

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซน และเมทานอลจากรากกล้วยเต่า
Polyalthia debilis (Pierre) FINET & GAGNEP.

ปริญญานิพนธ์
ของ
นางสาวเกศแก้ว บุตรวงศ์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ
มีนาคม 2545

303-11

กช.ร.ร.

10

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซน และเมทานอลจากรากกล้วยเต่า
Polyalthia debilis (Pierre) FINET & GAGNEP.

บทคัดย่อ

ของ

เกศแก้ว บุตรวงศ์

16 69 2555

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

มีนาคม 2545

๒ 1๕๖๘๒1

เกศแก้ว บุตรวงศ์. (2545), การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซนและเมทานอล
จากรากกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.). วิทยานิพนธ์
วท.ม. (เคมีชีวภาพ). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
คณะกรรมการควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชชญาสิทธิกุล ,
รองศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ รุจิรวัดน์

กล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.) เป็นพืชสมุนไพรไทยใช้
แก้อาการปวดท้อง ลดไข้ รักษาวัณโรค และยาบำรุงน้ำนม จากการนำสารสกัดหยาบเฮกเซน
และเมทานอลมาแยกและวิเคราะห์โครงสร้างเป็นครั้งแรก พบสารประกอบ 4 ชนิดได้แก่ 3-O-
acetyl aleuritolic acid , suberosol , stigmasterol และ β -sitosterol โดยที่ 3-O-acetyl
aleuritolic acid เป็น triterpene ที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบในพืชสกุลนี้ การศึกษาโครง
สร้างของสารประกอบเหล่านี้ใช้วิธีทางสเปกโตรสโคปี

STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF HEXANE AND METHANOL EXTRACTS
FROM ROOT OF *POLYALTHIA DEBILIS* (PIERRE) FINET& GAGNEP

AN ABSTRACT
BY
KETKAEW BUTTRAWONG

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Science degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University
March 2002

KETKEAW BUTTRAWONG. (2002). *Study on Chemical Constituents of Hexane and Methanol Extracts from Root of Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP. Master thesis, M. Sc. (Biological Chemistry) , Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee : Assoc. Prof. Supaluk Prachayasittikul, Ph.D., Assoc. Prof. Somsak Ruchirawat, Ph.D.

Polyalthia debilis (Pierre) FINET & GAGNEP, a thai medicinal plant has long been used as traditional medicine for treatment of abdominal pain, febrifuge, tuberculosis and galactagogue. Our first investigation on its tubers crude hexane and methanol extracts led to the isolation of four compounds , 3-O-acetyl aleuritolic acid , suberosol , stigmasterol and β -sitosterol. The triterpene 3-O-acetyl aleuritolic acid has not yet been isolated previously from the family of such plant. Their structure were elucidated on the basis of spectral data analysis, including 2D – NMR experiments.

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง

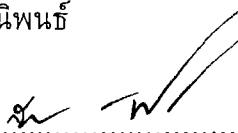
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซนและเมทานอล จากรากกล้วยเต่า
(*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.)

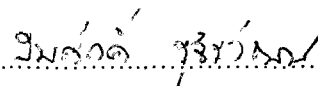
ของ
นางสาวเกศแก้ว บุตรวงศ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญามหาบัณฑิต สาขาเอกเคมีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

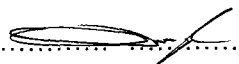
.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. นภาพร หะวานนท์)
วันที่.....เดือน.....ปี..... พ.ศ. 2545

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์

..... ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรียาธิกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ รุจิรวัดน์)

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

..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พุทธิยาสถาพร)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือ แนะนำ และให้ความอนุเคราะห์อย่างดีจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาสัทธิตกุล ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ รุจิรวัดน์ กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในทุกขั้นตอนของการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ ชัยนะกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนันต์ พุทธิยาสถาพร ที่ได้ร่วมเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่าง ๆ ที่ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีและภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้ความเมตตาแก่ผู้วิจัยมาตลอด

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ รุจิรวัดน์ หัวหน้าโครงการทุนเมธีวิจัยอาวุโส ประจำปี2540 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนทุนในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือเพื่อใช้ในการบันทึกข้อมูลทาง spectroscopy ขอขอบพระคุณ คุณณรงค์ นันทแสน นักวิชาการกรมป่าไม้ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจสอบเอกลักษณ์ของพืชที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ ดร.ศิริกานต์ ผาสุข พ.ด.ภีรพงษ์ แก้วบัวรัตติ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี เพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ นิสิตปริญญาโททุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลืออำนวยความสะดวก ให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด และคุณพรรณนภา นุชจ้อย ที่ช่วยพิมพ์งานจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

คุณค่าและประโยชน์ใด ๆ ที่เกิดจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดามารดา ครูอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

เกศแก้ว บุตรวงศ์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	3
ความสำคัญของการวิจัย.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	41
พืชที่ใช้ในการวิจัย.....	42
อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า.....	44
การสกัดสารจากรากกล้วยเต่า การแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์.....	47
4 ผลการวิจัย	
ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมีเพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า...55	
ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่า.....	58
ผลการแยกสารสกัด hexane และทำสารให้บริสุทธิ์.....	58
ผลการแยกสารสกัด methanol และทำสารให้บริสุทธิ์.....	61
ผลการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	64
5 สรุป อภิปรายผลและ ข้อเสนอแนะ.....	70
การวิเคราะห์ การทดสอบเบื้องต้นทางเคมี.....	70
การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	70
ข้อเสนอแนะ.....	96
บรรณานุกรม.....	97
ภาคผนวก.....	105
อภิธานศัพท์.....	138
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	141

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 พืชสกุล <i>Polyalthia</i> (P.) ที่พบในประเทศไทย.....	7
2 ตัวอย่างพืชสกุล <i>Polyalthia</i> (P.) ที่พบในตำราแพทย์แผนโบราณ.....	8
3 ตัวอย่างพืชสกุล <i>Polyalthia</i> (P.) ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	9
4 แสดงผลการแยกสารสกัด hexane ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	61
5 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม H2.....	61
6 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม H2.2 ด้วยเทคนิค PLC.....	62
7 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม H4 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	62
8 แสดงผลการแยกสารสกัด methanol ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	63
9 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม M5 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	64
10 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม M5.6 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	65
11 แสดงผลการแยกสารสกัด กลุ่ม M5.6.4 ด้วยเทคนิค PLC.....	65
12 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ A.....	75
13 ข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum ของสารประกอบ A.....	76
14 ข้อมูล HMQC spectrum ของสารประกอบ A.....	76
15 ข้อมูล HMBC spectrum ของสารประกอบ A.....	77
16 ข้อมูลการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ A.....	78
17 ข้อมูลแสดง ^{13}C NMR และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ B	81
18 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ B.....	82
19 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ CI และ CII.....	84
20 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ C.....	85
21 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ D.....	90
22 ข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum ของสารประกอบ D.....	91
23 ข้อมูล HMQC spectrum ของสารประกอบ D.....	91
24 ข้อมูล HMBC spectrum ของสารประกอบ D.....	92
25 ข้อมูลแสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ D.....	93

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1 ส่วนประกอบของกล้วยเต่า (<i>Polyalthia debilis</i>).....	6
2 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids จาก <i>P. acumina</i>	14
3 สารประกอบclerdane diterpene จาก <i>P. barmesii</i>	15
4 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids.....	15
5 สูตรโครงสร้างสารประกอบกลุ่ม 7, 7' - bisdehydroaporphine alkaloids.....	16
6 สูตรโครงสร้างสารประกอบ alkaloid จาก <i>P. cauliflora</i>	18
7 สูตรโครงสร้างสารประกอบจาก <i>P. cerasoids</i>	19
8 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม oxoprotoberberine alkaloid จาก <i>P. cerasoids</i>	20
9 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene จาก <i>P. cerasoids</i>	21
10 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม evecic acidจาก <i>P. evecia</i>	21
11 สูตรโครงสร้างสารประกอบจาก <i>P. insignis</i>	22
12 สูตรโครงสร้างสารประกอบจาก <i>P. lamcilinba</i>	23
13 สูตรโครงสร้างสารประกอบ 16-hydroxy-cleroda-3,13(14)Z-dien-15,16-olide.....	24
14 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azafluorene alkaloid และ aporphine N- oxide alkaloid.....	25
15 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azafluorene alkaloid.....	26
16 สูตรโครงสร้างสารประกอบกลุ่ม clerodane diterpene.....	27
17 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene.....	27
18 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene และ ent- halimane diterpene.....	28
19 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene.....	30
20 สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม diterpeneจาก <i>P. macropoda</i> King.....	31
21 สูตรโครงสร้างสารประกอบ zinc- contain compounds จาก <i>P. hemoralis</i>	31

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

22	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม bisbenzyltetrahydroisoquinolines จาก <i>P. nitidissima</i>	32
23	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่ จาก <i>P. oligosperma</i>	33
24	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids จาก <i>P. oliveri</i>	34
25	สูตรโครงสร้างสารประกอบ polyalthenol จาก <i>P. oliveri</i>	34
26	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม tetrahydroprotoberberine จาก <i>P. stenopetala</i>	35
27	สูตรโครงสร้างสารประกอบ alkaloids จาก <i>P. suaveolens</i>	36
28	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม indolesequiterpene alkaloids.....	37
29	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่ จาก <i>P. suaveolens</i>	38
30	สูตรโครงสร้างสารประกอบ triterpene ชนิดใหม่ จาก <i>P. suberosa</i>	39
31	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azaantracene.....	40
32	สูตรโครงสร้างสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene จาก <i>P. viridis</i>	40
33	ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....	41
34	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ hexane.....	52
35	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ กลุ่ม H2.....	52
36	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ กลุ่ม H4.....	53
37	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ methanol.....	53
38	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม M5.....	54
39	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม M5.6.....	54
40	การแตกพันธะของสารประกอบ A.....	74
41	การแตกพันธะของสารประกอบ B.....	80
42	การแตกพันธะของสารประกอบ C.....	87
43	การแตกพันธะของสารประกอบ D.....	90
44	การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ A (KBr).....	106
45	¹ H NMR spectrum ของสารประกอบ A (400 MHz, CDCl ₃).....	107

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

46 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ A.....	108
47 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ A (100 MHz, CDCl_3).....	109
48 Mass spectrum ของสารประกอบ A.....	110
49 COSY spectrum ของสารประกอบ A.....	111
50 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ A.....	112
51 HMQC spectrum ของสารประกอบ A.....	113
52 HMBC spectrum ของสารประกอบ A.....	114
53 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ B (KBr).....	115
54 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ B (400 MHz, CDCl_3).....	116
55 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ B (100 MHz, CDCl_3).....	117
56 Mass spectrum ของสารประกอบ B.....	118
57 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ B.....	119
58 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ β -sitosterol และ stigmasterol.....	120
59 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ C (KBr).....	121
60 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ C (400 MHz, CDCl_3).....	122
61 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ C (100 MHz, CDCl_3).....	123
62 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ C.....	124
63 Mass spectrum ของสารประกอบ C.....	125
64 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ D (KBr).....	126
65 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3).....	127
66 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3).....	128
67 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3).....	129
68 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ D (100 MHz, CDCl_3).....	130

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

69 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ D.....	131
70 Mass spectrum ของสารประกอบ D.....	132
71 molecular ion ของสารประกอบ D.....	133
72 COSY spectrum ของสารประกอบ D.....	134
73 HMQC spectrum ของสารประกอบ D.....	135
74 HMBC spectrum ของสารประกอบ D.....	136

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

พืชเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ตั้งแต่สมัยโบราณจนถึงปัจจุบัน เช่น การนำพืชสมุนไพรมาใช้รักษาโรค เมื่อพบว่าพืชสมุนไพรใดใช้บำบัดรักษาโรคได้ผลดีก็จดจำและปฏิบัติสืบทอดกันมาโดยอาศัยประสบการณ์จนเกิดความชำนาญ แต่ยังไม่มีการพิสูจน์หรือนำหลักวิชาการทางวิทยาศาสตร์เข้ามาเกี่ยวข้อง ต่อมาเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และเทคโนโลยีทางการแพทย์และเภสัชกรรมสมัยใหม่ได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้น จึงมีผลทำให้ความนิยมในการใช้พืชสมุนไพรถูกลดบทบาทลงเพราะยาสมุนไพรต้องใช้ในรูปแบบตำรับยาเป็นส่วนใหญ่ ต้องรับประทานยาจำนวนมาก ให้ผลการรักษาโรคช้า ทำให้เสียเวลาซึ่งต่างจากยาแผนปัจจุบันที่มีประสิทธิภาพดีกว่า ให้ผลการรักษาเร็ว สะดวกในการนำมาใช้และหาซื้อง่าย อย่างไรก็ตามในปัจจุบันสังคมทั่วโลกส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่าระบบการแพทย์แผนปัจจุบัน ไม่สามารถแก้ไขปัญหาสุขภาพได้ทั้งหมด องค์การอนามัยโลก (World Health Organization - WHO) ได้ตระหนักถึงข้อจำกัดของการแพทย์แผนปัจจุบันที่ว่าไม่สามารถกระจายการให้บริการไปสู่ประชาชนได้อย่างทั่วถึงและเสมอภาค จึงมีการสนับสนุนให้นำการแพทย์แผนโบราณมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานโดยผสมผสานกับการแพทย์แผนปัจจุบันตั้งแต่ พ.ศ. 2520 เป็นต้นมา ดังนั้นประเทศไทยจึงได้สนับสนุนให้นำการแพทย์แผนโบราณมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน โดยผสมผสานกับการแพทย์แผนปัจจุบัน ตั้งแต่แผนพัฒนาสาธารณสุขแห่งชาติฉบับที่ 4 (2521 - 2524) จนถึงแผนพัฒนาสาธารณสุขแห่งชาติฉบับที่ 8 (2540 - 2544) นอกจากนี้ยังเป็นการสนองนโยบายรัฐบาลที่ส่งเสริมการใช้ทรัพยากรสมุนไพรในประเทศให้เกิดประโยชน์สูงสุด เพื่อลดค่าใช้จ่ายการนำเข้ายาและสารที่นำมาผลิตเป็นยาจากต่างประเทศได้อีกทางหนึ่ง ดังนั้นพืชสมุนไพรจึงได้รับความนิยมมากขึ้นอีกครั้งทั้งในประเทศและต่างประเทศ และทำให้มีการอนุรักษ์ ส่งเสริม และฟื้นฟูการใช้สมุนไพรอย่างกว้างขวาง (ดร.ณ เพ็ชรพลาย ณัฏฐรา จันทรสุวานิชย์ และ ชาตรี ชาญประเสริฐ. 2534 : 4) ; (เพ็ญภา ทรัพย์เจริญและคณะ. 2539 : 2) รวมทั้งการศึกษาวิจัยเพื่อหาความรู้เกี่ยวกับสมุนไพรในด้านต่าง ๆ เช่น การสกัดแยกองค์ประกอบสำคัญในสมุนไพร การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาคุณสมบัติของสารเคมีในสมุนไพร และหาสูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาสมุนไพร เพื่อเป็นแนวทางที่จะคัดเลือกสมุนไพรไปใช้ในการบำบัดรักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ายาแผนปัจจุบัน เพราะสามารถควบคุมคุณภาพได้นั่นเอง (อัมพร คุณอนก. 2541 : 68) นอกจากการรักษาโรคแล้วสมุนไพรยังเป็นแหล่งสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์สารบางชนิด เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น

อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง น้ำหวาน ลูกกวาด อาหารเพื่อสุขภาพ เป็นต้น (เพียวาร์ เหมือนวงษ์ ญาติ. 2534 : 8)

