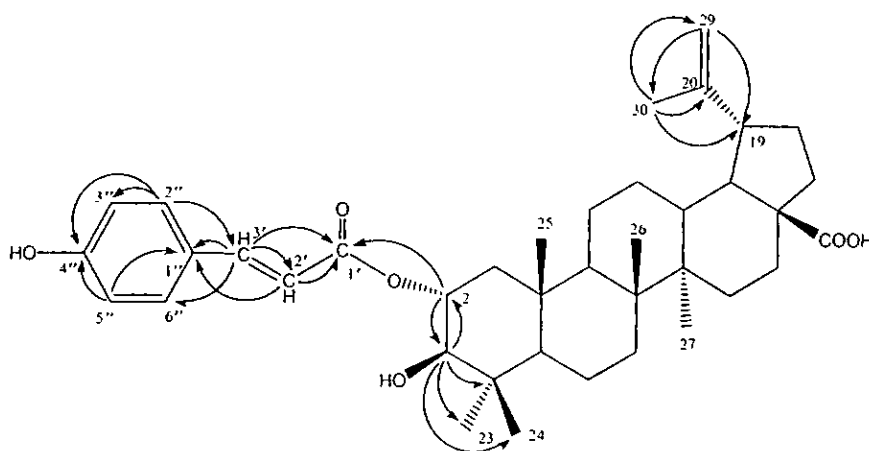
ในการวิเคราะห์ข้อมูล ¹H NMR (ตาราง 12) พบว่าสารประกอบ D น่าจะมีโครงสร้างเป็น 40 เนื่องจากพบ olefinic proton มีค่า $J = 15.9$ Hz แสดงว่าอยู่ในตำแหน่ง *trans* กัน เมื่อเปรียบเทียบ ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ D และ 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid (ตาราง 12) พบว่าใกล้เคียงกันมาก และปรากฏว่าไม่เคยมีการรายงาน ¹³C NMR ของ 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid จึงได้กำหนดข้อมูล ¹³C NMR

โดยใช้การเปรียบเทียบกับโครงสร้างของสารอื่นที่ใกล้เคียงกันและใช้เทคนิค 2D NMR โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HMBC ซึ่งแสดงไว้ในตาราง 12

ข้อมูล HMBC (ตาราง 13) ยืนยันโครงสร้างของสารประกอบ D โดยพบความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง H-2 กับ C-3, C-1' ; H-3 กับ C-2, C-4, C-23 และ C-24 ; H-3' กับ C-1', C-2', C-1'' และ C-2'',6'' ; H-3'',5'' กับ C-1'' และ C-4'' ; H-2'',6'' กับ C-3', C-3'',5'' และ C-4'' ; H-29 ของหมู่ isopropenyl กับ C-19 และ C-30 ; H-19 กับ C-21

นอกจากนี้ได้ทำการเทียบค่า mp 284-285 °C (d) (mp 279-280 °C, Yagi, et al. 1978 : 1798-1802) และ HR MS พบ m/z ที่ 617.3842 [M-H]⁻ (คำนวณสำหรับ C₃₉H₅₄O₆ 617.3841)

จากข้อมูลข้างต้น สรุปได้ว่าสารประกอบ D มีโครงสร้างเป็น 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid ซึ่งมีรายงานการพบจากผลของ *Z. jujuba* Mill. (Yagi, et al. 1978 : 1798-1802)



ภาพประกอบ 14 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ D

ตาราง 12 ข้อมูล ^1H NMR ของ 2-O-*trans-p*-coumaroyl aliphatic acid (40) และสารประกอบ D และข้อมูล ^{13}C NMR DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	2-O- <i>trans-p</i> -coumaroyl aliphatic acid ^a		สารประกอบ D				
	δ_{H}	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$	DEPT 90	DEPT 135
1		45.0		44.1			44.1
2	5.16 (1H, sex, $J = 10, 10, 4$ Hz)	73.8	5.61 (1H, m)	73.3	5.08 (1H, m)	73.3	73.3
3	3.33 (1H, d, $J = 10$ Hz)	79.8	3.64 (1H, d, $J = 9.9$ Hz)	80.5	3.28 (1H, d, $J = 10.2$ Hz)	80.5	80.5
4		40.5		39.7			
5		55.7		55.2		55.2	55.2
6		18.7		18.1			18.1
7		34.6		34.1			34.1
8		41.1		40.6			
9		50.8		50.4		50.4	50.4
10		38.8		38.4			
11		21.3		20.9			20.9
12		26.0		25.3			25.3
13		38.6		38.0		38.0	38.0
14		42.9		42.4			
15		30.2		29.6			29.6
16		32.8		32.4			42.4
17		56.5		56.1			
18		49.8		49.2		49.2	49.2
19	3.20 (1H, m)	47.7	3.50 (1H, m)	46.8	3.13 (1H, m)	46.8	46.8
20		151.3		150.7			
21		31.1		30.6			30.6
22		37.6		37.1			37.1
23	1.00 (3H, s)	29.1	1.27 (3H, s)	28.3	1.07 (3H, s)		28.3
24	0.82 (3H, s)	17.4	1.08 (3H, s) ^d	16.4	0.88 (3H, s)		16.4
25	0.89 (3H, s)	17.4	0.97 (3H, s) ^d	17.0	0.97 (3H, s) ^e		17.0
26	0.89 (3H, s)	16.3	1.00 (3H, s)	15.9	0.97 (3H, s) ^e		15.9
27	0.97 (3H, s)	14.8	1.05 (3H, s)	14.5	0.99 (3H, s)		14.5
28		178.8		178.9			
29	4.57 (1H, d, $J = 2$ Hz) 4.74 (1H, d, $J = 2$ Hz)	110.0	4.78 (1H, br s) 4.93 (1H, br s)	109.2	4.58 (1H, br s) 4.74 (1H, br s)		109.2
30	1.75 (3H, s)	19.4	1.78 (3H, s)	19.2	1.68 (3H, s)		19.2
1'		167.5		167.7			
2'	6.19 (1H, d, $J = 16$ Hz)	116.0	6.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	114.5	6.20 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	114.5	114.5
3'	7.56 (1H, d, $J = 16$ Hz)	144.7	8.01 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	144.8	7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	144.8	144.8
1''		126.2		125.5			
2'', 6''	7.29 (2H, d, $J = 8$ Hz)	130.5	7.54 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)	129.8	7.36 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)	129.8	129.8
3'', 5''	6.89 (2H, d, $J = 8$ Hz)	116.8	7.14 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)	116.0	6.88 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)	116.0	116.0
4''		161.4		160.2			

^a บันทึกใน pyridine- d_5 in CDCl_3 (Yaki, et al. 1978 : 1798-1802)