พืชสกุล *Polyalthia* spp. อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นพืชที่อยู่ในเขตร้อนแถบแอฟริกา เอเชียและโอซันเนีย จากการศึกษาวิจัยเพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุลนี้ พบว่ามีสารประกอบหลายประเภท และเป็นแหล่งผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) มากมาย ตัวอย่างเช่น ประเภท alkaloid บางชนิดได้แก่กลุ่ม aporphine พบได้ใน *Polyalthia oliveri* *Polyalthia suberosa* และ *Polyalthia longifolia* เป็นต้น (Hamonniere, et al. 1974 : 921) ; (Ferdous, Islam & Hassan. 1992 : 99) กลุ่ม indolosesquiterpene พบได้ใน *Polyalthia suaveolens* และ *Polyalthia oliveri* (Kunesch, et al. 1985 : 4937) ; (Leboeuf, et al. 1976 : 3559) กลุ่ม tetrahydroprotoberberine พบได้ใน *Polyalthia longifolia* (Chakrabarty & Patra. 1990 : 395) กลุ่ม azafluorene พบได้ใน *Polyalthia longifolia* เช่นกัน (Wu. 1989 : 463) กลุ่ม isoquinoline พบได้ใน *Polyalthia beccarii* *Polyalthia acuminata* *Polyalthia bullata* *Polyalthia cauliflora* var. *beccarii* และ *Polyalthia cerasoides* (Roxb) (Jossang, Leboeuf & Cave. 1982 : 5147) ; (Abu Zarga & Shamma. 1982 : 471 - 475) ; (Connolly, Haque & Kadir. 1996 : 295 - 297) ; (Jossang, Leboeuf, Cave, et al. 1984 : 504 - 513) ; (Gonzalez, Zafra - Polo, et al. 1997 : 108 - 110) สารประเภท triterpene พบได้ใน *Polyalthia suberosa* (Goyal. & Gupta. 1986 : 152) สารประเภท clerodane diterpene พบได้ใน *Polyalthia longifolia* และ *Polyalthia barnesii* (Phadnis, et al. 1988 : 2899) ; (Hasan, Hossain, et al. 1994 : 283) ; (Ma, et al. 1994 : 1659 - 1662) สารประเภท flavonoid monotetrahydrofuran และ acetogenin พบได้ใน *Polyalthia longifolia* (Seetharaman. 1986 : 198) ; (Zheng, et al. 1994 : 557) สารประเภท steroids บางชนิด ได้แก่ tarexasterol stigmasterol β - sitosterol campesterol และ α - spinasterol พบได้ใน *Polyalthia longifolia*, *Polyalthia Cerasoides*, *Polyalthia suberosa* และ *Polyalthia nemoralis* เป็นต้น (Goyal & Gupta. 1985 : 658) ; (Dan, et al. 1985 : 73) ; (Yao, et al. 1994 : 845) สารประเภท zinc - contain compounds พบได้ใน *Polyalthia nemoralis* (Han, Hsu, et al. 1980 : 285) ; (Han, Xu, et al. 1981 : 433) ; (Yao, Liang & Liao. 1994 : 845) และสารประเภทน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ α - humulene β - caryophyllene และ myrcene พบได้ใน *Polyalthia suaveolens* (Cravo, et al. 1991 : 459) ส่วนฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรสกุลนี้ได้มีผู้ศึกษาในพืชหลายชนิด เช่น *Polyalthia nemoralis* มีสารประเภท zinc - contain compounds ได้แก่ 2 - mercaptopyridine N - oxide Zn salt ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium berghei* (Han, Xu, et al. 1981 : 433) ส่วน zinc polyanemine และ cupric bis (pyridine -

N - oxide - 2 thiolate) แสดงการออกฤทธิ์อย่างมากต่อการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย การเจริญของเชื้อรา และการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Yao, Liang & Liao. 1994 : 845 - 850) ส่วน *Polyalthia cerasoides* (Roxb) เมื่อนำเปลือกลำต้นมาสกัดด้วยสารละลาย methanol (1:1 V/V) ได้สารสกัดที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ได้ในระดับปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับ *Streptomycin* โดยมีขอบเขตการยับยั้ง 4 - 7 มิลลิเมตร (Rao. 1996 : 224) และ *Polyalthia longifolia* มีสารประเภท clerodane diterpene คือ 16 - oxocleroda - 3,13E - dien - 15 oic acid ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus fumigatus* *Saccharomyces caulbeguence* *Saccharomyces cerevisiae* *Candida albicans* และ *Hensila californica* ที่ระดับความเข้มข้น 8 - 64 $\mu\text{g/mL}$ (Rashid, et al. 1996 : 79 - 81) สมุนไพร *Polyalthia suberosa* มีสารประเภท triterpene เช่น suberosol ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อ HIV ในเซลล์ H 9 lymphocyte โดยมีค่า EC_{50} เป็น 3 $\mu\text{g/mL}$ และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์ H 9 lymphocyte ที่ไม่ติดเชื้อ HIV โดยมีค่า IC_{50} เป็น 20 $\mu\text{g/mL}$ (Li, et al . 1993 : 1131) เป็นต้น

ในตำราแพทย์แผนโบราณได้ใช้สมุนไพรกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) Finet & Gagnep) โดยนำส่วนรากและลำต้นมาต้มน้ำดื่ม เพื่อแก้อาการตัวร้อน ดับพิษไข้ ดับพิษขาง แก่พิษฝีในท้อง (สมาคมแพทย์แผนโบราณ วัดมหาธาตุ กรุงเทพฯ. 2531 : 35) บางตำรานำส่วนรากและลำต้นคั้นสดหรือนำไปต้มน้ำใช้ดื่มรักษาอาการปวดท้อง (Chuakul, et al.1997 : 184) ในจังหวัดอุบลราชธานีใช้ส่วนรากต้มน้ำดื่ม เป็นยาบำรุงน้ำนมอีกขนานหนึ่ง (วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล และนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2540 : 33) เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาด้านเคมีของสมุนไพรดังกล่าวและตามหลักอนุกรมวิธานของพืชทางเคมี(chemotaxonomy) ซึ่งกล่าวว่าพืชที่อยู่ในวงศ์หรือสกุลเดียวกันน่าจะมีสารสำคัญชนิดเดียวกัน (เพียวาร์ เหมือนวงศ์ญาติ เอมอร์ โสมนะพันธุ์ และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2534 : 110) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรกล้วยเต่า ในการศึกษาจะได้ข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการสกัด การแยกสาร การทำสารให้บริสุทธิ์ และโครงสร้างของสารองค์ประกอบหลักบางชนิดจากรากกล้วยเต่า ซึ่งจะใช้เป็นพื้นฐานของการศึกษาด้านอื่นต่อไป เช่น เภสัชวิทยา เป็นต้น

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยกสาร การทำสารให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิด จากสารสกัด hexane และ สารสกัด methanol ของรากกล้วยเต่า
2. เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์จากรากกล้วยเต่า โดยการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบวิธีการแยกสารและการทำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดจากรากกล้วยเต่าให้บริสุทธิ์
2. ทำให้ทราบประเภทของสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในรากกล้วยเต่า
3. ทำให้ทราบสูตรโครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบหลักบางชนิดในรากกล้วยเต่า ซึ่งอาจเป็นสารใหม่ และอาจใช้เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารที่มีศักยภาพใช้เป็นยาได้
4. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นแนวทางการศึกษาทางเภสัชวิทยาต่อไปในอนาคต

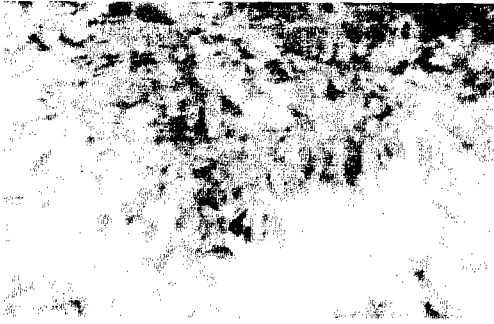
ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้ส่วนรากของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) Finet & Gagnep.) ที่ตากแห้ง
2. การสกัดสารจากรากกล้วยเต่า จะใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ
3. นำสารสกัดจากข้อ 2 มาทดสอบสารประเภท alkaloid cardiac glycoside saponin flavonoid และ coumarin
4. นำเฉพาะสารสกัดหยาบ hexane และ methanol มาแยกและทำสารให้บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟี และวิธีการตกผลึก
5. การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ โดยใช้วิธีทางสเปกโทรสโคปี ได้แก่ อัลตราไวโอเลตสเปกโทรสโคปี (ultraviolet spectroscopy) อินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (infrared spectroscopy) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (nuclear magnetic resonance spectroscopy) และแมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry)

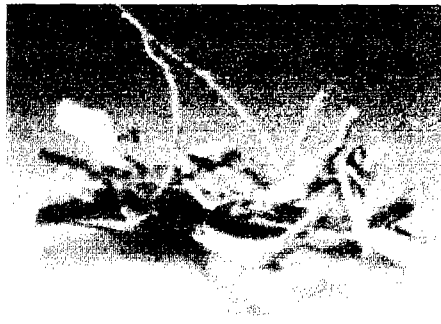
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยเต๋ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Polyalthia debilis* (Pierre) Finet & Gagnep. อยู่ในวงศ์ Annonaceae สกุล *Polyalthia* ชื่อพ้องคือ *Unona debilis* Pierre มีชื่อพื้นเมืองแตกต่างกันแต่ละท้องถิ่น เช่น ดับเต๋าน้อย (ภาคเหนือ) กล้วยดัดเต๋ (ราชบุรี) ไข่เต๋ (เชียงใหม่) กั้นครกและลกครก (มหาสารคามและอุบลราชธานี) (เต็ม สมิตินันท์. 2523 : 270) กล้วยเต๋เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1-2 ฟุต กิ่งอ่อนมีขนละเอียดสีน้ำตาลหนาแน่นแต่จะร่วงไปเมื่อกิ่งแก่ ใบเดี่ยวเรียงสลับระนาบเดียว รูปขอบขนานจนถึงรูปไข่กลับแกมรูปใบหอก กว้าง 2-5 เซนติเมตร ยาว 5-12.5 เซนติเมตร ปลายแหลมหรือมนและมีติ่งแหลมโคนมนหรือหยักเว้าเล็กน้อย แผ่นใบแคบ ด้านบนเกลี้ยงสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีจางกว่าและมีขนสั้นแขนงใบข้างละ 7-10 เส้น ก้านใบยาวประมาณ 3 เซนติเมตร มีขนสีเหลืองอ่อนหนาแน่น ดอกขนาดเล็กสีเหลืองอ่อน ออกเดี่ยวๆตามง่ามใบ ก้านดอกสั้น กลีบเลี้ยงเล็กมี 3 กลีบรูปสามเหลี่ยมกว้างยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ด้านนอกมีขนอ่อนนุ่ม กลีบดอกเรียงสลับกัน 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ รูปไข่หรือรูปไข่แกมรูปใบหอก กว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร ยาว 5-8 มิลลิเมตร ปลายมนด้านนอกกลีบมีขนละเอียดสีเหลืองอ่อน เกสรเพศผู้มีจำนวนมากอยู่เป็นกลุ่มบนแกนกลางดอก เกสรเพศเมีย 4 อันอยู่ที่ปลายของแกนกลางดอก ผลเป็นผลกลุ่มอยู่บนแกน ต้มกลุมแต่ละผลรูปทรงกระบอกกว้างประมาณ 1.3 เซนติเมตร ยาว 1-2 เซนติเมตร คอดระหว่างเมล็ด ปลายเรียวแหลม มีขนสั้นอ่อนนุ่ม ก้านผลยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง ภายในมีเมล็ด 1-2 เมล็ดสามารถรับประทานได้ เมล็ดมีสีดำ เปลือกหุ้มมีสีดำบาง ใช้น้ำคั้นพั่นด้วยเมล็ด กล้วยเต๋ออกดอกตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคม ผลแก่ประมาณเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม มีเขตการกระจายพันธุ์ในไทยทางภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ขึ้นในป่าดิบ ป่าโปร่งและป่าละเมาะ ต่างประเทศพบที่เวียดนามและลาว เป็นสมุนไพรที่ใช้ในรูปยาเดี่ยว มีสรรพคุณ แก้อาเจียน ขับพิษไข้ ขับพิษตานซาง แก้วณโรค แก้วปวดท้อง (ชวลิต นิยมธรรม. 2538 : 157) ; (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540 : 208) และเป็นยาบำรุงน้ำนม (วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุลและนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2540 : 33) ดังภาพประกอบ 1



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

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

(ก) ต้น (ข) ราก (ค) ดอก (ง) ผล (จ) ใบ

พืชสกุล *Polyalthia* อยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นสกุลที่มีมากกว่า 150 ชนิด พบมากที่สุดแถบเอเชียและแอฟริกา (Lavault, et al. 1990 : 3845) และมีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวาง สำหรับประเทศไทยมีการสำรวจพบพืชสกุล *Polyalthia* ทั้งหมด 14 ชนิดดังแสดงในตาราง 1 (เต็ม สมิตินันท์. 2523 : 269 - 270) ส่วนใหญ่พืชสกุล *Polyalthia* ที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค พบเห็นได้ในตำราแพทย์แผนโบราณทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังตัวอย่างแสดงในตาราง 2 (nap@ pcog1.pmmmp.uic.edu,1999 (online)) นอกจากนี้ยังพบพืชสกุล *Polyalthia* บางชนิดสามารถแสดงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ดังแสดงในตาราง 3 (nap@ pcog1. pmmmp. uic.edu,1999 (online))

ตาราง 1 พืชสกุล *Polyalthia* (P.) ที่พบในประเทศไทย

ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง
1.	<i>P. astericlla</i> Ridl.	ยางโดน สะบันงา
2.	<i>P. bullata</i> King.	หลังโก
3.	<i>P. cauliflora</i> Hook.f.et th.Var.	จำปาหอม
4.	<i>P. cerasoides</i> Benth.ex Bedd.	กะเจียน พญารากดำ จันทร์แคว
5.	<i>P. debilis</i> Finet & Gagnep.	กล้วยเต่า ตับเต่าน้อย ไข่เต่า กันครก
6.	<i>P. evecia</i> Finet & Gagnep.	นมน้อย ต้องแล้ง น้ำเต้าแล้ง
7.	<i>P. hypoleuca</i> Hook.f.& Thoms.	สังหยูขาว
8.	<i>P. jenkinsii</i> Hook.f.& Thoms.	ดั่งงาขาว
9.	<i>P. lateriflora</i> King.	กระดังงาป่า กล้วยหมูสัง กล้วย อีเหิน
10.	<i>P. obtusa</i> Craib.	ช้ายาง ดอกห่ออ้อย ยางดง
11.	<i>P. rumphii</i> Merr.	สังหยู
12.	<i>P. socia</i> Craib.	กาโป
13.	<i>P. suberosa</i> Thw.	กลิ้งกล่อม กระพุ่มกลาง กระพุ่ม คลอง กำจาย ท้องคลอง จงกล่อม น้ำนอง น้ำน้อย
14.	<i>P. viridis</i> Craib.	ขะมอม ชีซาก อีโต้ ดอกเหลือง ยางดง ยางพาย ดอกห่ออ้อย

ตาราง 2 ตัวอย่างพืชสกุล *Polyalthia* (P.) ที่พบในตำราแพทย์แผนโบราณ

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้	สรรพคุณ	ประเทศ
<i>P. aubrevillei</i>	เปลือก	ยากระตุ้นความต้องการทางเพศ	แอฟริกากลาง
<i>P. bullata</i>	เปลือกลำต้นแห้ง	ยากระตุ้นความต้องการทางเพศ	มาเลเซีย
<i>P. cerasoides</i> (Roxb.Bedd.) (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540 : 306)	ใบสด เนื้อไม้	แก้ปวด แก้อักเสบ แก้วัณโรคในลำไส้ ในปอด แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ปวดหลัง ปวดเอว แก้ปัสสาวะพิการ บำรุงธาตุเจริญอาหาร เป็นยาคุมกำเนิดในสตรี	ไทย
<i>P. debilis</i>	รากและลำต้น	แก้ตัวร้อน ดับพิษไข้ ดับพิษตานซาง แก้วัณโรค แก้ปวดท้อง ยาบำรุงน้ำนม	ไทย
<i>P. evecta</i>	รากที่แห้ง	ยาบำรุงน้ำนม	ไทย
<i>P. jenkinsii</i>	ลำต้น	ไล่แมลงและผึ้ง	เกาะอันดามัน
<i>P. longifolia</i> thw.	เปลือกลำต้น	เป็นยาบำรุงกำลังและยาลดไข้	อินเดีย
<i>P. longifolia</i> var. Pendula	เปลือกลำต้นที่แห้ง	เป็นยาลดไข้	บังกลาเทศ
<i>P. stuhlmannii</i>	ราก	แก้เยื่อที่หุ้มสมองและไขสันหลังอักเสบ แก้ปวดตามข้อตามกล้ามเนื้อ แก้ไอ และเป็นยาธาตุ ยาเจริญอาหาร	แทนซาเนีย
<i>P. suberosa</i> thw. (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540:116)	ราก รากและเนื้อไม้ ใบและกิ่ง	ยาทำให้แห้ง แก้ไอ แก้อ่อนใน แก้น้ำเหลืองเสีย มีสารที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV	ฟิลิปปินส์ ไทย

ตาราง 3 ตัวอย่างพืชสกุล *Polyalthia*(P.) ที่แสดงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลายที่สกัด	ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
<i>P. cerasoides</i>	ส่วนที่อยู่เหนือดิน	EtOH : H ₂ O	มีความเป็นพิษเมื่อฉีดเข้าใต้ช่องท้องของหนู	Bhakuni, et al.1969 : 250-262
	(1:1)	โดยมีค่า LD ₅₀	เป็น 250.0 mg/kg	
	เปลือกลำต้นแห้ง	EtOH(กำจัดไขมันด้วย	ยับยั้งการอักเสบของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร	Padma, Chansouria & Khosa. 1998 : 127 – 128
	เปลือกลำต้นแห้ง	Petroleum ether)	ที่เป็นผลของหนูตัวผู้ ในปริมาณ 100 mg/kg	
<i>P. cheliensis</i>	เปลือกลำต้นแห้ง	MeOH	แสดงฤทธิ์ยับยั้งอย่างอ่อนต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย(ในจานเพาะเชื้อ)	Rao. 1996 : 223 - 225
			<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>P. longifolia</i> thw	เปลือกลำต้นแห้ง	EtOH 95%	<i>Staphylococcus aureus</i>	Hao, et al. 1995 : 447 - 448
	เปลือกแห้ง	H ₂ O	มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง CA-9KB ในหลอดทดลอง โดยมีค่า IC ₅₀ 1.59 µg/mL	
ลำต้นแห้ง			ยับยั้งการออกของพืช แสดงการออกฤทธิ์	Chauhan, Singh & Singh. 1989 : 877 - 884
		MeOH	อย่างอ่อน ในปริมาณ 500.0 g/L	
			มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง CA-9KB เซลล์ Leuk-P-388 ในหลอดทดลอง	Wu, et al. 1990 : 1327 - 1331

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลายที่สกัด	ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
<i>P. longifolia</i> thw.	เปลือกลำต้น	EtOH : H ₂ O (1:1)	มีความเป็นพิษเมื่อนำเข้าได้ของหนู โดยมีค่า LD ₅₀ >1.0 g/kg	Bhakuni, et al. 1969 : 250 - 262
<i>P. longifolia</i> var. Pendula	ใบแห้ง	H ₂ O	ยับยั้งการออกของพิษ แสดงการออกฤทธิ์อย่าง อ่อน ในปริมาณ 500.0 g/L ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ในปริมาณ 500.0 g/L	Chauhan, Singh & Singh. 1989 : 877 - 884
	ลำต้นแห้ง	H ₂ O	ยับยั้งการออกของพิษ แสดงการออกฤทธิ์อย่าง อ่อน ในปริมาณ 500.0 g/L ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ในปริมาณ 500.0 g/L	
	เปลือกลำต้นแห้ง	Petroleum ether	ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ในจานเพาะ เชื้อดังนี้ <i>Shigella shiga</i> 100 µg/disc <i>Salmonella typhi</i> B-56 200 µg/disc <i>Salmonella typhi</i> B-52 200 µg/disc <i>Salmonella typhi</i> B-62 200 µg/disc	Rashid, et al. 1996 : 79 - 81

ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลายที่สกัด	ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
		<i>Bacillus megaterium</i>	200 µg/disc	
		<i>Bacillus polymyxa</i>	200 µg/disc	
		<i>Bacillus subtilis</i>	200 µg/disc	
		<i>Escherichia coli</i>	200 µg/disc	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200 µg/disc	
		<i>Salmonella typhi</i> A	200 µg/disc	
		<i>Salmonella typhi</i> B	200 µg/disc	
		<i>Sarcina lutea</i>	200 µg/disc	
		<i>Shigella boydii</i>	200 µg/disc	
		<i>Shigella dysenteriae</i>	200 µg/disc	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	200 µg/disc	
		<i>Staphylococcus</i> – Beta hemolytic	200 µg/disc	
		<i>Vibrio cholera</i>	200 µg/disc	
		<i>Shigella sonnei</i>	200 µg/disc	
		<i>Bacillus aureus</i>	200 µg/disc	

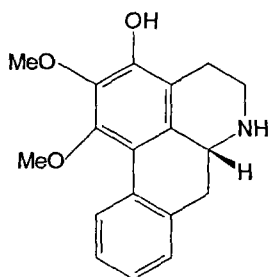
ตาราง 3 (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลายที่สกัด	ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เอกสารอ้างอิง
<i>P. suberosa</i> thw.	ส่วนที่อยู่เหนือดิน	EtOH : H ₂ O (1:1)	เมื่อฉีดเข้าเส้นเลือดดำ มีผลทำให้ความดันเลือด ในสุนัขลดลงโดยใช้ปริมาณ 50.0 µg/kg เมื่อฉีดเข้าเส้นเลือดดำ มีผลทำให้ความดันเลือด ในหนูลดลงโดยใช้ปริมาณ 500.0 µg/kg มีความเป็นพิษเมื่อฉีดเข้าได้ช่องท้องของหนู โดยมีค่า LD ₅₀ > 1.0 g/kg	Bhakuni, et al. 1971 : 91
ใบ, ลำต้นแห้ง	EtOH (95%)		ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส HIV ในหลอดทดลอง โดยมีค่า EC ₅₀ เป็น 3 µg/mL	Li, et al. 1993 : 1130 - 1133

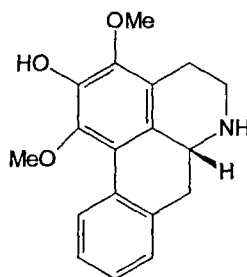
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร มีส่วนสำคัญที่ทำให้ให้นักวิทยาศาสตร์ได้ข้อมูลซึ่งนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเกี่ยวกับการวิจัยสมุนไพรให้มีความก้าวหน้ามากขึ้น ตัวอย่างการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล *Polyalthia* บางชนิด มีดังนี้

Polyalthia acuminata

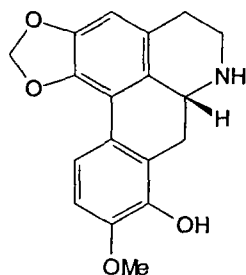
ในปี ค.ศ. 1982 อะบู ซาร์กา และ ชัมมา (Abu Zarga & Shamma, 1982 : 471 - 475) นำลำต้นและใบแห้งของ *Polyalthia acuminata* มาสกัดด้วย EtOH นำสารสกัด EtOH มาละลายด้วย 5% HCl แล้วสกัดด้วย CHCl_3 นำชั้น CHCl_3 มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids 4 ชนิด ได้แก่ (-) – norliridinine (**1**), (-) – 3 – hydroxynornuciferine (**2**), (-) – norannuradhapurine (**3**) และ (-) – noroliveroline (**4**) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 2 และ alkaloid ที่ทราบชนิดแล้วดังนี้ กลุ่ม oxoaporphines ได้แก่ O – methylmoschatoline (liridine) และ liriodenine กลุ่ม aporphines ได้แก่ (-) – 3 – methoxynuciferine, (-) – O – methylisopiline, (-) – anonaine, (-) – nornuciferine, (+) – isoboldine, (-) – sopiline, (-) – asimilobine (-) – caaverine, (-) – tuduranine, (-) – norushinsunine, และ (-) – anolobine กลุ่ม proaporphine ได้แก่ (+) – stepharine กลุ่ม tetrahydrobenzylisoquinolines ได้แก่ ($\pm$) – juziphine, ($\pm$) – reticuline, ($\pm$) – N – methylcoclaurine, ($\pm$) – norjuziphine และ ($\pm$) – coclaurine กลุ่ม berbines ได้แก่ (-) – kikemanine และ (-) – stepholidine กลุ่ม phenethylamine hordenine และกลุ่ม indoles ได้แก่ 2 – methyltetrahydro – β – carboline, N,N – dimethyltryptamine และ ($\pm$) – tetrahydroharman ส่วน lignan ที่พบได้แก่ ($\pm$) –syringaresinol



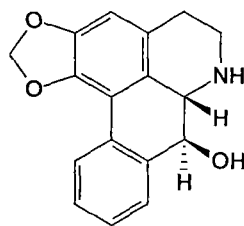
1, (-) – norliridinine



2, (-) – 3 – hydroxynornuciferine



(3), (-) – norannuradhapurine

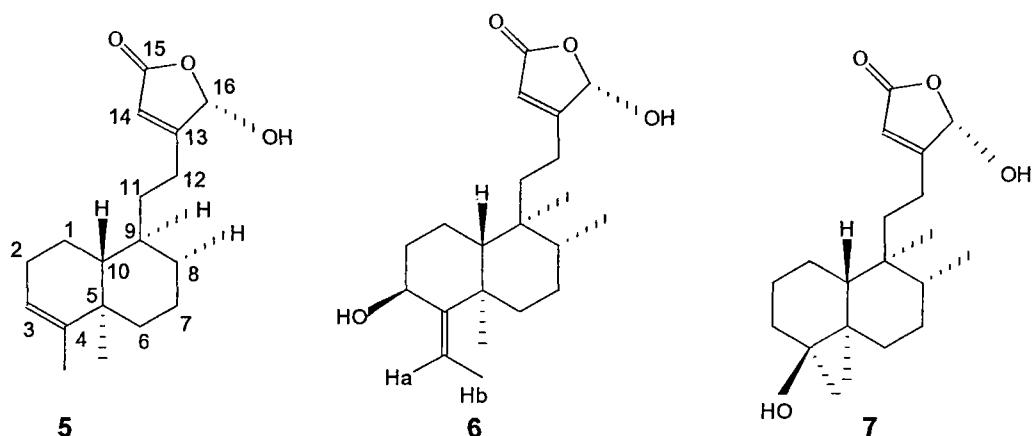


(4), (-) – noroliveroline

ภาพประกอบ 2 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids จาก *P. acuminata*

Polyalthia barnesii

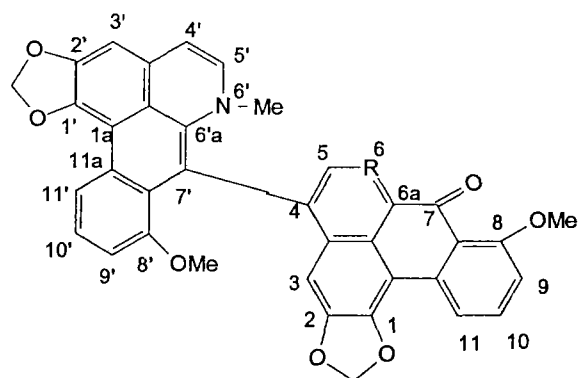
ในปี ค.ศ. 1994 มา และคณะ (Ma, et al. 1994 : 1659 - 1662) ได้ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารประกอบ clerodane diterpene โดยนำส่วนเปลือกลำต้นของ *Polyalthia barnesii* มาสกัดด้วย MeOH แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทำ partition ด้วย EtOAc และ H₂O นำสารสกัดส่วน EtOAc มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Lu1 (มะเร็งปอด) พบว่ามีค่า ED₅₀ เป็น 5.1 µg/mL จึงนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารประกอบ clerodane diterpene 3 ชนิด ได้แก่ 16 α - hydroxycleroda - 3,13 (14) Z - dien - 15,16 - olide (5), 3 β ,16 α - dihydroxycleroda - 4 (18),13, (14) Z - dien - 15,16 - olide (6), 4 β , 16 α - dihydroxycleroda - 13 (14) Z - en - 15,16 - olide (7) พบว่าสารประกอบ 6 และ 7 เป็นสารชนิดใหม่ มีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 3 เมื่อนำสารประกอบทั้ง 3 ชนิด (5 - 7) มาศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้หลายชนิดโดยมีค่า ED₅₀ < 4 µg/mL ในเซลล์ LNCa P เซลล์ U - 373 และเซลล์ P - 388 ส่วนเซลล์มะเร็งของมนุษย์สารประกอบทั้ง 3 ชนิด แสดงความเป็นพิษมากที่สุดต่อเซลล์ LNCa P และเซลล์ U-373 สำหรับเซลล์มะเร็งชนิดอื่น ได้แก่ เซลล์ A 431 เซลล์ BC 1 เซลล์ Co 12 เซลล์ HT เซลล์ KB เซลล์ KBV+ เซลล์ KBV เซลล์ Lu 1 เซลล์ Me 12 และเซลล์ ZR 75 -1 พบว่าสารประกอบ 7 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งน้อยกว่าสารประกอบ 5 และ 6



ภาพประกอบ 3 สารประกอบ clerodane diterpenes จาก *P. barnesii*

Polyalthia beccari

ในปี ค.ศ. 1982 โจสแซง, เลอเบิฟและกาเว้ (Jossang, Leboeuf & Cave. 1982 : 5147-50) ได้สกัดสารจากเปลือกต้น *Polyalthia beccari* ด้วย MeOH และนำมาแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids 2 ชนิดได้แก่ beccapoline (8) และ beccapolinium (9) มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 4



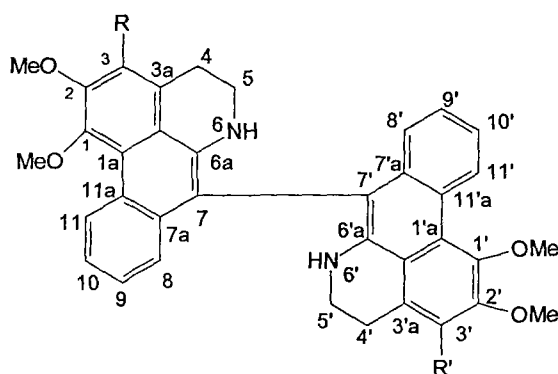
8, beccapoline , R = N

9, beccapolinium , R = N - 6 - CH₃⁺ beccapoline, OH⁻

ภาพประกอบ 4 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids

Polyalthia bullata

ในปี ค.ศ. 1996 คอนนอลลี, เฮก และเคเดอร์ (Connolly, Haque & Kadir. 1996 : 295 - 297) ได้นำสารสกัด EtOAc จากเปลือกต้น *Polyalthia bullata* ซึ่งสกัดด้วยเครื่อง soxhlet มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบ 7,7' - bisdehydro - O - methylisopiline (10), 7 - dehydronornuciferinyl - 7' - dehydro - O - methylisopiline (11) และ urabaine (12) สารที่ 10 และ 11 เป็นสารประกอบชนิดใหม่ของกลุ่ม 7,7' - bisdehydroaporphine alkaloid มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 5



10, 7,7' - bisdehydro - O - methylisopiline, R = R' = OMe

11, 7, dehydronornuciferinyl - 7' - dehydro - O - methylisopiline,

R = H , R' = OMe

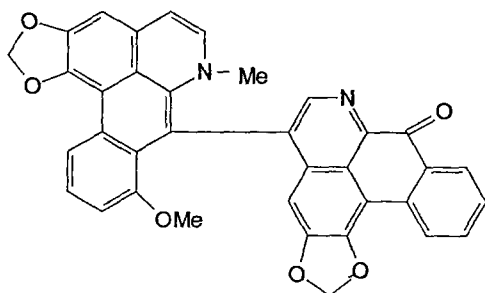
12, urabaine, R = R' = H

ภาพประกอบ 5 สารประกอบกลุ่ม 7,7' - bisdehydroaporphine alkaloids

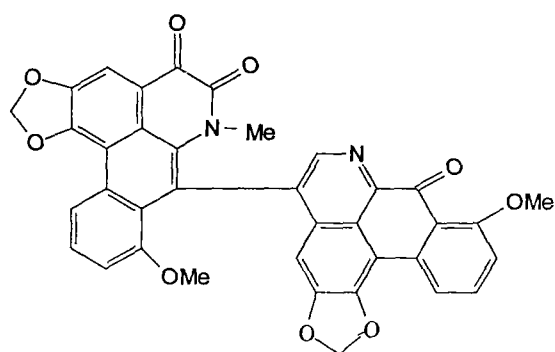
Polyalthia cauliflora Var. *beccarii*

ในปี ค.ศ. 1984 โจสแซง, เลอเบิฟ, กาเวและคณะ (Jossang, Leboeuf, Cave, et al. 1984 : 504 - 513) นำลำต้นของ *Polyalthia cauliflora* มาสกัดด้วย petroleum ether โดยใช้เครื่อง soxhlet นำกากที่เหลือทำให้เป็นเบสด้วย 10% NH_4OH แล้วสกัดด้วย CHCl_3 ในเครื่อง soxhlet นำสารที่สกัดได้มาเติม 5% HCl นำชั้นกรดมาทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH แล้วสกัดด้วย CHCl_3 นำชั้นสารละลายอินทรีย์มากำจัดน้ำออกด้วยการเติม anhyd. Na_2SO_4 กรองและระเหยตัวทำละลายออก นำสารสกัดที่ได้ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบกลุ่ม bisaporphine ได้แก่ beccapoline, beccapolinium, polybeccarine (13) และ beccapolydione (14) สารประกอบชนิดใหม่ คือ dehydropredicentrine (15) นอกจากนี้ยังพบ