^b บันทึกใน pyridine- d_5

^c บันทึกใน 5% pyridine- d_5 in CDCl_3

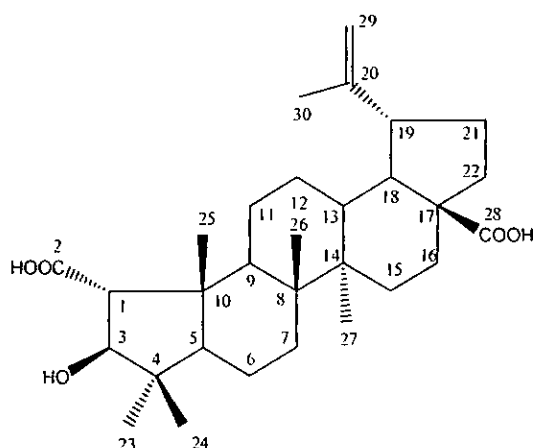
^d ภายได้เครื่องหมายเดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กันได้

ตาราง 13 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
2	5.08 (1H, m)		C-2	C-3, C-1'
3	3.28 (1H, d, $J = 10.2$ Hz)		C-3	C-2 C-4, C-23, C-24
19	3.13 (1H, m)		C-19	C-21
23	1.07 (3H, s)		C-23	C-3, C-4, C-5, C-24
24	0.88 (3H, s)		C-24	C-3, C-4, C-5, C-23
25	0.97 (3H, s)		C-25	C-1, C-5, C-9, C-10
26	0.97 (3H, s)		C-26	C-7, C-8, C-9, C-14
27	0.99 (3H, s)		C-27	C-8, C-13, C-14, C-15
29	4.58 (1H, br s) 4.74 (1H, br s)	H-30	C-29	C-19, C-30
30	1.68 (3H, s)	H-29	C-30	C-19, C-20, C-29
2'	6.20 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, <i>trans</i> -)	H-3'	C-2'	C-1', C-1''
3'	7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, <i>trans</i> -)	H-2'	C-3'	C-1', C-2', C-1'', C-2'', 6''
2'', 6''	7.36 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)	H-3'', 5''	C-2'', 6''	C-3', C-4'', C-3'', 5''
3'', 5''	6.88 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)	H-2'', 6''	C-3'', 5''	C-1'', C-4''

บันทึกใน 5% pyridine- d_5 in CDCl_3 ^a proton-proton correlation^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation^c long range heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

สารประกอบ G



สารประกอบ G เป็นของแข็งสีขาว ให้สีม่วงน้ำเงินกับ anisaldehyde-sulphuric reagent จาก IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืด O-H ของ carboxylic acid ที่ 2500-3500, หมู่ C=O ที่ 1689, หมู่ C=C ที่ 1638 cm^{-1}

จากข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR (ตาราง 15) พบว่าสารประกอบ G มีโครงสร้างเป็น lupane triterpene เช่นเดียวกัน นั่นคือมีหมู่ isopropenyl โดยพบสัญญาณ vinylic proton ที่ δ_{H} 4.56 (1H, br s) และ δ_{H} 4.70 (1H, br s), δ_{C} 109.2 ; methyl ที่ δ_{H} 1.65 (3H, s), δ_{C} 18.9 และ quaternary carbon ที่ δ_{C} 150.4 พบ methine proton ที่ δ_{H} 2.98 (1H, m), δ_{C} 46.8 พบสัญญาณของ carboxylic acid 2 หมู่ที่ δ_{C} 177.4 และ δ_{C} 179.0 ข้อมูล COSY spectrum พบ methine proton แบบ singlet 2 ตัวที่ couple กันที่ δ_{H} 4.13 (1H, br s), δ_{C} 84.6 และ δ_{H} 2.52 (1H, br s), δ_{C} 65.4

ข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT ประกอบด้วย 30 คาร์บอนดังนี้ 6 methyl carbon ที่ δ 14.5, 16.2, 18.5, 18.9, 19.1 และ 30.7 ; 9 methylene carbon ที่ δ 18.4, 23.4, 25.3, 29.7, 30.5, 32.2, 33.8, 37.0 และ 109.2 ; 7 methine carbon ที่ δ 38.5, 44.2, 46.8, 49.0, 56.5, 65.4 และ 84.6 ; และ 8 quaternary carbon ที่ δ 41.5, 42.8, 43.1, 49.3, 56.0, 150.4, 177.4 และ 179.0

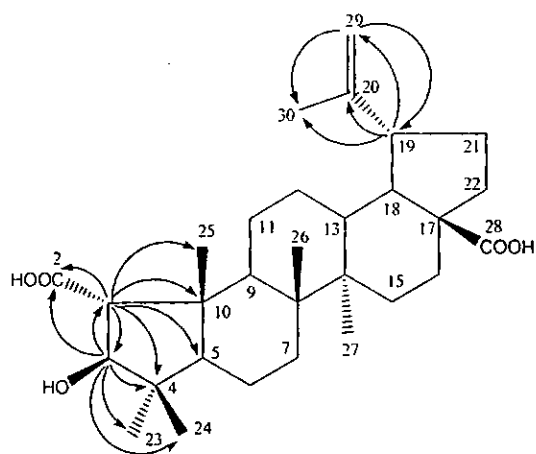
เมื่อเปรียบเทียบข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT ของสารประกอบ G กับของ betulinic acid (3) (ตาราง 14) พบว่ามีส่วนของวง B-E ที่คล้ายคลึงกัน ต่างกันที่สัญญาณคาร์บอนของวง A จึงเป็นไปได้ที่สารประกอบ G น่าจะเป็น triterpene ชนิดที่มีวง A เป็น five-membered ring (Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) และมีหมู่ carboxylic acid อยู่ที่วงด้วย และจากงานวิจัยของกลุ่มผู้วิจัยเคยพบ ceanothic acid (34) ใน *Z. oenoplia* (L.) Mill. (ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545 : 50) ซึ่งเป็นสารประกอบ triterpene ชนิดที่มีวง A เป็น five-membered ring และมีหมู่

carboxylic acid อยู่ทั้งวงด้วย เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของสารประกอบ **G** กับ ceanothic acid ในตัวทำละลายเดียวกัน พบว่าเหมือนกัน (ตาราง 15)

ข้อมูล HMBC (ตาราง 16) ยืนยันโครงสร้างของสารประกอบ **G** โดยพบความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง H-1 กับ C-2, C-3, C-4, C-5, C-10 และ C-25 ; H-3 กับ C-1, C-2, C-4, C-5, C-10, C-23 และ C-24 นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง methylene proton (H-29) ของหมู่ isopropenyl กับ C-19 และ C-30 ; H-19 กับ C-20, C-29 และ C-30