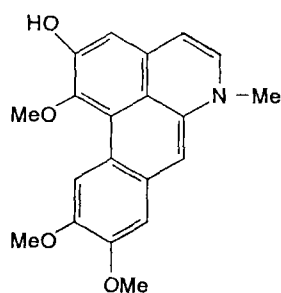
กลุ่ม aporphines alkaloid 2 ชนิดได้แก่ (±) – boldine (16) และ (+) – predicine (17)
 กลุ่ม oxoaporphines 6 ชนิด ได้แก่ lysicamine (18), liriodenine (19), O –
 methylmoschatoline (20), atherospermidine (21), oxostephanine (22) และ thailandine
 (23) กลุ่ม morphinanedienone ได้แก่ (–) – sebiferine (24) มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 6



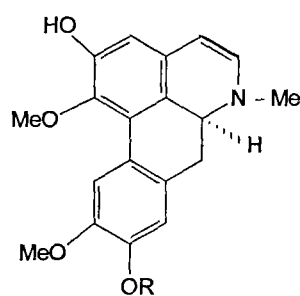
13



14

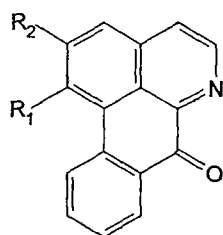
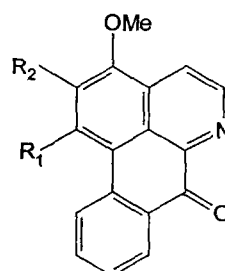


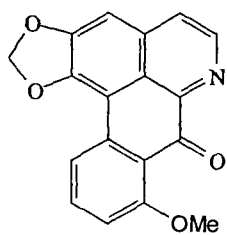
15



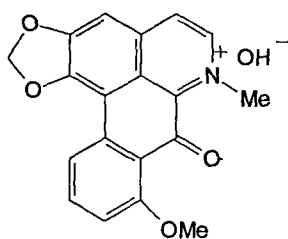
16, R = H

17, R = Me

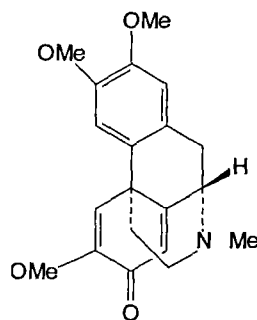
18, R₁ = R₂ = OMe19, R₁ = R₂ = OCH₂O20, R₁ = R₂ = OMe21, R₁ = R₂ = OCH₂O



22



23

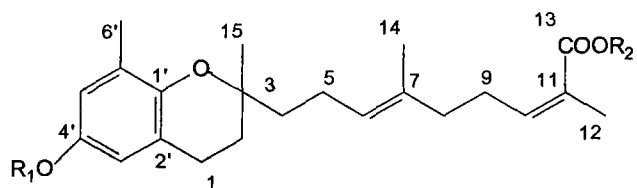


24

ภาพประกอบ 6 สารประกอบ alkaloid จาก *P. cauliflora*

Polyalthia cerasoides

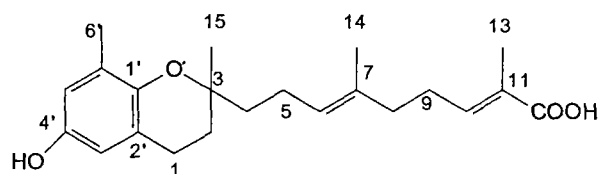
ในปี ค.ศ. 1985 แดนและคณะ (Dan, et al. 1985 : 73 - 76) นำสารสกัด (ใช้เครื่อง soxhlet) แอลกอฮอล์จากส่วนใบและลำต้นของพญารากดำ (*Polyalthia cerasoides*) มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบที่ทดสอบด้วยวิธี Liebermann-Burchard และ Salkowski ให้ผลเป็น sterol สารประกอบดังกล่าวคือ α - spinasterol และ β - sitosterol จนกระทั่งปี ค.ศ. 1995 กอนซาเลซ, เซอร์ราโน และคณะ (Gonzalez, Serrano, et al. 1995 : 1278 - 1284) นำสารสกัด MeOH ส่วนเปลือกลำต้น มาทำ partition ด้วย CH_2Cl_2 และสารละลาย 50% MeOH นำชั้น CH_2Cl_2 ล้างด้วยสารละลาย 5% KOH ได้สารสกัดชั้น CH_2Cl_2 และชั้นน้ำ นำชั้นน้ำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 อีกครั้ง ได้สารสกัดชั้น CH_2Cl_2 นำสารสกัดชั้น CH_2Cl_2 ทั้งสองครั้งมารวมกัน ทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม sesquiterpenebenzopyran ได้แก่ polycerasoidin (25) และ polycerasoidol (26) ต่อมาปี ค.ศ. 1996 กอนซาเลซ, เซนแทนด์ว และคณะ (Gonzalez, Sentandreu, et al. 1996 : 1361 - 1364) ทำการทดลองต่อเนื่องพบสารประกอบชนิดใหม่ 2 ชนิดเป็นอนุพันธ์ pernylated benzopyran ได้แก่ polycerasoidin methyl ester (27) และ (6E,10E) isopolycerasoidol (28) รวมทั้งสารประกอบที่ทราบชนิด คือ trans-asarone (29) ในปีเดียวกัน ซาฟรา-โปโล และคณะ (Zafra-Polo, et al. 1996 : 193-196) ทำการศึกษาต่อจาก กอนซาเลซและคณะ ได้สารประกอบอนุพันธ์ benzopyran ชนิดใหม่ชื่อ polyalthidin (30) ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งลูกโซ่การหายใจในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยไปขัดขวางการส่งถ่ายอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย โดยมีค่า $\text{IC}_{50} < 5 \mu\text{M}$ โครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้แสดงดังภาพประกอบ 7



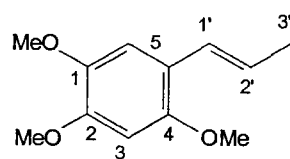
25, polycerasoidin $R_1 = Me$, $R_2 = H$

26, polycerasoidol $R_1 = R_2 = H$

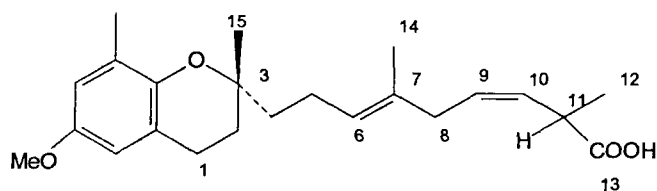
27, polycerasoidin methyl ester $R_1 = R_2 = Me$



28, (6E,10E) isopolycerasoidol



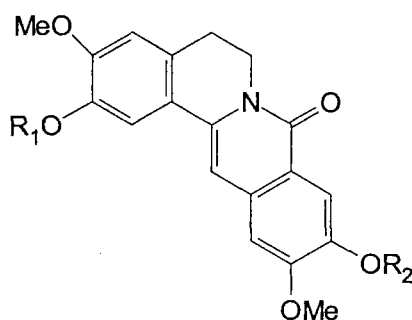
29, trans-asarone



30, polyalthidin

ภาพประกอบ 7 สารประกอบ จาก *P. cerasoids*

ต่อมาปี ค.ศ. 1997 กอนซาเลซ, ซาฟรา-โปโล และคณะ (Gonzalez, Zara - Polo, et al. 1997 : 108 - 110) สกัดสารจากเปลือกต้นพญารากดำ (*Polyalthia cerasoides*) ด้วย MeOH และนำสารสกัด MeOH มาทำ partition ด้วยน้ำ และ EtOAc นำสารสกัดชั้น EtOAc มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และ preparative TLC ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม oxoprotoberberine alkaloid 2 ชนิด ได้แก่ cerasodine (**31**) (7,8 – dihydro – 2,10 – dihydroxy – 3,11 – dimethoxy – 8 - oxoprotoberberine) และ cerasonine (**32**) (7,8 – dihydro – 2 – hydroxy -3,10,11 – trimethoxy – 8 – oxoprotoberberine) มีโครงสร้างแสดงในภาพประกอบ 8



31, cerasodine $R_1 = R_2 = H$

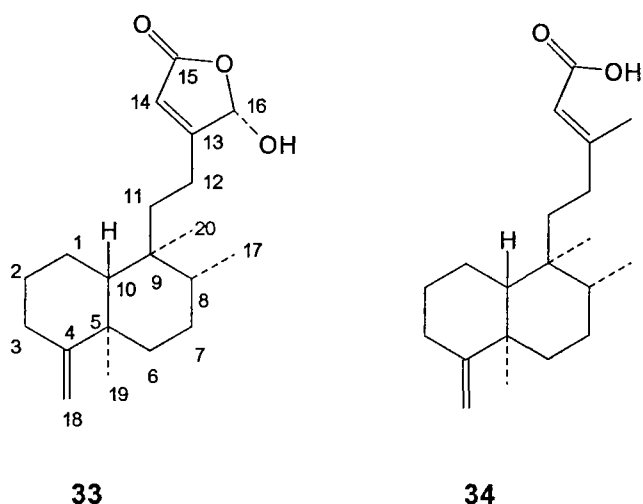
32, cerasonine $R_1 = H, R_2 = Me$

ภาพประกอบ 8 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม oxoprotoberberine alkaloid จาก *P. cerasoides*

Polyalthia cheliensis

ในปี ค.ศ. 1995 โฮวและคณะ (Hao, et al. 1995 : 447-448) ได้ทำการแยกสารสกัด 95% EtOH จากเปลือกลำต้น *Polyalthia cheliensis* พบสารประกอบชนิดใหม่ 2 ชนิดในกลุ่ม clerodane diterpene ได้แก่ 16 α - hydroxy – cleroda – 4 (18),13(14) Z – dien – 15,16 – olide (**33**) และ cleroda – 4 – (18),13(14) E – dien – 15 – oic acid (**34**) สารประกอบกลุ่มเดียวกันที่ทราบชนิดแล้วคือ 16 α - hydroxy – cleroda – 3 ,13(14) Z – dien – 15,16 – olide และ cleroda – 3,13(14) E – dien – 15 – oic acid พบว่าสารประกอบ **33** สามารถแสดงความ

เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด KB โดยมีค่า IC_{50} เป็น 1.59 $\mu\text{g/mL}$ โครงสร้างสาร 33 และ 34 แสดงดังภาพประกอบ 9



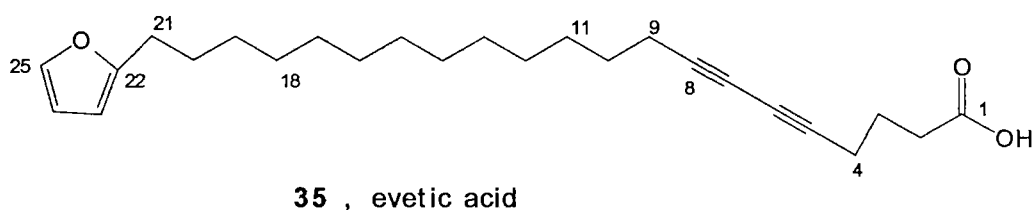
ภาพประกอบ 9 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene จาก *P. cheliensis*

Polyalthia emarginata

ในปี ค.ศ. 1978 ไกวนัวเดอลัว และคณะ (Guinaudeau, et al. 1978 : 166 - 172) ได้สกัดสารจากส่วนเปลือกลำต้น *Polyalthia emarginata* และนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบ alkaloid ได้แก่ anonaine liriodenine และ lanuginosine

Polyalthia evecta

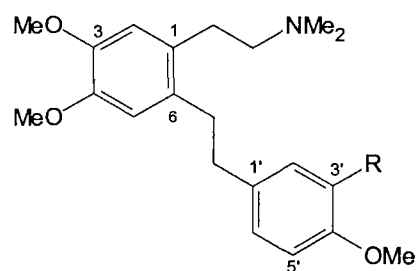
ในปี ค.ศ. 1998 กนกเมหกุล และคณะ (Kanokmedhakul, et al. 1998 : 131 - 133) ได้นำสารสกัด hexane จากส่วนรากของต้นตองแล้ง (*Polyalthia evecta*) มาทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่ประเภท diynoic acid ชื่อว่า evectic acid (35) (21 – furan – heneicosa – 5,7 – diynoic acid) โครงสร้างของสารแสดงในภาพประกอบ 10 เมื่อนำสารนี้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสามารถออกฤทธิ์ต่อต้านจุลินทรีย์ในโรคพืช ชื่อ *Phytophthora palmivora* ได้



ภาพประกอบ 10 สารประกอบ evecic acid จาก *P. evecia*

Polyalthia insignis

ในปี ค.ศ. 1997 ลี, ชาว และโกช (Lue, Chuah & Goh. 1997 : 1259 - 1256) ได้นำส่วนเปลือกของ *Polyalthia insignis* มาสกัดด้วย EtOH นำสารสกัดที่ได้มาเติมเกลือของกรดเจือจาง ทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH ได้สารสกัดหยาบแอลคาลอยด์ซึ่งนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบ 6 ชนิดโดยมีสารประกอบกลุ่ม *seco* – benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids ได้แก่ polysignine (36) และ methoxypolysignine (37) มีโครงสร้างแสดงในภาพประกอบ 11 ส่วนแอลคาลอยด์ชนิดอื่นได้แก่ (-) – asimilobine, oxostephanine, O – methylmoschatoline และ liriodenine



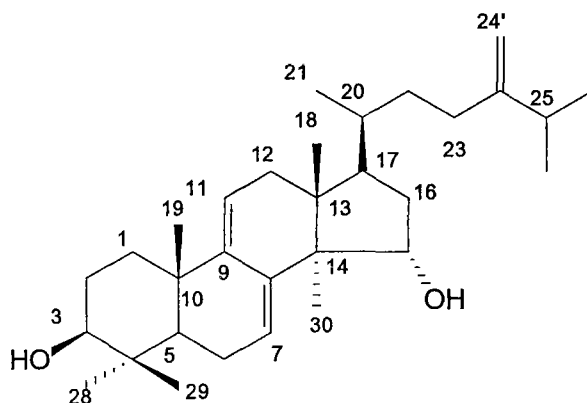
36, polysignine R = H

37, methoxypolysignine R = OMe

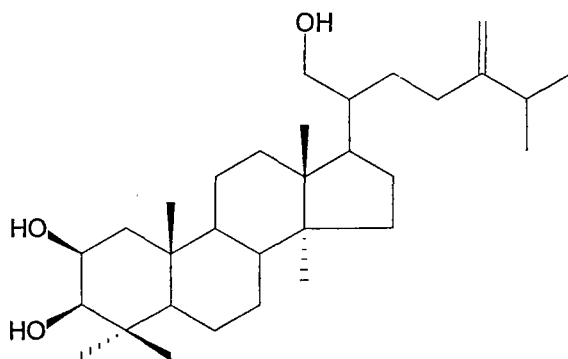
ภาพประกอบ 11 สารประกอบจาก *P. insignis*

Polyalthia lancilimba

ในปี ค.ศ. 1998 ลู และคณะ (Lue, et al. 1998 : 2053 - 2056) ได้สกัดสารจากเปลือกลำต้น *Polyalthia lancilimba* ด้วย 95% EtOAc แล้วทำ partition ด้วย H_2O และ CHCl_3 นำชั้น CHCl_3 มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบสารประกอบชนิดใหม่ประเภท 24 – methylenetetraacyclic triterpene 2 ชนิดคือ 24 – methylenelanosta – 7,9(11) – dien – 3 β ,15 α – diol (38) และ 24 – methylenelanosta – 8 – en – 2 β ,3 β ,21 – triol (39) ตั้งโครงสร้างในภาพประกอบ 12



38, 24 – methylenelanosta – 7,9(11) – dien -3 β ,15 α - diol



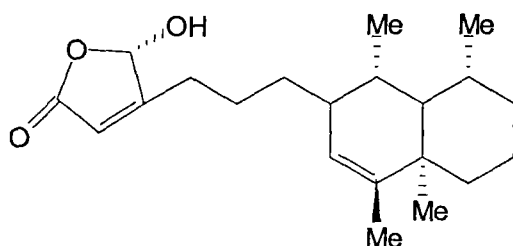
39, 24 – methylenelanosta – 8 – en – 2 β ,3 β ,21 – triol

ภาพประกอบ 12 สารประกอบจาก *P. lamcillinba*

Polyalthia longifolia (Sonn.) Thwaites.