สารประกอบ **G** มีค่า mp 325-329 °C (d) (mp 328-331 °C, Kundu, et al. 1989 : 3155-3158) และค่า R_f ของสารประกอบ **G** (R_f 0.31 ใน 4% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) กับ authentic ceanothic acid พบว่าเท่ากัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สารประกอบ **G** ที่มีโครงสร้างเป็น 2α -carboxy- 3β -hydroxy-nor-A(1)-lup-20(29)-en-28-oic acid หรือ ceanothic acid

ceanothic acid เป็นสารประกอบ triterpene ชนิดที่วง A เป็น five-membered ring ซึ่งมีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* หลายชนิดเช่น ส่วนรากของ *Z. oenoplia* (L.) Mill. (ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545 : 50), ส่วนรากของ *Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam. (Kundu, et al. 1989 : 3155-3158), รากของ *Z. jujuba* Mill. (Lee, Lin & Chen. 1995 : 511-519), ส่วนเหนือดินของ *Z. spina* Cristi (Ikram and Tomlinson. 1976 : 289-290) นอกจากนี้ยังพบในพืชสกุลอื่น เช่นพบในเปลือกต้นของ *Paliurus ramosissimus* Poir (Rhamnaceae) (Lee, Su & Liu. 1991 : 615-618)



ภาพประกอบ 15 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ **G**

ตาราง 14 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ betulinic acid (3) และสารประกอบ G และ
ข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ G

ตำแหน่ง	betulinic acid ^a		สารประกอบ G ^b			
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	DEPT 90	DEPT 135
1	38.7		65.4	2.52 (1H, s)	65.4	65.4
2	27.4		177.4			
3	79.0	3.16 (1H, dd, $J = 10.8, 5.1$ Hz)	84.6	4.13 (1H, s)	84.6	84.6
4	38.0		43.1			
5	55.3	0.66 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	56.5		56.5	56.5
6	18.3		18.4			18.4
7	34.3		33.8			33.8
8	40.7		42.8			
9	50.5		44.2		44.2	44.2
10	37.2		49.3			
11	20.8		23.4			23.4
12	25.5		25.3			25.3
13	38.4		38.5	2.22 (1H, m)	38.5	38.5
14	42.4		41.5			
15	30.5		29.7			29.7
16	32.1		32.2			32.2
17	56.3		56.0			
18	49.3		49.0	1.48 (1H, m)	49.0	49.0
19	46.9	2.99 (1H, m)	46.8	2.98 (1H, m)	46.8	46.8
20	150.4		150.4			
21	29.7		30.5			30.5
22	37.0		37.0			37.0
23	28.0	0.94 (3H, s)	30.7	1.09 (3H, s)		30.7
24	15.3	0.73 (3H, s)	19.1	0.91 (3H, s)		19.1
25	16.1	0.80 (3H, s)	18.5	1.06 (3H, s)		18.5
26	16.0	0.91 (3H, s)	16.2	0.94 (3H, s) ^c		16.2
27	14.7	0.95 (3H, s)	14.5	0.95 (3H, s) ^c		14.5
28	180.0		179.0			
29	109.7	4.58 (1H, br s) 4.72 (1H, br s)	109.2	4.56 (1H, br s) 4.70 (1H, br s)		109.2
30	19.4	1.67 (3H, s)	18.9	1.65 (3H, s)		18.9

^a บันทึกใน CDCl_3 (นิวซ์ฮัย อุณหภูมิ: 2545 : 42)

^b บันทึกใน 5% methanol- d_4 in CDCl_3 .

^c ภายได้เครื่องหมายเดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กัน

ตาราง 15 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ ceanothic acid (34) และสารประกอบ G และ
ข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ G

ตำแหน่ง	ceanothic acid				สารประกอบ G ^c			
	δ_c^a	δ_H^a	δ_c^b	δ_H^b	δ_c	δ_H	DEPT 90	DEPT 135
1	66.2	2.46 (1H, s)	67.2	3.18 (1H, s)	65.4	2.52 (1H, s)	65.4	65.4
2	178.3		177.9		177.4			
3	85.2	4.07 (1H, s)	85.0	4.79 (1H, s)	84.6	4.13 (1H, s)	84.6	84.6
4	43.8		43.9		43.1			
5	57.2		57.2		56.5		56.5	56.5
6	19.1		19.2		18.4			18.4
7	34.6		34.9		33.8			33.8
8	42.2		43.7		42.8			
9	45.0		45.2		44.2		44.2	44.2
10	49.8		49.7		49.3			
11	24.1		24.4		23.4			23.4
12	26.1		26.4		25.3			25.3
13	39.3	2.18 (m)	39.3	2.76 (1H, dt, J = 11.3, 2.5 Hz)	38.5	2.22 (1H, m)	38.5	38.5
14	43.5		42.3		41.5			
15	30.5		30.7		29.7			29.7
16	32.9		33.1		32.2			32.2
17	56.8		56.8		56.0			
18	49.8	1.48 (m)	50.1	1.67 (1H, t, J = 11.3 Hz)	49.0	1.48 (1H, m)	49.0	49.0
19	47.6	2.96 (m)	47.7	3.49 (1H, m)	46.8	2.98 (1H, m)	46.8	46.8
20	151.2		152.4		150.4			
21	31.2		31.5		30.5			30.5
22	37.7		37.6		37.0			37.0
23	31.2	1.04 (3H, s)	31.6	1.42 (3H, s)	30.7	1.09 (3H, s)		30.7
24	19.6	0.85 (3H, s)	20.1	1.27 (3H, s)	19.1	0.91 (3H, s)		19.1
25	19.1	1.02 (3H, s)	19.0	1.37 (3H, s)	18.5	1.06 (3H, s)		18.5
26	16.8	0.91 (3H, s)	17.1	1.14 (3H, s)	16.2	0.94 (3H, s) ^d		16.2
27	15.1	0.92 (3H, s)	15.2	1.03 (3H, s)	14.5	0.95 (3H, s) ^d		14.5
28	179.7		178.7		179.0			
29	109.9	4.51 (1H, br s) 4.65 (1H, br s)	109.6	4.64 (1H, br s) 4.85 (1H, br s)	109.2	4.56 (1H, br s) 4.70 (1H, br s)		109.2
30	19.5	1.61 (3H, s)	19.7	1.60 (3H, s)	18.9	1.65 (3H, s)		18.9

^a บันทึกใน methanol- d_4 in CDCl_3 (ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545 : 55)

^b บันทึกใน pyridine- d_5 (Lee, Su & Liu. 1991 : 615-618)

^c บันทึกใน 5% methanol- d_4 in CDCl_3

^d ภายใต้อุปกรณ์เดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กัน

ตาราง 16 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ G

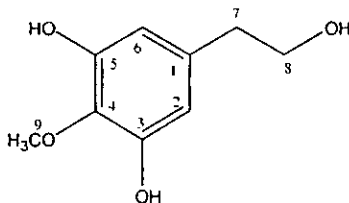
ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
1	2.52 (1H, s)		C-1	C-2, C-3, C-4, C-5, C-10, C-25
3	4.13 (1H, s)		C-3	C-1, C-2, C-4, C-5, C-10, C-23, C-24
13	2.22 (1H, m)		C-13	C-17, C-18
19	2.98 (1H, m)		C-19	C-20, C-29, C-30
23	1.09 (3H, s)		C-23	C-3, C-4, C-5, C-24
24	0.91 (3H, s)		C-24	C-3, C-4, C-5, C-23
25	1.06 (3H, s)		C-25	C-1, C-5, C-9, C-10
26	0.94 (3H, s)		C-26	C-7, C-8, C-9, C-14
27	0.95 (3H, s)		C-27	C-8, C-13, C-14, C-15
29	4.56 (1H, br s)	H-30	C-29	C-19, C-30
	4.70 (1H, br s)			
30	1.65 (3H, s)	H-29	C-30	C-19, C-20, C-29

^a proton-proton correlation

^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

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

สารประกอบ E

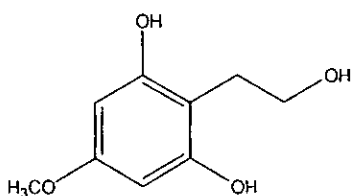


สารประกอบ E เป็นของแข็งสีขาว R_f 0.22 (6% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) ให้สีส้มเข้มกับ anisaldehyde-sulphuric reagent EI MS แสดง m/z ที่ 184 $[M]^+$ และ base peak ที่ 153 IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืดของ O-H ที่ 3433 และ 3345 (broad), หมู่ C=C ที่ 1603 cm^{-1} และแถบการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ 269 nm

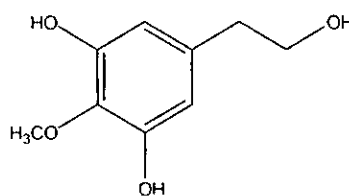
ข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT พบสัญญาณของ 9 คาร์บอน 7 สัญญาณ ซึ่งเป็นของ 2 methylene carbon, methoxyl หนึ่งหมู่ และ aromatic methine carbon ที่ δ_c 109.2 และ 3 quaternary carbon ที่ δ_c 135.2, 136.2 และ 151.5

ข้อมูล ^1H , ^{13}C NMR, DEPT, COSY และ HMQC (ตาราง 17 และ 18) พบสัญญาณของหมู่ methoxyl หนึ่งหมู่ที่ต่ออยู่กับวง aromatic ที่ δ_H 3.89 (3H, s), δ_c 60.7 พบ proton ในลักษณะ triplet 2 ชุดที่ couple กันที่ δ_H 2.76 (2H, t, $J = 7.1\text{ Hz}$), δ_c 40.0 และที่ δ_H 3.82 (2H, t, $J = 7.1\text{ Hz}$), δ_c 64.2 ซึ่งน่าจะเป็นสัญญาณของ benzylic methylene และ alcoholic methylene ตามลำดับ และพบ aromatic proton ที่ symmetry กันในวง aromatic ที่ δ_H 6.37 (2H, s), δ_c 109.2

จากข้อมูลข้างต้น สารประกอบ E น่าจะเป็นสารประกอบ phenolic ประเภท tetrasubstituted ที่มีหมู่แทนที่ทำให้เกิดความสมมาตรของโมเลกุลได้ ดังนั้นสารประกอบ E น่าจะมีโครงสร้างที่เป็น a หรือ b



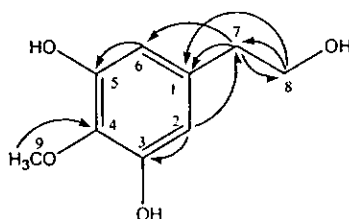
a



b

ในการวิเคราะห์ข้อมูล HMBC (ตาราง 18) พบสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง aromatic proton (δ_H 6.37) กับ benzylic methylene (δ_c 40.0) และ quaternary carbon (δ_c 135.2 และ δ_c 136.2) นอกจากนี้ยังพบการ couple กันระหว่าง benzylic proton (δ_H 2.76) กับ alcoholic methylene (δ_c 64.2) และ aromatic methine carbon (δ_c 109.2) ดังนั้นสารประกอบ E น่าจะมีโครงสร้างเป็น b

จากการสืบค้นข้อมูลรายงานการพบสารประกอบ phenolic ที่มีข้อมูลใกล้เคียงกับสารประกอบ E พบว่ามีรายงานการพบ alphitol ในเปลือกต้นของ *Alphitonia zizyphoides* (Rhamnaceae) (Dunstan, et al. 1998 : 495-497) ซึ่งมีโครงสร้างเหมือนสารประกอบ E จึงทำการเปรียบเทียบข้อมูล IR, UV, ^1H , ^{13}C NMR และ MS กับสารประกอบ E พบว่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นสารประกอบ E จึงมีโครงสร้างเป็น 3,5-dihydroxy-4-methoxy phenethyl alcohol หรือ alphitol ซึ่งเป็นสารประกอบประเภท phenolic ที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบในพืชสกุล *Ziziphus* มาก่อน



ภาพประกอบ 16 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ E

ตาราง 17 ข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ alphitol และสารประกอบ E และข้อมูล DEPT 90 และ DEPT 135 ของสารประกอบ E

ตำแหน่ง	alphitol ^a		สารประกอบ E			
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	DEPT 90	DEPT 135
1	136.2		136.2			
2,6	109.3	6.23 (2H, s)	109.2	6.37 (2H, s)	109.2	109.2
3,5	151.5		151.4		78.7	78.7
4	135.2		135.2			
7	40.1	2.62 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)	40.0	2.76 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)		40.0
8	64.3	3.67 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)	64.2	3.82 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)		64.2
9	60.8	3.75 (2H, s)	60.7	3.89 (2H, s)		60.7

บันทึกใน methanol- d_4

^a Dunstan, et al. 1998 : 495-497

ตาราง 18 ข้อมูล ^1H NMR COSY HMQC และ HMBC ของสารประกอบ E

ตำแหน่ง	^1H NMR	COSY ^a	HMQC ^b	HMBC ^c
2,6	6.37 (2H, s)	H-7	C-2,6	C-3,5, C-7
7	2.76 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)	H-2, H-6, H-8	C-7	C-1, C-2,6, C-8
8	3.82 (2H, t, $J = 7.1$ Hz)	H-7	C-8	C-1, C-7
9	3.89 (2H, s)		C-9	C-4