ในปี ค.ศ. 1982 แมนซูริคูดา และโฮสแซน (Manzoor-i-Khuda & Hossain. 1982 : 134 - 135) นำสกัดสาร EtOH จากส่วนเปลือกของต้นโศกอินเดีย (*Polyalthia longifolia* Thw.) มาทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบ β -sitosteol ต่อมาในปี ค.ศ. 1985 โกเยลและกุปตา (Goyal & Gupta. 1985 : 658) พบสารประกอบกลุ่ม triterpenes ได้แก่ α และ β -amyrin และ สารประกอบกลุ่ม sterol ได้แก่ tarexasterol, stigmasterol, β -sitosterol และ campersterol จากส่วนใบของสารสกัด petroleum ether

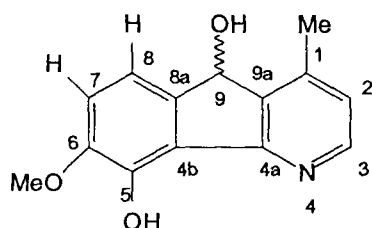
ปี ค.ศ. 1986 ซีธารามาน (Seetharaman. 1986 : 198 - 199) ทำการแยกสารสกัดจากส่วนใบของพืชดังกล่าวได้สารประกอบ flavonoids ได้แก่ quercetin, quercetin - 3 - O - rutinoside (rutin) และ quercetin - 3 - O - β -D - galactoside ต่อมาในปี ค.ศ.1988 เฟดนิสและคณะ (Phadnis, et al. 1988 : 2899 - 2901) พบสารประกอบ 2 ชนิดกลุ่ม clerodane diterpenoids ได้แก่ 16 - oxo - cleroda - 3,13(14) E - dien - 15 - oic acid และ 16 - α - hydroxy - cleroda - 3,13(14) Z - dien - 15,16 - olide (40) ดังแสดงในภาพประกอบ 13



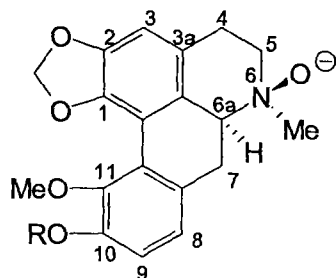
40, 16 - α - hydroxy - cleroda - 3,13(14) Z - dien - 15,16 - olide

ภาพประกอบ 13 16 - α - hydroxy - cleroda - 3,13(14) Z - dien - 15,16 - olide

ปี ค.ศ. 1989 วู (Wu. 1989 : 463 - 475) ทำการแยกสารสกัด MeOH จากส่วนใบของพืชดังกล่าวพบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azafluorene alkaloid คือ polylogine (41) (5 - hydroxy - 6 - methoxy - 1 - methyl - 4 - azafluoren - 9 - ol) และสารประกอบชนิดใหม่ 3 ชนิด กลุ่ม aporphine N - oxide alkaloids ได้แก่ (+) - O - methylbulbocapnine - β - N - oxide (42), (+) - O - methylbulbocapnine - α - N - oxide (43) และ (+) - N - methylnandigerine - β - N - oxide (44) ดังแสดงในภาพประกอบ 14 นอกจากนี้พบสารประกอบกลุ่ม aporphine alkaloids ที่ทราบชื่ออีก 4 ชนิดได้แก่ (-) - oliveroline - β - N - oxide , liriodenine , anonaine , (-) -lirioferine

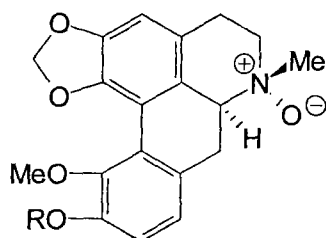


41 , polylogine



42, (+) – O – methylbulbocapnine - β - N – oxide , R = Me

44, (+) – N – methylnandigerine - β - N – oxide , R = H

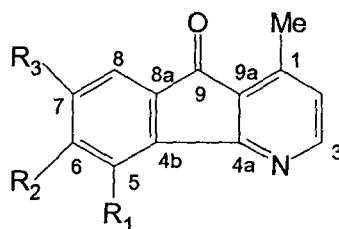


43, (+) – O – methylbulbocapnine - α - N – oxide

ภาพประกอบ 14 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azafluorene alkaloid และ aporphine
N – oxide alkaloids

ในปี ค.ศ. 1990 ชากราบาร์ตี และปาตรา (Chakrabarty & Patra. 1990 : 394 - 395) ได้แยกสารสกัดจากเปลือกต้นโศกอินเดียพบ alkaloid 4 ชนิด อยู่ในกลุ่ม tetrahydropprotoberberine ได้แก่ (-) – stepholidine , onychine , darienine และ 6,7 – dimethoxyonychine ซึ่งสารประกอบชนิดสุดท้ายเป็นสารประกอบชนิดใหม่ ในปีเดียวกันนี้ วู และคณะ (Wu, et al. 1990 : 1327 - 1331) นำลำต้นมาสกัดด้วย MeOH ทำ partition ด้วย n – hexane และ CHCl_3 ตามลำดับ นำสารสกัด n – hexane และ CHCl_3 ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB และ P – 388 พบว่าสารสกัด CHCl_3 มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB จึงนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบสารประกอบกลุ่ม aporphine

alkaloids ได้แก่ liriodenine (เป็นสารเดี่ยวที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง) noroliveroline
oliveroline - β -N-oxide และสารกลุ่ม azafluorene alkaloid ได้แก่ darienine, polyfothine
(45) และ isooncodine (46) โดยสาร 2 ชนิดนี้ (45 และ 46) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ และมี
โครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 15

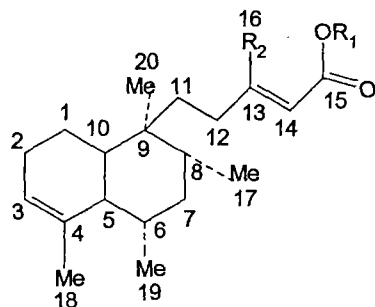


45, polyfothine, $R_1 = H$, $R_2 = R_3 = OMe$

46, isooncodine, $R_1 = H$, $R_2 = OMe$, $R_3 = OH$

ภาพประกอบ 15 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azafluorene alkaloid

ในปี ค.ศ. 1991 โ Zhao และคณะ (Zhao, et al. 1991 : 380-383) สกัดส่วนเปลือกลำต้น
โอโศกอินเดีย ด้วย 95% EtOH พบสารประกอบ 3 ชนิดคือ 16 α -hydroxycleroda - 3,13(14)
Z - dien - 15,16 - olide , kolavenic acid (16 - methylcleroda - 3,13(14)E - 15 -
carboxylic acid) (47) และ polyalthialdoic acid (16 - oxocleroda - 3,13(14)Z - dien - 15 -
oic acid) (48) ซึ่งสาร 48 เป็นสารประกอบชนิดใหม่มีโครงสร้างของสารดังแสดงในภาพ
ประกอบ 16 เมื่อนำสารประกอบทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสามารถ
ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในโรคมะเขือเทศ (crown gall) และมีความเป็นพิษต่อเซลล์
มะเร็งของมนุษย์ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลอง ได้แก่ เซลล์ A-549 (มะเร็งปอด) เซลล์ MCF-7
(มะเร็งเต้านม) และเซลล์ HT-29 (มะเร็งที่ปลายลำไส้ใหญ่) จากการศึกษาพบว่าสาร
polyalthialdoic acid แสดงการออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในโรค
มะเขือเทศ ได้ 95.2% และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด A-549 เซลล์ MCF-7 และเซลล์
HT-29 โดยมีค่า ED_{50} เป็น 0.684 0.552 และ 0.753 $\mu g/mL$ ตามลำดับ

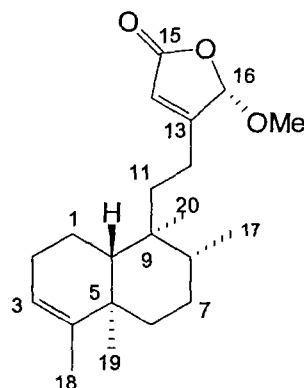


47, kolavenic acid , $R_1 = H$, $R_2 = Me$

48, polyalthialdoic , $R_1 = H$, $R_2 = CHO$

ภาพประกอบ 16 สารประกอบกลุ่ม clerodane diterpene

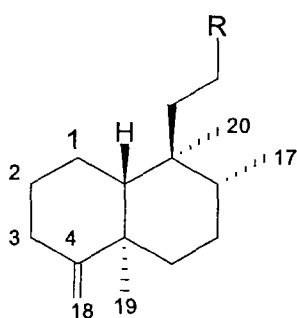
ในปี ค.ศ. 1992 ชากราบาร์ตี และแนธ (Chakrabarty & Nath.1992 : 256-258) สกัดสารจากเปลือกต้นอโศกอินเดียด้วย petroleum ether โดยใช้เครื่อง soxhlet กากที่ได้ไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบ diterpene ประเภท γ -hydroxy - butenolide clerodane diterpene และนำสารชนิดนี้ไปทำปฏิกิริยา methylation แล้วแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่ประเภท γ -hydroxy - butenolide clerodane diterpene ชื่อ 16α - methoxycleroda - 3,13Z - dien - 16,15 - olide (49) มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 17



49, 16α - methoxycleroda - 3,13 Z - dien - 16,15 - olide

ภาพประกอบ 17 สารชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene

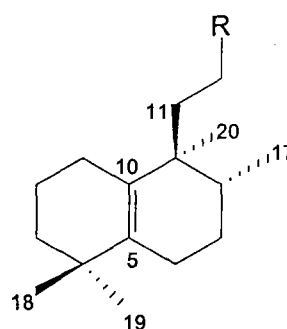
ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 ฮารา และคณะ (Hara, et al. 1995 : 189 - 194) นำเปลือกต้น
 อโศกอินเดีย มาสกัดด้วย hexane โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัดที่ได้มาแยกและทำให้
 บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบทั้งหมด 4 กลุ่ม นำแต่ละกลุ่มมาแยกอีกครั้ง
 ด้วยเครื่อง HPLC ได้สารประกอบชนิดใหม่ 9 ชนิด คือกลุ่ม clerodane diterpene 3 ชนิด ได้แก่
 16 – hydroxycleroda – 4(18), 13 – dien – 16,15 – olide (50), 16 – oxocleroda – 4
 (18),13E – dien – 15 – oic acid (51) และ cleroda – 4(18), 13 – dien – 16,15 – olide (52)
 กลุ่ม ent – halimane diterpene 6 ชนิด ได้แก่ 16 – hydroxy – ent – halima – 5(10),13 –
 dien – 16,15 – olide (53), ent – halima – 5(10),13E – dien – 15 – oic acid (54), ent –
 halima – 1(10),13E – dien – 15 – oic acid (55), 16 – oxo – ent – halima – 5(10),13E –
 dien – 15 – oic acid (56), ent – halima – 5(10),13 – dien – 16,15 – olide (57) และ ent –
 halima – 1(10),13 – dien – 16,15 – olide (58) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ clerodane
 diterpene ที่ทราบชื่อมาก่อนแล้ว 4 ชนิด ได้แก่ 16 – hydroxycleroda – 3,15 – dien – 16,15
 – olide , cleroda – 3,13E – dien – 15 – oic acid , cleroda – 4(18),13E – dien – 15 – oic
 acid , 16 – oxocleroda – 3,13 – dien – 16 – oic acid และ cleroda – 3,13Z – dien –
 16,15 – olide โครงสร้างของสาร 50 – 58 แสดงดังภาพประกอบ 18



50, R = A

51, R = C

52, R = D



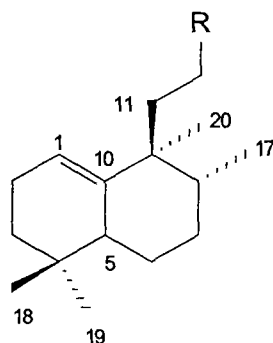
53, R = A

54, R = B

56, R = C

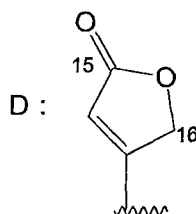
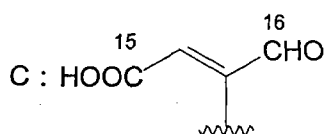
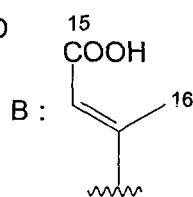
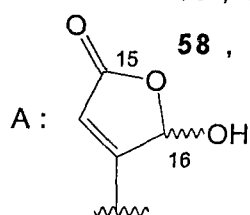
57, R = D

ภาพประกอบ 18 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpenes และ
 ent – halimane diterpenes



55, R = B

58, R = D



ภาพประกอบ 18 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpenes

และ ent – halimane diterpenes

***Polyalthia longifolia* Var. pendulla.**

ในปี ค.ศ.1994 ฮาซัน, ฮอสเซนและคณะ (Hasan, Hossain, et al. 1994 :

283 -284) ได้สกัดสารจากต้นโศกพม่า (*Polyalthia longifolia* Var.) พบสารประกอบ 3 ชนิด

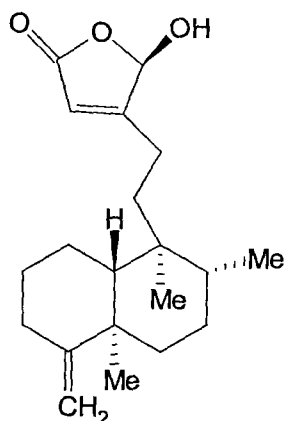
ได้แก่ 16 β -hydroxycleroda -13,13(14) Z - dien -15,16 - olide , 16 - oxo - cleroda -

3,13(14) E - dien - 15 - oic acid และ kolavenic acid ในปีต่อมา ฮาซัน, อิสแลม และ ราซิด

(Hasan, Islam & Rashid. 1995 : 227 - 228) สกัดสารและแยกทำให้บริสุทธิ์ได้สารประกอบ 4

ชนิด ได้แก่ 2 - oxo kolavenic acid, lanuginosine, liriodenine และ สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม

clerodane diterpene (59) มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 19

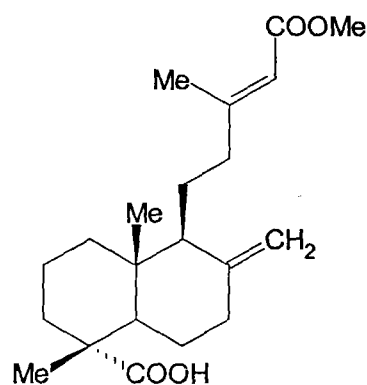


59, clerodane diterpene

ภาพประกอบ 19 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene

Polyalthia macropoda King.