^a proton-proton correlation

^b 1-bond heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

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

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- เต็ม สมิตินันท์. (2544). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544*.
กรุงเทพฯ : สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- ณัฐชัย อุ่นใจ. (2545). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว (*Zizyphus oenoplia* (Linn.) Mill.). วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.
- นันทวัน บุญยะประกัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2542). *สมุนไพรพื้นบ้าน* (3).
กรุงเทพฯ : ประชาชน
- _____ . (2543). *สมุนไพรพื้นบ้าน* (4). กรุงเทพฯ : ประชาชน
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). *สารานุกรมสมุนไพร*. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- Acharya, S. B. et al. (1988). "Some pharmacological studies on *Zizyphus rugosa* saponin," *Indian J. Pharmacol.* 20(2-4) : 200-202., *Chem. Abstr.* 113 : 34560.
- Aratanechemuge, Y. et al. (2004). "Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells," *Oncology Report.* 11 : 289-292.
- Bhattacharyya, B. & Johri, B. M. (1998). *Flowering Plant : Taxonomy and Phylogeny*.
New Delhi : Narosa Publishing House.
- Cassels, B. K. et al. (1974). "Cyclopeptide alkaloids of *Zizyphus oenoplia*,"
Tetrahedron. 30(15) : 2461-2466.
- Chauhan, J. S. & Srivastava, S. K. (1978). "Chemical investigation of the stem of *Zizyphus mauritiana* (N. O. Rhamnaceae)," *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. A.* 48(1) : 6., *Chem. Abstr.* 90 : 118114.
- Cyong, J.-C. & Hanabusa, K. (1980). "Cyclic adenosine monophosphate in fruits of *Zizyphus jujuba*," *Phytochemistry.* 19 : 2747-2748.
- Devi, S. et al. (1987). "Peptide alkaloids from *Zizyphus* species," *Phytochemistry.* 2(2) : 3374-3375.
- Dunstan, C. A. et al. (1998). "Alphitol, a phenolic substance from *Alphitonia zizyphoides* which inhibits prostaglandin biosynthesis *in vitro*," *Phytochemistry.* 48(3) : 495-497.

- Fukuyama, Y. et al. (1986). "A new neo-lignan, a prostaglandin I₂ inducer from the leaves of *Zizyphus jujuba*," *Planta Med.* (6) : 501-502.
- Gardner, S., Sidisunthorn, P. & Anusarnsunthorn, V. (2000). *A Field Guide to Forest Trees of Northern Thailand*. Bangkok : Chulalongkorn University Book Center.
- Han, B. H. & Park, M. H. (1987). "Sedative activity and the active components of *Zizyphi fructus*," *Arch. Pharmacol Res.* 10(4) : 208-211., *Chem. Abstr.* 109 : 66702.
- Han, B. H., Park, M. H. & Wah, S. T. (1987). "Structure of daechualkaloid A, a new pyrrolidine alkaloid of novel skeleton from *Zizyphus jujuba* var. *inermis*," *Tetrahedron Lett.* 28(34) : 3957-3958.
- Hess, S. C. & Monache, F. D. (1999). "Divergioic acid, a triterpene from *Vochysia divergens*," *J. Braz. Chem. Soc.* 10(2) : 104-106.
- Huang, R.-L. et al. (2001). "Cytotoxic triterpenes from the fruit of *Zizyphus jujuba*," *Chin. Pharm. J. (Taipei, Taiwan)*. 53(4) : 179-184., *Chem. Abstr.* 136 : 131533.
- Jork, H. et al. (1990). *Thin Layer Chromatography Reagent and Detection Method*. Vol.19 VCH-Vehlag. Weinheim.
- Jossang, A., Zahir, A. & Diakite, D. (1996). "Mauritine J, a cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus mauritiana*," *Phytochemistry*. 42(2) : 565-567.
- Khokhar, I. & Ahmad, A. (1993). "Spectrometric studies on a new 13-membered cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus oenoplia*," *Pak. J. Sci.* 45 : 54-58., *Chem. Abstr.* 122 : 5434.
- Khokhar, I., Ahmed, A. & Kashmiri, M. A. (1994). "Alkaloidal studies of medicinal plants of Pakistan from the root bark of *Zizyphus jujuba* Mill.," *J. Nat. Sci. Math.* 34(1) : 159-163., *Chem. Abstr.* 123 : 29540.
- Khosa, R. L., Meena, P. & Pandey, V. B. (1987). "Chemical studies on *Zizyphus rugosa* (Lam)," *Indian Drugs*. 24(6) : 323., *Chem. Abstr.* 107 : 151198.
- Klochkov, S. G., Kozlovskii, V. I. & Pushin, A. N. (1989). "Isolation and identification from the plant *Zizyphus jujuba* of a trail attractant for termites (*Reticulotermes lucifugus*)," *Khim. Prir. Soedin.* (3) : 416-419., *Chem. Abstr.* 111 : 93946.
- Kundu, A. B. et al. (1989). "Zizyberanalic acid, a pentacyclic triterpenoid of *Zizyphus jujuba*," *Phytochemistry*. 28(11) : 3155-3158.

- Lee, S.-S., Lin, B.-F. & Chen, K. C.-S. (1995). "Chemical constituents from the roots of *Zizyphus Jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu. (II)," *Chin. Pharm. J. (Taipei)*. 47(6) : 511-519., *Chem. Abstr.* 124 : 337822.
- Lee, S.-S., Lin, B.-F. & Liu, K. C. (1996). "Three triterpene esters from *Zizyphus jujuba*," *Phytochemistry*. 43(4) : 847-851.
- Lee, S.-S., Su, W.-C. & Liu, K. C. (1991). "Two new triterpene glucosides from *Paliurus ramosissimus*," *J. Nat. Prod.* 54(2) : 615-618.
- Macías, F. A., Simonet, A. M. & Esteban, M. D. (1994). "Potential allelopathic lupane triterpenes from bioactive fractions of *Melilotus messanensis*," *Phytochemistry*. 36(6) : 1369-1379.
- Mahato, S. B. & Kundu, A. P. (1994). "¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features," *Phytochemistry*. 37(6) : 1517-1575.
- Maurya, S. K. et al. (1995). "Constituents of *Zizyphus oenoplia*," *Pharmazie*. 50(5) : 372., *Chem. Abstr.* 123 : 107751.
- Meiselman, H. L., Halpern, B. P. & Dateo, G. P. (1976). "Reduction of sweetness judgements by extracts from the leaves of *Zizyphus jujuba*," *Physiology & Behavior*. 17 : 313-317.
- Menard, E. L. et al. (1963). "Constituents of *Zizyphus oenoplia*. I. Isolation of the substances," *Helv. Chim. Acta.* 46 : 1801-1811., *Chem. Abstr.* 59 : 62832.
- Mondal, D. N. Kundu, A. B. (1998). "A-nor-triterpenoid from *Zizyphus jujuba*," *J. Indian Chem. Soc.* 75(6) : 384-385., *Chem. Abstr.* 129 : 257724.
- Mutai, C. et al. (2004). "Cytotoxic lupane-type triterpenoids from *Acacia mellifera*," *Phytochemistry*. 65 : 1159-1164.
- Nahar, N. et al. (1997). "Four triterpenoids from the bark of *Zizyphus rugosa* and *Zizyphus oenoplia*," *J. Bangladesh Acad. Sci.* 21(2) : 151-158., *Chem. Abstr.* 128 : 164981.
- Otsuka, H., Ogihara, Y. & Shibata, S. (1974). "Isolation of coclaurine from *Zizyphus jujuba* by droplet counter-current chromatography," *Phytochemistry*. 13(9) : 2016.
- Pandey, V. B. et al. (1988). "A cyclopeptide alkaloid from the bark of *Zizyphus rugosa*," *Phytochemistry*. 27(6) : 1915-1918.
- Peng, W.-H. et al. (2000). "Anxiolytic effect of seed of *Zizyphus jujuba* in mouse models of anxiety," *J. Ethnopharm.* 72 : 435-441.

- Pezzuto, J. M., Dasgupta, T. K. & Kim, Darrick S. H. L. (1998). "Use of betulinic acid derivatives for the treatment and prevention of melanoma," US patent 5869535., *Chem. Abstr.* 130 : 10621.
- Sharma, S. C. & Kumar, R. (1982). "Constituents from leaves of *Zizyphus mauritiana* Lamk," *Pharmazie.* 37(11) : 809-810., *Chem. Abstr.* 98 : 50447.
- Sheu, K.-G. & Lee, C-H. (1996). "Solubilization and physical properties of Sanjoinine-A," *Yakche Hakhoechi.* 26(4) : 257-261., *Chem. Abstr.* 126 : 297570.
- Srivastava, S. K. & Srivastava, S. D. (1979). "Structure of zizogenin, a new sapogenin from *Zizyphus mauritiana*," *Phytochemistry.* 18(10) : 1758-1759.
- Tripathi, M. et al. (2001). "Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus jujuba*," *Fitoterapia.* 72(5) : 507-510.
- Tripathi, Y. C. et al. (1989). "Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus rugosa* bark," *Phytochemistry.* 28(5) :1563-1565.
- Tripathy, Y. C. et al. (1988). "Phytochemical study of *Zizyphus rugosa*," *Fitoterapia.* 59(2) : 158., *Chem. Abstr.* 109 : 187369.
- Tschesche, R. et al. (1974). "Alkaloids from Rhamnaceae. XXVI. Ziziphin-F and -G, new cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus oenoplia*," *Tetrahedron Lett.* 34 : 2941-2944.
- Tschesche, R. et al. (1977). "Hysodricanin-A, mauritin-H, scutianin-F und aralionin-C, vier weitere cyclopeptidalkaloide aus *Zizyphus*, *Scutia* und *Araliorhamnus*," *Phytochemistry.* 16 : 1025-1028.
- Tschesche, R. et al. (1981). "Alkaloids of Rhamnaceae. Part 33," *Pharmazie.* 36(7) : 511., *Chem. Abstr.* 95 : 111757.
- Tschesche, R., Kaussmann, E. U. & Eckhardt, G. (1973). "Alkaloids from Rhamnaceae. XVI. Structure of Zizyphine A," *Tetrahedron Lett.* 28 : 2577-2580.
- Tschesche, R., Wilhelm, H. & Fehlhaber, H. W. (1972). "Alkaloide aus Rhamnaceen, XIV mauritin-A und mauritin-B, zwei peptidalkaloide aus *Zizyphus mauritiana* Lam.," *Tetrahedron Lett.* 26 : 2609-2612.
- Woo, W. S. et al. (1980). "Acylated flavone-C-glycosides from the seeds of *Zizyphu jujuba*," *Phytochemistry.* 19(12) : 2791-2793.
- Yaguchi, Y. et al. (1988). "Constituents of *Myrica rubra*. III. Structures of two glycosides of myricanol," *Chem. Pharm. Bull.* 36(4) : 1419-1424.

- Yagi, A. et al. (1978). "Studies on the constituents of *Zizyphi fructus*. I. Structure of three new *p*-coumaroylates of alphitolic Acid," *Chem. Pharm. Bull.* 26(6) : 1798-1802.
- Yagi, A. et al. (1978). "Studies on the constituents of *Zizyphi fructus*. II. Structure of new *p*-coumaroylates of maslinic Acid," *Chem. Pharm. Bull.* 26(10) : 3075-3079.
- Ziegler, H. L. et al. (2004). "Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth : structure-activity relationships for betulinic acid analogues," *Bioorg. & Med. Chem.* 12 : 119-127.