ในปี ค.ศ.1990 ลาโวลต์ และคณะ (Lavault, et al. 1990 : 3845-3847) สกัดและแยก แอลคาลอยด์จากเปลือกลำต้น *Polyalthia macropoda* King. โดยทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH แล้วสกัดด้วย CHCl_3 นำสารสกัด CHCl_3 ที่ได้มาเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง แยกชั้นกรดออกมาแล้วทำให้เป็นเบส สกัดด้วย CHCl_3 แยกชั้น CHCl_3 ออกมาระเหยให้แห้งได้สารสกัด แอลคาลอยด์ นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบ 4 ชนิด อยู่ในกลุ่ม aporphine alkaloid 3 ชนิด ได้แก่ (-) – oliveroline , (-) – N – oxyoliveroline และ liriodenine อีก 1 ชนิดจากกลุ่ม benzyloisoquinolines คือ (-) – coclaurine ในปีต่อมา ริชมี และคณะ (Richomme, et al. 1991 : 552-554) สกัดสารจากเปลือกลำต้นด้วย hexane พบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม diterpene ชื่อ (4S , 9R , 10R) – methyl – 18 – carboxy – labda – 8,13(E) – diene – 15 – oate หรือ (-) – monomethylester – 15 – dehydropinifolic acid (**60**) มีโครงสร้างแสดงดังภาพประกอบ 20 สารประกอบชนิดนี้สามารถออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อโปรโตซัว *Leishmania denovani donovani* ได้ในหลอดทดลองโดยมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อโปรโตซัว ได้ 100% ที่ความเข้มข้น 1.5 $\mu\text{g/mL}$ โดยมีค่า LD_{50} เป็น 0.75 $\mu\text{g/mL}$

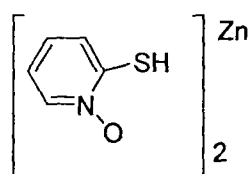


60, (-) – monomethylester – 15 – dehydropinifolic acid

ภาพประกอบ 20 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม diterpene จาก *P. macropoda* King.

Polyalthia nemoralis

ในปี ค.ศ. 1980 ฮาน, ฮู และคณะ (Han, Hsu, et al. 1980 : 285 - 286) ได้สกัดสารจากต้น *Polyalthia nemoralis* ซึ่งเป็นสมุนไพรพื้นบ้านในประเทศจีนที่ใช้รักษาโรคตับอักเสบและมาเลเรีย ได้สารประกอบชื่อ zinc polyanemine ในปีต่อมาฮาน, ฮู และคณะ (Han, Xu, et al. 1981 : 433 - 437) ทำการศึกษาต่อสามารถแยกได้สารประกอบที่มีชื่อว่า 2 – mercaptopyridine – N – oxide – Zn salt (61) สารประกอบชนิดนี้แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย ชื่อ *Plasmodium berghei* ได้ โครงสร้างของสาร (61) แสดงในภาพประกอบ 21

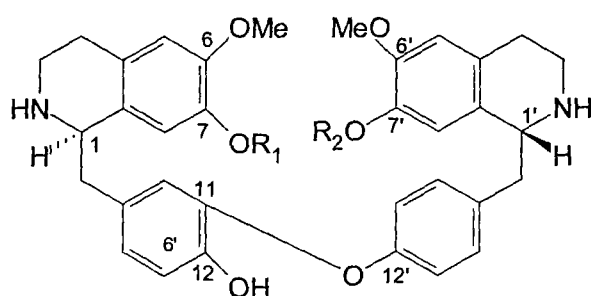


61, 2 - mercaptopyritine - N - oxide Zn salt

ภาพประกอบ 21 สารประกอบประเภท zinc – contain compounds จาก *P. nemoralis*

Polyalthia nitidissima

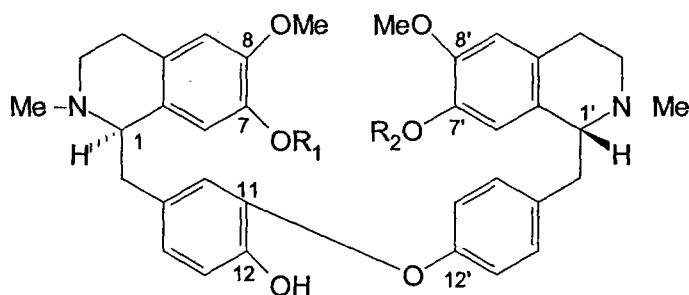
ในปี ค.ศ. 1983 โจสแซง, เลอเบิฟ, คาบาเลี่ยน และคณะ (Jossang, Leboeuf, Cabalion, et al. 1983 :20 - 24) นำส่วนประกอบต่างๆ ของต้น *Polyalthia nitidissima* ได้แก่ เปลือกลำต้น ใบ และ ผล มาสกัดและแยกสารแอลคาลอยด์ โดยทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH แล้วนำมาสกัดด้วย CHCl_3 นำสารสกัด CHCl_3 ที่ได้มาเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง แยกชั้นกรดออกมาทำให้เป็นเบส แล้วสกัดต่อด้วย CHCl_3 แยกชั้น CHCl_3 มาระเหยให้แห้ง ได้สารสกัดแอลคาลอยด์ นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี สารประกอบจากเปลือกลำต้นเป็นแอลคาลอยด์ชนิดใหม่ 4 ชนิด กลุ่ม bisbenzyltetrahydroisoquinolines ได้แก่ O - methyl - 7 - lindoldhamine (62), O - methyl - 7' - lindoldhamine (63), N , N' - dimethylindoldhamine (64) และ isodaurisoline (65) โครงสร้างสารแสดงในภาพประกอบ 22 นอกจากนี้ยังพบสารประกอบที่ทราบชื่อแล้ว ได้แก่ lindoldhamine , dauricine , กลุ่ม aporphinoides ได้แก่ liriodenine กลุ่ม tetrahydroprotoberberine ได้แก่ stepholidine สารประกอบจากส่วนใบและผลเป็นแอลคาลอยด์กลุ่ม benzyltetrahydroisoquinoline ได้แก่ reticuline และ protosinomenine กลุ่ม aporphinoides ได้แก่ ushinsunine , nor-ushinsunine และ liriodenine กลุ่ม tetrahydroprotoberberine ได้แก่ stepholidine



(62), O - methyl - 7 - lindoldhamine, $\text{R}_1 = \text{Me}$, $\text{R}_2 = \text{H}$

(63), O - methyl - 7' - lindoldhamine, $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{Me}$

ภาพประกอบ 22 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม bisbenzyltetrahydroisoquinolines
จาก *P. nitidissima*



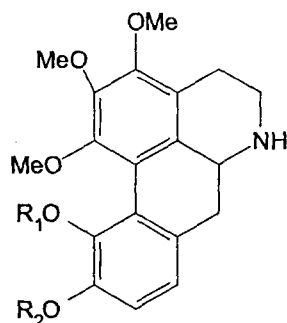
(64), *N, N'* – dimethylindoldhamine, $R_1 = R_2 = H$

(65), isodaurisoline, $R_1 = Me, R_2 = H$

ภาพประกอบ 22 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม bisbenzyltetrahydroisoquinolines
จาก *P. nitidissima*

Polyalthia oligosperma

ในปี ค.ศ. 1978 ไกลน์วเดอลัว และคณะ (Guinaudeau, et al. 1978 : 166 - 172) ได้สกัดสารและแยกสารจากส่วนเปลือกลำต้นแห้งของ *Polyalthia oligosperma* พบสารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่ที่มีโครงสร้าง 1,2,3 – trimethoxy – 10,11 – methylenedioxy noraporphine ชื่อ polygospermine (66) และ noroconovine (67) โครงสร้างของสารดังกล่าวประกอบ 23 นอกจากนี้ยังพบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม 2,3 – dimethoxylated tetrahydropyprotoberberine ส่วนสารที่ทราบชื่อแล้วได้แก่ xylopinine, kikemanine



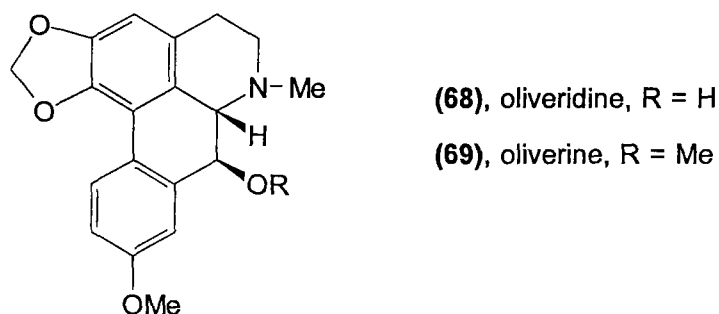
(66), polygospermine, $R_1 = R_2 = Me$

(67), noroconovine, $R_1 = H, R_2 = Me$

ภาพประกอบ 23 สารประกอบชนิดใหม่ จาก *P. oligosperma*

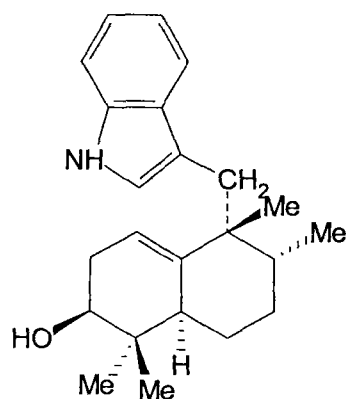
***Polyalthia oliveri* Engl.**

ในปี ค.ศ. 1974 ฮามอนนิเช่ , เลอเบิฟและกาเว้ (Hamonnice, Leboeuf & Cave. 1974 : 921-924) ได้สกัดสารจากส่วนเปลือกลำต้นของต้น *Polyalthia oliveri* นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids 2 ชนิด ได้แก่ oliveridine (68) และ oliverine (69) โครงสร้างของสารดังภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม aporphine alkaloids จาก *P. oliveri*

ต่อมาในปี ค.ศ. 1976 ฮามอนนิเช่ และคณะ (Hamonnice, et al. 1976 : 1045-1047) นำสารสกัด petroleum ether จากส่วนเปลือกไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม triterpene ชื่อ polycarpol (15α - hydroxyagnosterol) ในปีเดียวกัน เลอเบิฟและคณะ (Leboeuf, et al. 1976 : 3559-3562) ได้ทำการสกัดและแยกได้สารประกอบ polyalthenol (70) โครงสร้างของสารดังภาพประกอบ 25



(70), polyalthenol

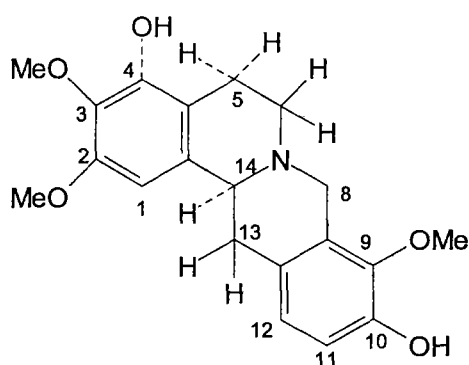
ภาพประกอบ 25 สารประกอบ polyalthenol จาก *P. oliveri*

Polyalthia sclerophylla

ในปี ค.ศ. 1996 กอนซาเลซ, เซนแทนต์ และคณะ (Gonzalez, Sentadreu, et al. 1996 : 1361 - 1364) สกัดสารจากเปลือกลำต้น *Polyalthia sclerophylla* ด้วย MeOH นำสารสกัด MeOH มาทำ partition ด้วย CH_2Cl_2 และสารละลาย 50% MeOH นำชั้นสารละลาย CH_2Cl_2 ล้างด้วยสารละลาย 5% KOH นำสารสกัดชั้น CH_2Cl_2 และชั้นน้ำมาทำให้เป็นกลาง นำสารสกัดทั้ง 2 ส่วนมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารประกอบกลุ่ม sesquiterpene benzopyran และอนุพันธ์ prenylate benzopyran 4 ชนิด ได้แก่ polycerasoidin, polycerasoidol, (6*E*,10*E*) – isopolycerasoidol และ trans – asarone

***Polyalthia stenopetala* Finet & Gagnep**

ในปี ค.ศ. 1990 ลาโวลต์ และคณะ (Lavault, et al. 1990 : 3845 - 3847) ได้สกัดและแยกแอลคาลอยด์จากเปลือกลำต้น *Polyalthia stenopetala* โดยทำให้เป็นเบสด้วย NH_4OH แล้วนำมาสกัดด้วย CHCl_3 สารสกัด CHCl_3 ที่ได้นำมาเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง แยกชั้นกรดออกมาแล้วทำให้เป็นเบส สกัดต่อด้วย CHCl_3 แยกชั้น CHCl_3 ระเหยให้แห้งได้สารแอลคาลอยด์นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่กลุ่ม tetrahydropprotoberberine คือ (-) – thaipetaline (71) โครงสร้างสารแสดงดังภาพ ประกอบ 26 และสารประกอบที่ทราบชื่อแล้วได้แก่ (-) – discretamine ส่วนกลุ่ม aporphine alkaloid ได้แก่ (-) – asimilobine , liriodenine , oxostephanine และกลุ่ม azafluorenone



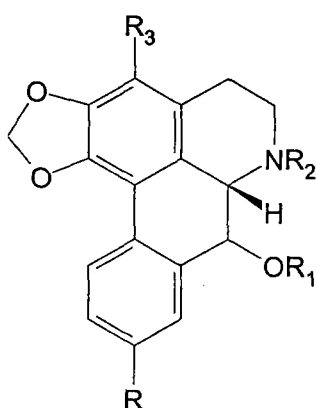
(71), (-) – thaipetaline

ภาพประกอบ 26 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม tetrahydropprotoberberine

จาก *P. stenopetala*

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

ในปี ค.ศ. 1978 กาเว้ และคณะ (Cave, et al. 1978 : 243 - 250) ได้สกัดสารจากส่วนเปลือกลำต้น *Polyalthia suaveolens* พบสารประกอบแอลคาลอยด์ดังนี้ oliverine (72), oliveridine (73), oliveroline (74), guaterine (75), pachypodanthine (76), polyalthine (77), polysuavine (78), noroliverine (79), lysicamine, oxostephanine และ polyveoline มีโครงสร้างของสารดังภาพประกอบ 27



72, R = MeO, R₁ = R₂ = Me, R₃ = H

73, R = MeO, R₁ = R₃ = H, R₂ = Me

74, R = R₁ = R₃ = H, R₂ = Me

75, R = R₁ H, R₂ = Me, R₃ = MeO

76, R = R₂ = R₃ = H, R₁ = Me

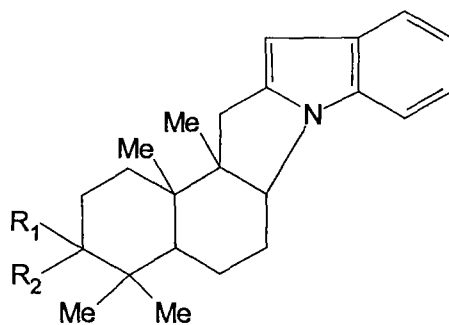
77, R = R₃ = MeO, R₁ = H, R₂ = Me

78, R = OH, R₁ = R₂ = Me, R₃ = Me

79, R = MeO, R₁ = Me, R₂ = R₃ = H

ภาพประกอบ 27 สารประกอบ alkaloid จาก *P. suaveolens*

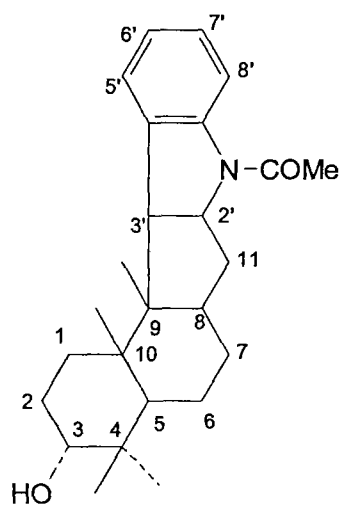
ในปี ค.ศ. 1980 โอโกไร (Okorie. 1980 : 2005 - 2008) สกัดและแยกสารจากส่วนลำต้นพบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม indolosesquiterpene alkaloids 3 ชนิด ได้แก่ polyavolensin (80), polyavolensinol (81) และ polyavolensinone (82) ในปีต่อมา โอโกไร (Okorie. 1981 : 2575 - 2578) สกัดสารจากลำต้นด้วย hexane ร้อน และนำสารสกัดมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบกลุ่มเดียวกันชื่อ polyavolinamide (83) ในปีเดียวกัน ฮ็อกเกอร์มิลเลอร์และคณะ (Hocquemiller, et al. 1981 : 5057 - 5060) สามารถแยกสารกลุ่ม indolosesquiterpene alkaloids ได้เช่นกัน สารนี้คือ polyveoline (84) มีโครงสร้างของสารดังภาพประกอบ 28



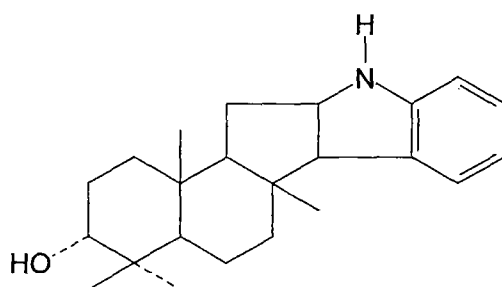
80, polyavolensin , $R_1 = \text{OAc}$, $R_2 = \text{H}$