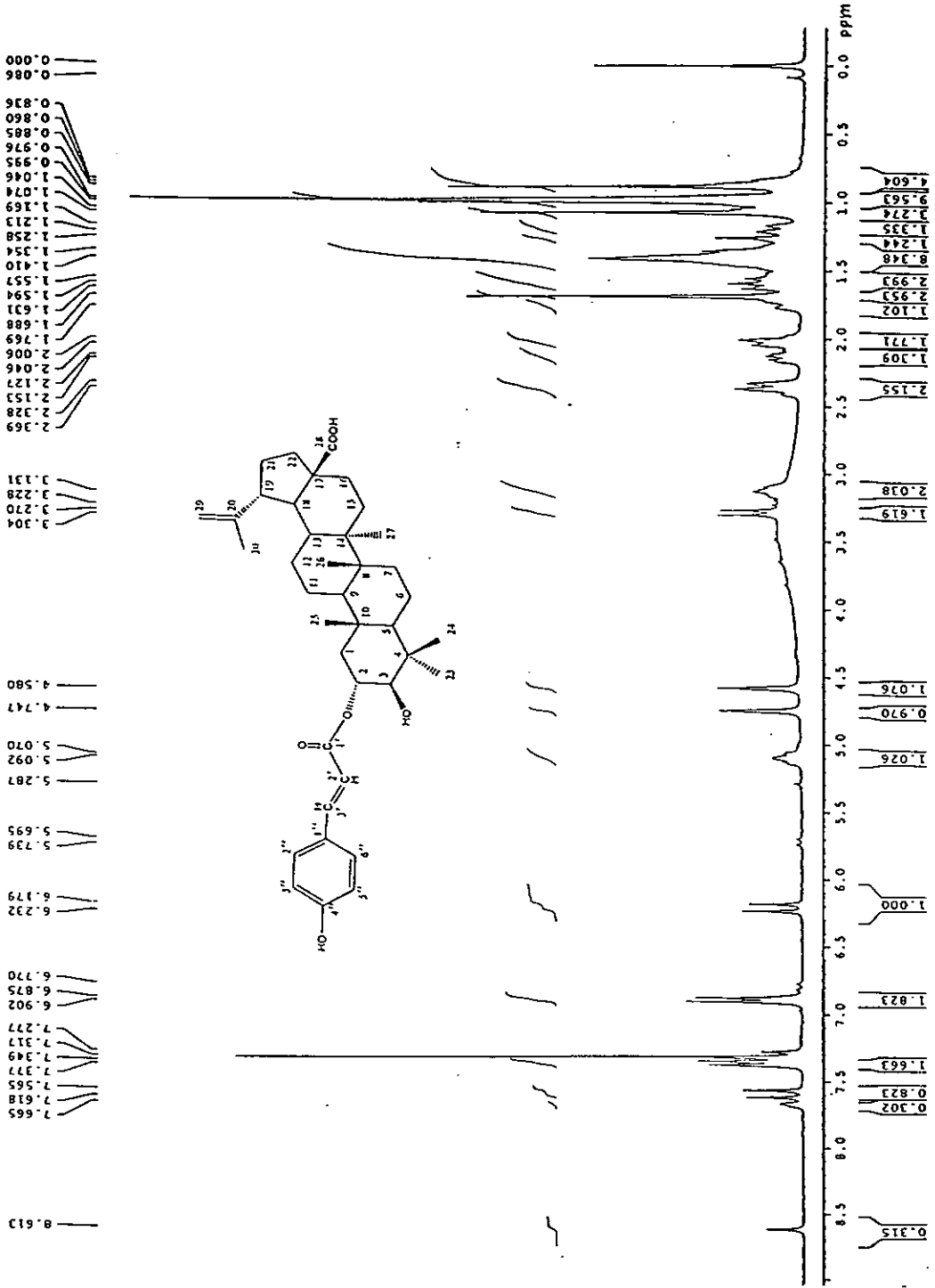
ภาคผนวก

ภาคผนวก

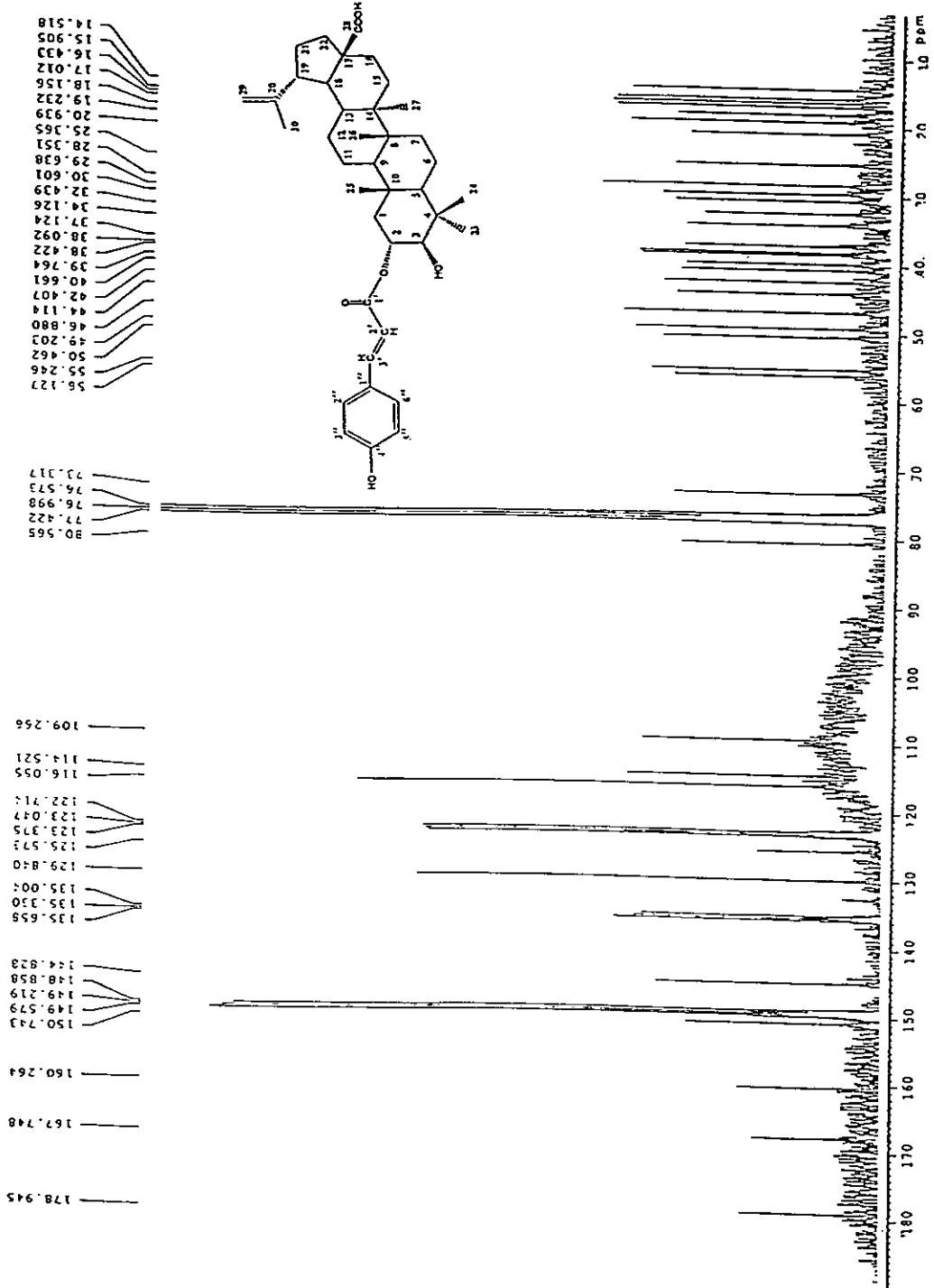
developing reagent (Jork, et al. 1990 : 196) มีส่วนผสมดังนี้

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

เก็บ reagent ที่เตรียมไว้ในขวดสีชา

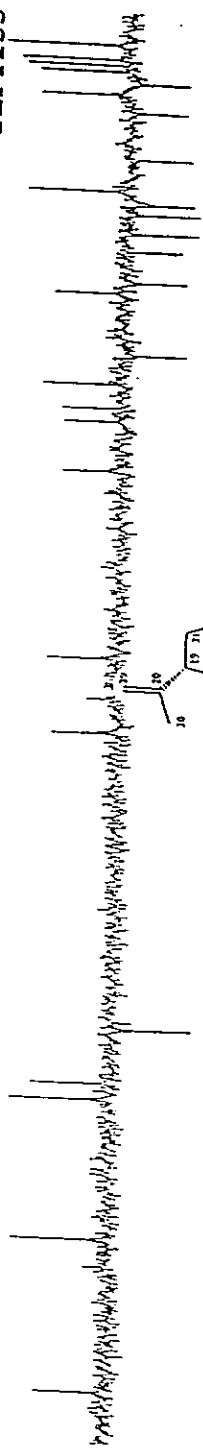


17 ^1H NMR spectrum of compound D (pyridine- d_5 in CDCl_3 , 300 MHz)

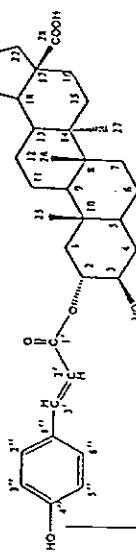
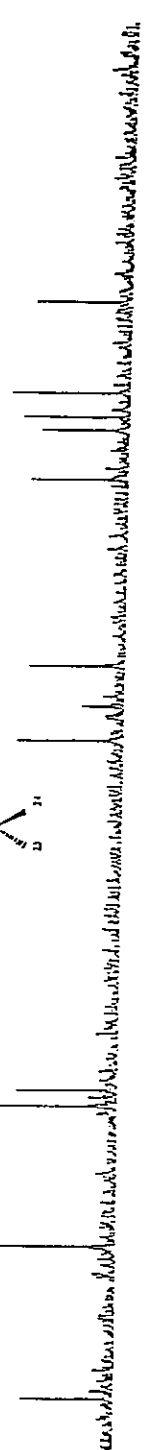


13C NMR spectrum of compound D (pyridine-d₅) in CDCl₃, 75 MHz

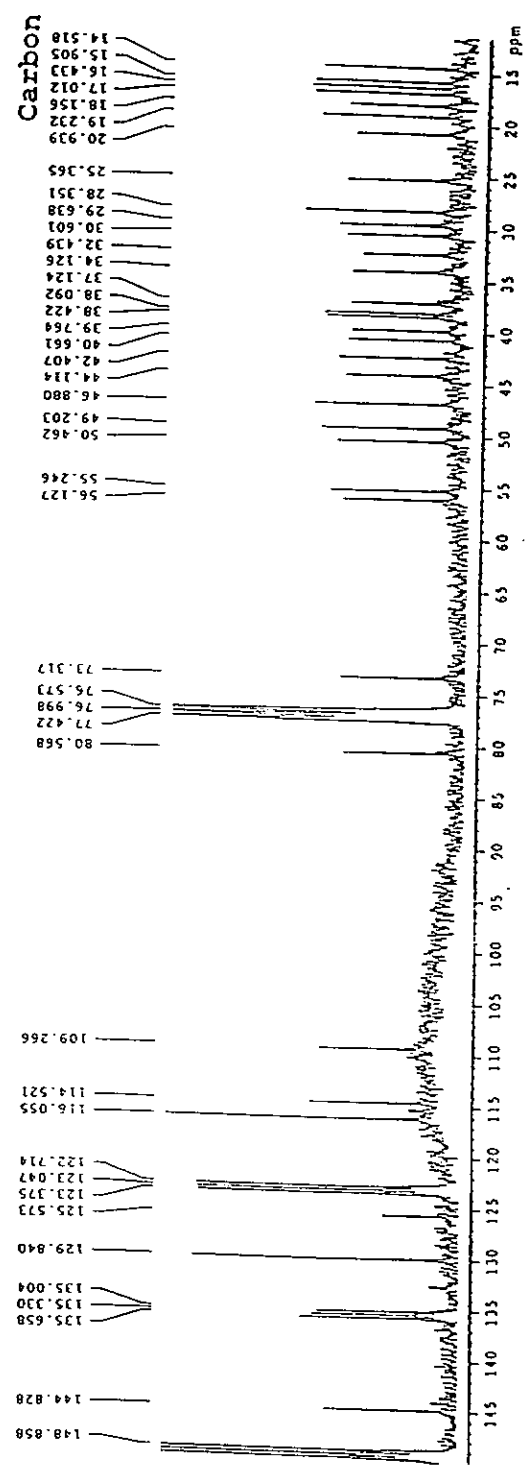
DEPT135



DEPT90



Chemical structure of compound 19, showing carbon numbering (1-31) and functional groups (COOH, HO).



ภาพสเปกตรัม 19 DEPT spectrum ของสาร 19 ใน CDCl₃, 75 MHz

อภิธานศัพท์

อภิธานศัพท์

sex	= sextet
d	= doublet
dd	= doublet of doublet
ddd	= double doublet of doublet
dt	= doublet of triplet
t	= triplet
m	= multiplet
s	= singlet
J	= coupling constant
δ	= chemical shift
c	= concentration
TMS	= tetramethylsilane
CDCl_3	= deuteriochloroform
Methanol- d_4	= deuterated methanol
Pyridine- d_5	= deuterated pyridine
mp	= melting point
Me	= methyl group
$[\alpha]_D$	= optical rotation
m/z	= mass to charge ratio
M^+	= molecular ion
ES MS	= electron spray mass spectrum
EI MS	= electron impact mass spectrum
HR FABMS	= high resolution fast atom bombard mass spectrum
^1H NMR	= Proton Nuclear Magnetic Resonance
^{13}C NMR	= Carbon Nuclear Magnetic Resonance
MHz	= Mega Hertz
COSY	= ^1H -relayed correlated spectroscopy
DEPT	= Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
HMQC	= ^1H -detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

อภิธานศัพท์

HMBC	= Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
FT IR	= Fourier Transform Infrared
UV	= Ultraviolet
λ_{max}	= maximum absorption wave length
ν_{max}	= maximum absorption frequencies
cm^{-1}	= wave number
μg	= microgram
TLC	= thin layer chromatography

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวพนมวรรณ ปานสีทา
วันเดือนปีเกิด	14 ธันวาคม 2522
สถานที่เกิด	น่าน
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	8 ถนนราษฎร์ประสงค์ ต.ในเวียง อ.เมือง จ.น่าน 55000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2540	มัธยมศึกษาตอนปลาย (แผนกวิทยาศาสตร์) จากโรงเรียนนวมินทราชูทิศ มัชฌิม นครสวรรค์
พ.ศ. 2544	การศึกษาระดับบัณฑิต (เคมี) จากมหาวิทยาลัยนเรศวร
พ.ศ. 2547	การศึกษามหาบัณฑิต (เคมี) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ทุนวิจัยที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนและส่งเสริมปริญญาโทพนธ์ระดับปริญญาโท ของทบวงมหาวิทยาลัย