81, polyavolensinol , $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$

82, polyavolensinone , $R_1 = R_2 = \text{O}$



83, polyavolinamide

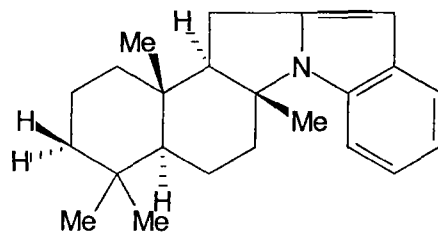


84, polyveoline

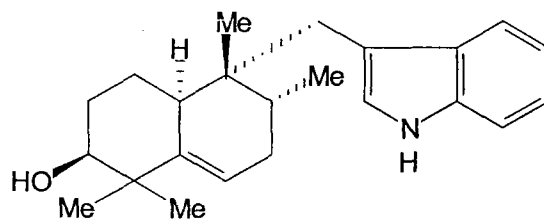
ภาพประกอบ 28 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม indolosesquiterpene alkaloids

จาก *P. suaveolens*

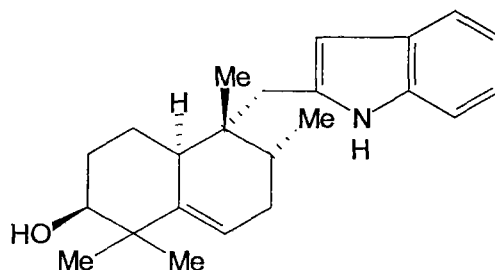
ในปี ค.ศ. 1982 ฮาซาน, แฮลลีย์ และคณะ (Hasan, Healey, et al. 1982 : 2807 -2812) พบ greenwayodendrine (85) ซึ่งเป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ชนิดใหม่ที่แยกได้จากส่วนเปลือกลำต้น ในปี ค.ศ. 1985 คูนเนสช์ และคณะ (Kunesch, et al. 1985 : 4937-4940) ได้สกัดและแยกสารจาก *Polyalthia suaveolens* พบสารประกอบชนิดใหม่ 2 ชนิด กลุ่ม indolosesquiterpene alkaloid คือ isopolyalthenol (86) และ neopolyalthenol (87) มีโครงสร้างดังภาพประกอบ 29



85, greenwayodendrine



86, isopolyalthenol



87, neopolyalthenol

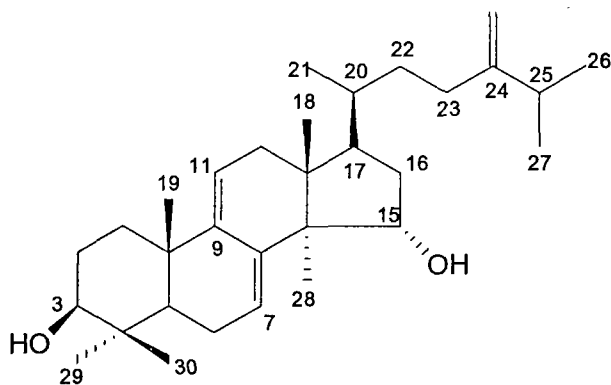
ภาพประกอบ 29 สารประกอบชนิดใหม่จาก *P. suaveolens*

***Polyalthia suberosa* thw.**

ในปี ค.ศ. 1985 แदन และคณะ (Dan, et al. 1985 : 73 - 76) ได้สกัดสารจากส่วนเปลือกต้น *Polyalthia suberosa* ด้วย alcohol ในเครื่อง soxhlet เติมน้ำมัน ether ลงในสารสกัด alcohol นำส่วนที่ละลายใน ether มาเติมกรด แล้วนำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบ scopoletin, β -sitosterol, β -sitosterol - β -D-glucoside ต่อมาปี ค.ศ. 1986 โกเยล และกุปตา (Goyal & Gupta. 1986 : 152) ได้สกัดสารจากใบด้วย petroleum light (60-80°C) พบสารประกอบ triterpene ได้แก่ β -amyrin, lupeol และ α -amyrin สารประกอบ sterols ได้แก่ β -sitosterol, stigmasterol และ campesterol

ในปี ค.ศ. 1992 เฟรดซัส, อิสแลม และฮาซัน (Ferdous, Islam & Hasan. 1992 : 99 – 103) พบสารประกอบ alkaloid 5 ชนิด ซึ่งแยกได้จากสารสกัด CHCl_3 ในส่วนเปลือกลำต้น ได้แก่ dxo stephanine, lanuginosine, liriodenine, 3,10,11-trihydroxy-1,2-methylenedioxy-noraporphine และ asimilobine

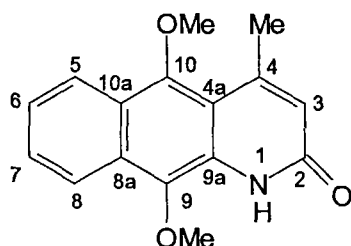
ในปี ค.ศ. 1993 ลีและคณะ (Li, et al. 1993 : 1130 - 1133) สกัดสารจากลำต้นและใบด้วย 95% ETOH นำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีและ preparative TLC พบสาร lanostane triterpene ชนิดใหม่ชื่อ suberosol (24-methylenelanost-7,9(11)-diene-3 β ,15 α -diol) (88) โครงสร้างของสารแสดงในภาพประกอบ 30 สารประกอบชนิดนี้มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อ HIV ในเซลล์ H9 lymphocyte โดยมีค่า EC_{50} เป็น 3 $\mu\text{g/mL}$ และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์ H9 lymphocyte ที่ไม่ติดเชื้อ HIV โดยมีค่า IC_{50} เป็น 20 $\mu\text{g/mL}$



88, suberosol

ภาพประกอบ 30 สารประกอบ triterpene ชนิดใหม่จาก *P.suberosa*

ในปี ค.ศ. 2000 ตูจินดา และคณะ (Tuchinda, et al. 2000 : 1078-1082) นำส่วนลำต้นแห้งมาสกัดด้วย MeOH นำสารสกัด MeOH มาต้มด้วย acetone ในเครื่อง soxhlet ได้สารสกัด acetone นำไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azaanthracene alkaloid ชื่อ kalasinamide (89) (1 – aza – 9,10 – dimethoxy – 4 – methyl – 2 – oxo - 1,2 - dihydroanthracene) โครงสร้างของสารแสดงในภาพประกอบ 31 นอกจากนี้ยังได้สารประกอบที่ทราบชื่อแล้วได้แก่ *N* – trans – feruloyltyramine และ *N*- trans – *p* - coumaroyltyramine

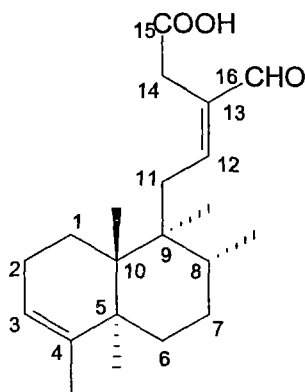


89kalasinamide

ภาพประกอบ 31 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม azaanthracene

Polyalthia viridis

ในปี ค.ศ.1989 คิจโจว, พินโต และ เฮอร์ซ (Kijjoa, Pinto & Herz. 1989 : 205 - 206) พบสารประกอบ 16-hydroxy-3,13Z-kolavadien-16,15-olide จากสารสกัดส่วนเปลือกของ *Polyalthia viridis* ต่อมาปี ค.ศ. 1993 คิจโจว และคณะ (Kijjoa, et al. 1993 : 457 - 460) สกัดสารจากส่วนเปลือกของ *Polyalthia viridis* แล้วนำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม clerodane diterpene ชื่อ 3,12E – kolavadien – 15 - oic acid – 16 - al (90) มีโครงสร้างแสดงดังภาพประกอบ 32



90, 3,12E – kolavadien –15 - oic acid – 16 - al

ภาพประกอบ 32 สารประกอบชนิดใหม่กลุ่ม Clerodane diterpene จาก *P. Viridis*

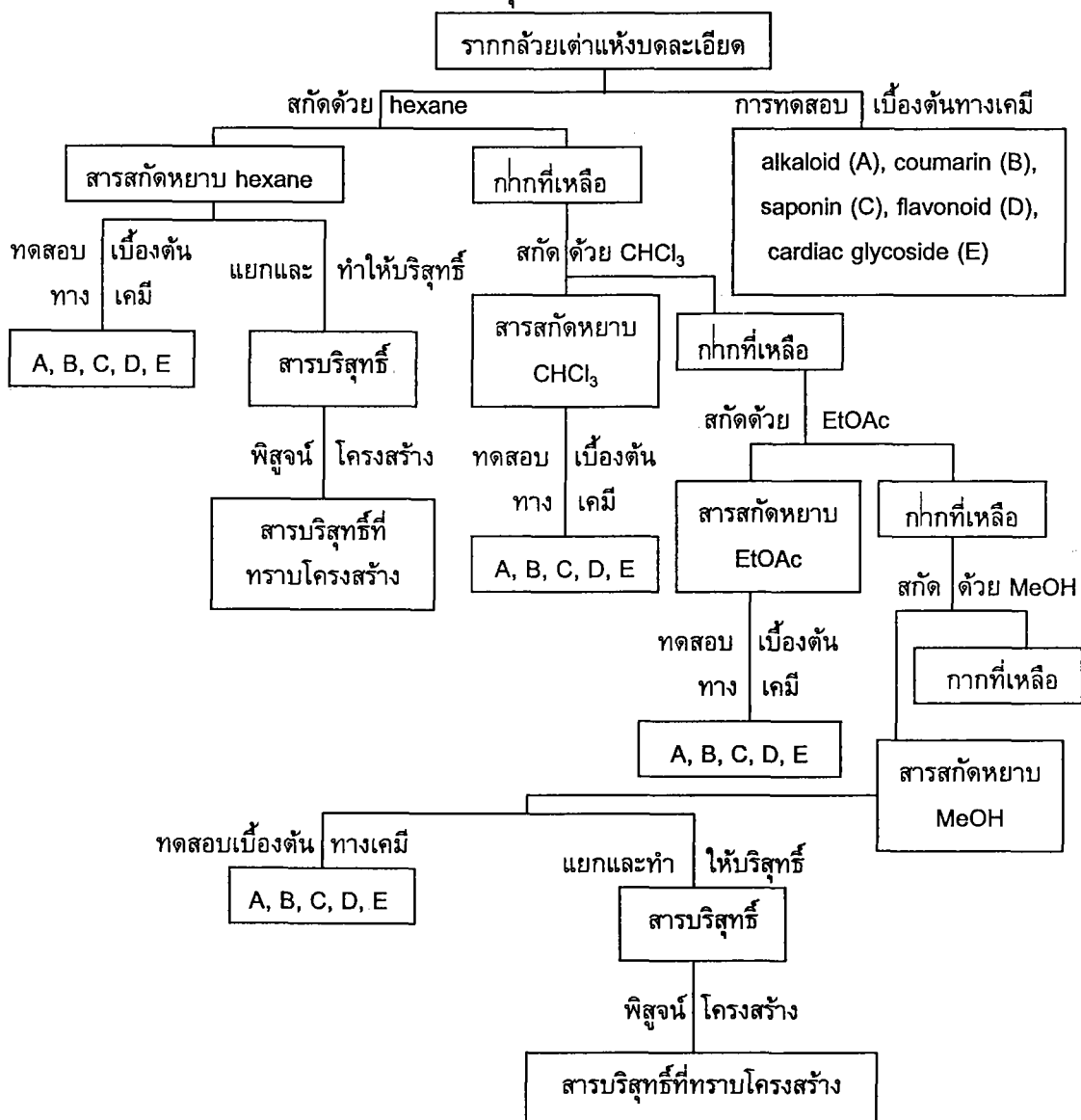
บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้ (ภาพประกอบ 33)

1. การทดสอบเบื้องต้นทางเคมีเพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า
2. การสกัดและการแยกสารจากรากกล้วยเต่า และการทำสารให้บริสุทธิ์
3. การศึกษาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้



ภาพประกอบ 33 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในงานวิจัย

ใช้ส่วนรากของต้นกล้วยเต่า (*Polyalthia debilis* (Pierre) Finet & Gagnep) ที่ตากแห้งบดละเอียด เก็บจากอุทยานแห่งชาติภูจองนางอย จังหวัดอุบลราชธานี ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 410 เมตร ทิศเหนือ 14 องศา 26 ลิปดา ทิศตะวันออก 105 องศา 16 ลิปดา เมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ.2541 และเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2542 ได้ผ่านการตรวจเอกลักษณ์ โดยคุณณรงค์ นันทแสน เจ้าหน้าที่พฤกษศาสตร์ หอพรรณไม้ กรมป่าไม้ ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ อัตราส่วนของตัวดูดซับ : สาร คือ 25 : 1 การบรรจุตัวดูดซับลงในคอลัมน์ใช้การบรรจุแบบเปียก

การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้

ใช้ข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี ได้แก่ การวัดสเปกตรัมอินฟราเรด (FT IR) ใช้เครื่องมือที่มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ การวัดสเปกตรัมนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR) ใช้เครื่องมือที่มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒและที่สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และแมสสเปกตรัม (EI MS) ใช้เครื่องมือที่สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

วัสดุและสารเคมี

1. ตัวทำละลายอินทรีย์ (commercial grade) ที่ผ่านการกลั่นก่อนนำมาใช้ ได้แก่ acetone chloroform dichloromethane ethanol ethyl acetate hexane methanol
2. ตัวทำละลายอินทรีย์ (AR. Grade, E. Merck) ได้แก่ chloroform ethanol petroleum ether octanol
3. รากกล้วยเต่าแห้งบดละเอียด
4. ลวดแมกนีเซียม
5. สารละลาย 0.5 % coumarin ใน ethanol
6. สารละลาย 0.5 % umbelliferone ใน ethanol
7. สารละลาย 10 % lead acetate
8. acetic anhydride (AR. Grade, E. Merck)
9. ammonia T.S. (ดูในภาคผนวก)
10. anh. sodium sulfate (AR. Grade, E. Merck)
11. conc.HCl (AR. Grade, E. Merck)

- | | |
|---|--|
| 12. conc. H ₂ SO ₄ | (AR. Grade, E. Merck) |
| 13. dil. H ₂ SO ₄ | |
| 14. HCl 2 M | (AR. Grade, E. Merck) |
| 15. H ₂ SO ₄ 1 M | (AR. Grade, E. Merck) |
| 16. NaOH 1 M | (AR. Grade, E. Merck) |
| 17. NH ₄ OH 6 M | (AR. Grade, E. Merck) |
| 18. Dragendorff's reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 19. Kedde's reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 20. Keller-Kiliani's reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 21. Mayer's reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 22. spray reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 23. Tannic acid reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 24. Wagner's reagent | (ดูในภาคผนวก) |
| 25. Silica gel G 60 No. 7729 | (ขนาดน้อยกว่า 0.063 mm ,
AR. Grade, E. Merck) |
| 26. Silica gel G 60 No. 7734 | (ขนาด 0.063 – 0.200 mm ,
AR. Grade, E. Merck) |
| 27. Silica gel G 254 No. 7734 | (AR. Grade, E. Merck) |
| 28. แผ่นแก้วสไลด์เคลือบด้วย silica gel สำหรับ thin layer chromatography | |

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10, 7, 5, 4, 3, 2.5, 1.5 cm
2. เครื่องแก้วพื้นฐาน
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa 240 A)
4. เครื่องบดสมุนไพร
5. Water bath
6. Rotary evaporator (Büchi Rotavapor R-114, Switzerland)
7. เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Electrothermal - 9100, Griffin, UK.)
8. Freeze - dryer (FTS system FD - 3 - 55D - MP, USA)
9. Infrared spectrophotometer (Perkin Elmer system 2000 FTIR)
10. Mass spectrometer (Finnigan MAT INCOS 50)
11. Nuclear magnetic resonance spectrometer (Bruker AM 400, 400 MHz)

12. Portable UV lamp (spectroline , USA)

13. เครื่องเคลือบ Preparative TLC (thin layer chromatography)

1. การทดสอบเบื้องต้นทางเคมีเพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า

1.1 การทดสอบ alkaloid

ใช้น้ำยาดกตะกอน alkaloid เนื่องจาก alkaloid มีคุณสมบัติในการรวมตัวกับน้ำยาดกตะกอนให้เป็นเกลือหรือสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำจึงตกตะกอน ควรใช้น้ำยาดกตะกอน alkaloid 4 - 5 ชนิดขึ้นไป (อัมพร คุณเอนก. 2541 : 79 ; Farnsworth. 1966 : 254 - 255)

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol 0.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติม 1 M H_2SO_4 จำนวน 10 mL นำไปต้มจนเดือด ทิ้งให้เย็นแล้วกรองใส่ สารละลายที่ได้ เติม 6 M NH_4OH จำนวน 10 mL รินสารละลายทั้งหมดลงในกรวยแยก สกัดด้วย chloroform จำนวน 10 mL แยกชั้น chloroform ใส่ในกรวยแยก นำมาสกัดต่อด้วย 1 M H_2SO_4 จำนวน 10 mL แยกชั้นสารละลายกรดออกมาและเทลงในหลอดทดลอง 4 หลอด หลอดละ 1 mL เติมน้ำยาดกตะกอน alkaloid หลอดละ 1 mL สังเกตสีของตะกอนที่เกิดขึ้น

Dragendorff's reagent	ให้ตะกอนสีส้ม-น้ำตาลส้ม
Tannic acid reagent	ให้ตะกอนสีขาว
Mayer's reagent	ให้ตะกอนสีขาว-เหลือง
Wagner's reagent	ให้ตะกอนสีน้ำตาลแดง

1.2 การทดสอบ cardiac glycoside

การทดสอบในพืชโดยวิธีทางเคมีที่ให้ผลนั้นควรทำ color reaction test ด้วยรีเอเจนต์หรือปฏิกิริยาที่มีผลต่อองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 3 ส่วนของ cardiac glycoside (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. 2534 : 89 - 90) ; (Farnworth. 1966 : 260 - 262)

1.2.1 การทดสอบส่วน steroid skeletal ด้วยวิธี Liebermann - Burchard's reaction

1.2.2 การทดสอบส่วน unsaturated lactone ที่ C17 ด้วย Kedde's reagent

1.2.3 การทดสอบ deoxy sugar ด้วย Keller - Kiliani's reagent

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol อย่างละ

2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติม 70% ethanol จำนวน 24 mL ทำให้อุ่นที่อุณหภูมิ 50 - 60°C คนตลอดเวลาประมาณ 15 - 20 นาที กรองสารสกัดผ่านสำลีใส่ขวดรูปกรวย เติมสารละลาย lead acetate 10% w/w จำนวน 15 mL ผสมให้เข้ากันดี ทำให้อุ่นบน hot plate 15 นาที คนตลอดเวลา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่าน Buchner funnel สารละลายที่กรองได้นำไปใส่กรวยแยกสกัดด้วย chloroform 3 ครั้ง ครั้งละ 30, 20 และ 20 mL ตามลำดับ ขณะสกัดเขย่าเบาๆ ตลอดเวลา แยกเอาระเหย chloroform ออกมาเก็บไว้ในขวดรูปกรวย เติม anhydrous sodium sulfate เพื่อดูดความชื้นออก คนขณะเติมสารดูดความชื้น จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองที่แห้งใส่ในขวดกันกลม ระเหย chloroform ออกด้วย rotary evaporator ให้เหลือ 1 ใน 10 ของปริมาตรเดิม ทำให้อยู่เย็น รินสารละลายลงในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดละ 2 mL แล้วนำไปทำ reaction test ดังนี้

1.2.1 การทดสอบส่วน steroid skeletal

นำหลอดทดลองที่ 1 ไปประเหบบน water bath จนเกือบแห้ง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติม acetic anhydride 3 หยด เขย่าแล้วค่อยๆ หยด conc. H_2SO_4 ลงไปข้างหลอด 1 หยด ให้ผสมเข้ากันดี สังเกตการเปลี่ยนแปลงทันทีและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ถ้ามีส่วน steroid ปฏิกริยาการเปลี่ยนสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นแดง ม่วง น้ำเงิน เขียว ตามลำดับ

1.2.2 การทดสอบส่วน unsaturated lactone ที่ C 17 ด้วย Kedde's reagent

นำหลอดที่ 2 ไปประเหบบน water bath จนเกือบแห้ง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติม Kedde's reagent จำนวน 1 mL และ NaOH 1 M จำนวน 2-3 หยด สังเกตสีที่เกิดขึ้น ถ้ามี lactone ring จะได้สารละลายสีม่วง สีม่วงอมน้ำเงิน หรือสีม่วงอมชมพู

1.2.3 การทดสอบ deoxy sugar ด้วย Keller - Kiliani's reagent

นำหลอดทดลองที่ 3 มาประเหบบนเกือบแห้ง เติม Keller - Kiliani's reagent ($FeCl_3$ reagent) จำนวน 3 mL เขย่าให้เข้ากันดี เอียงหลอดทดลองแล้วค่อยๆ เติม conc. H_2SO_4 ลงข้างหลอดจำนวน 1-2 mL ให้เห็นแยกชั้นออกเป็น 2 ชั้น ตั้งหลอดให้ตรง สังเกตสีที่เกิดขึ้นระหว่างชั้นผิวของรีเอเจนต์ ถ้ามี deoxy sugar สีจะแพร่เข้าไปในชั้นของ glacial acetic acid

1.3 การทดสอบ saponin

1.3.1 ทดสอบด้วยวิธี foam test ฟองของ saponin มีลักษณะเป็นวงแหวนสูง 1 - 10 ซม. คงทนอยู่อย่างน้อย 10 นาที เมื่อเติม HCl 2 M ลงไปฟองยังคงอยู่

1.3.2 ทดสอบสีด้วย Liebermann - Burchard's reaction (วิณา จิรจรรย์กุล. 2534 : 141) ; (Farnsworth. 1966 : 259)

ขั้นตอนการทดสอบ

1.3.1 ทดสอบ foam test

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol อย่างละ 1 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวย เติมน้ำร้อนจำนวน 10 mL ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เขย่าแรงๆ 10 วินาที แล้วกรอง นำสารละลายที่ได้ใส่ในขวดรูปกรวยจำนวน 1 mL แล้วเจือจางด้วยน้ำจนมีปริมาตรครบ 10 mL เขย่าแรง ๆ สังเกตว่ามีฟองลักษณะเป็นวงแหวนสูง 1 - 10 ซม. และคงทนอยู่นานอย่างน้อย 10 นาทีหรือไม่ ถ้าเกิดขึ้นให้เติม HCl 2 M จำนวน 2 หยด สังเกตฟองยังคงอยู่หรือไม่ ถ้ามี saponin ฟองจะยังคงอยู่

1.3.2 ทดสอบสี

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol อย่างละ 2 กรัม เติมน้ำละลาย dil. H_2SO_4 จำนวน 10 mL เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้ม 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น กรอง และนำสารละลายที่ได้ไปใส่กรวยแยก สกัดด้วย chloroform 2 ครั้ง ครั้งละ 15 mL แยกชั้น chloroform ออกมาเก็บไว้ในขวดรูปกรวย เติมน้ำ anhydrous sodium sulfate กรองใส่ขวดก้นกลม ระเหย chloroform ออกด้วย rotary evaporator จนเกือบแห้ง แล้วนำไปทดสอบด้วยวิธีการเดียวกันกับการทดสอบ cardiac glycoside ถ้ามี saponin จะเกิดสีขึ้นตามชนิดของ saponin โดย steroidal saponin ให้สีน้ำเงินหรือเขียวแกมน้ำเงินอ่อน triterpenoid ให้สีแดง สีม่วง หรือสีม่วง

1.4 การทดสอบ flavonoid

1.4.1 ทดสอบด้วยปฏิกิริยา cyanidin reaction เพื่อตรวจ γ - benzopyrone nucleus พบ flavonol flavanone xanthone flavone chalcone และ aurone

1.4.2 ทดสอบด้วยปฏิกิริยากับต่าง (อัมมบุญ ล้วนรัตน์. 2534 : 109 - 110) ; (Farnsworth. 1966 : 260 - 264)

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol อย่างละ 2 กรัม ใส่ในโกร่ง เติมน้ำมัน petroleum ether จำนวน 15 mL บดจนไม่มีสีออกมาในชั้นของ petroleum ether จากนั้นรินสารละลาย petroleum ether ออก นำกากที่เหลือบดกับ 80% ethanol จำนวน 15 mL และนำสารละลายที่ได้ไปทดสอบดังนี้

1.4.1 ทดสอบ cyanidin reaction

เติมน้ำละลายจำนวน 1 mL ลงในหลอดทดลอง ใส่หลอดแมกนีเซียม 3 - 4 อัน เติมน้ำ conc. HCl 10 หยด สังเกตสีส้มถึงสีแดงที่เกิดขึ้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเจือจางสารละลายด้วยน้ำใช้ปริมาตรเท่าตัว เติมน้ำ octanol จำนวน 1 mL เขย่าและตั้งทิ้งไว้แยกชั้น

สังเกตสีแต่ละชั้นจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ถ้ามี flavonol flavanone flavanonol และ xanthone จะให้สีแดงถึงสีม่วงแดง ส่วน flavone chalcone และ aurone จะให้สีส้มในชั้น octanol

1.4.2 ทดสอบปฏิกิริยากับด่าง

นำสารละลายจำนวน 1 mL เติมลงในหลอดทดลอง แล้วเติม ammonia T.S ที่ละลาย สังเกตสีที่เกิดขึ้น ถ้าเป็น flavone flavonol และ xanthone จะให้สีเหลือง ถ้าเป็น flavanonol จะให้สีส้มน้ำตาล ส่วน flavanone จะให้สีส้มแดง chalcone และ aurone จะให้สีม่วงแดงทันที

1.5 การทดสอบ coumarin

การทดสอบสารในกลุ่ม coumarin จะอาศัยปฏิกิริยาการเรืองแสง (photo effect) โดยใช้ fluorescent test ซึ่ง coumarin ชนิดที่ระเหยได้จะเห็นการเรืองแสงที่กระต่ายกรอง ส่วน coumarin ชนิดที่ไม่ระเหยมักต้องสกัดด้วยแอลกอฮอล์แล้วพ่นด้วยสารละลายต่างก่อนจึงจะเห็นการเรืองแสง (วันดี กฤษณพันธ์. 2534 : 128) ; (Farnsworth. 1966 : 265)

ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol อย่างละ 3 กรัมใส่ในขวดรูปกรวย เติมน้ำกลั่นให้ขึ้น นำกระต่ายกรองซูป NaOH 1 M ปิดปากขวดและทับด้วยแผ่นอลูมิเนียมบาง หลังจากนั้นนำขวดรูปกรวยไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 40°C นาน 30 นาที นำกระต่ายกรองออกวางบนกระดาษฟิคา นำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 365 nm สังเกตการเรืองแสง ถ้าไม่เรืองแสงให้นำส่วนกากที่เหลือเติม 95% ethanol จำนวน 10 - 15 mL นำไปต้มให้ร้อนบน hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรอง นำสารละลายที่ได้มาจุดบนกระต่ายกรองที่ซูปด้วยสารละลาย NaOH 1 M นำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต เปรียบเทียบการเรืองแสงกับสารมาตรฐานคือ 0.5% coumarin ใน ethanol และ 0.5% umbelliferone ใน ethanol ถ้าเป็น coumarin ชนิดระเหยได้จะเรืองแสงสีเขียวอมเหลือง ส่วนอนุพันธ์ของ coumarin เช่น umbelliferone esculetin scopoletin จะเรืองแสงสีฟ้า

2. การสกัดสารจากรากกล้วยเต่า การแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์

2.1 การสกัดสารจากรากกล้วยเต่า

2.1.1 การสกัดด้วย hexane

นำรากกล้วยเต่าที่อบแห้งแล้วและบดละเอียดหนัก 6 กิโลกรัม แบ่งใส่โถแก้วขนาดใหญ่ 2 ใบ ใบละ 3 กิโลกรัม แช่ด้วย hexane ปริมาตร 6 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ แล้วแช่กากซ้ำด้วย hexane อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการกรองทุกครั้งมารวมกัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C นำ

สารที่ได้มากำจัดความชื้นออกโดยใช้ freeze dryer สารที่ได้คือสารสกัดหยาบ hexane น้ำหนัก 41.55 g แบ่งเก็บไว้สำหรับทดสอบทางเคมีเบื้องต้น 5 g ส่วนที่เหลือเก็บไว้สำหรับการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

2.1.2 การสกัดด้วย chloroform

นำกากที่เหลือจากการสกัดสารด้วย hexane มาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แบ่งใส่โถแก้วขนาดใหญ่ 2 ใบ แช่ด้วย chloroform ปริมาตร 6 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเก็บสารละลายที่กรองได้ แล้วแช่กากซ้ำด้วย chloroform อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการกรองทุกครั้งมารวมกัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C นำสารที่ได้มากำจัดความชื้นออกโดยใช้ freeze dryer สารที่ได้คือสารสกัดหยาบ chloroform น้ำหนัก 39.60 g นำไปทดสอบทางเคมีเบื้องต้น 5 g

2.1.3 การสกัดด้วย ethyl acetate

นำกากที่เหลือจากการสกัดสารด้วย chloroform มาผึ่งให้แห้งในที่ร่มแบ่งใส่โถแก้วขนาดใหญ่ 2 ใบ แช่ด้วย ethyl acetate ปริมาตร 6 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเก็บสารละลายที่กรองได้ แล้วแช่กากซ้ำด้วย ethyl acetate อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการกรองทุกครั้งมารวมกัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C นำสารที่ได้มากำจัดความชื้นออกโดยใช้ freeze dryer สารที่ได้คือสารสกัดหยาบ ethyl acetate น้ำหนัก 38.42 g นำไปทดสอบทางเคมีเบื้องต้น 5 g

2.1.4 การสกัดด้วย methanol

นำกากที่เหลือจากการสกัดสารด้วย ethyl acetate มาผึ่งให้แห้งในที่ร่มแบ่งใส่โถแก้วขนาดใหญ่ 2 ใบ แช่ด้วย methanol ปริมาตร 6 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเก็บสารละลายที่กรองได้ แล้วแช่กากซ้ำด้วย methanol อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการกรองทุกครั้งมารวมกัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C นำสารที่ได้มากำจัดความชื้นออกโดยใช้ freeze dryer สารที่ได้คือสารสกัดหยาบ methanol น้ำหนัก 120.77 g แบ่งเก็บไว้สำหรับทดสอบทางเคมีเบื้องต้น 5 g ส่วนที่เหลือเก็บไว้สำหรับการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

2.2 การแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์

เนื่องจากกล้วยเต่าเป็นพืชที่ยังไม่มีการศึกษาวิจัย จึงได้แยกสารสกัดเฉพาะสารสกัดหยาบที่ได้จากการแช่ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ คือ hexane และสารสกัดหยาบที่ได้จากการแช่ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูง คือ methanol โดยแสดงผลเฉพาะการแยกที่ได้สารบริสุทธิ์เท่านั้น ซึ่งมีวิธีดำเนินการดังนี้

นำสารสกัดหยาบ hexane น้ำหนัก 36 กรัม และ methanol น้ำหนัก 110 กรัม มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column chromatography) โดยใช้อัตราส่วน

สาร : silica gel ประมาณ 1 : 25 โดยน้ำหนัก (Pavia, et.al. 1955 : 732) ใช้วิธีบรรจุ silica gel แบบเปียกแล้วชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เก็บสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ออกเป็นส่วนๆ นำแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC การหาตำแหน่งของสารบนแผ่น TLC ใช้แสง UV ความยาวคลื่น 254 และ 365 nm หรือใช้ anisaldehyde sulfuric acid ฟ้นบนแผ่น TLC และนำไปให้ความร้อนที่ $80^{\circ} - 100^{\circ} \text{C}$ เป็นเวลา 5 นาที รวมส่วนที่มีขั้วใกล้เคียงกัน แล้วนำไปแยกต่อจนได้สารบริสุทธิ์ตามขั้นตอนดังนี้ (ภาพประกอบ 33)

2.2.1 การแยกสารสกัดหยาบ hexane และการทำสารให้บริสุทธิ์

1. นำสารสกัดหยาบ hexaneหนัก 36 กรัม มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ silica gel 1,000 กรัม เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane, hexane : EtOAc, EtOAc และ EtOAc : MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย เก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 120 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 8 กลุ่มคือ H1 , H2, H3, H4, H5, H6, H7 และ H8 นำแต่ละส่วนไปแยกและทำให้บริสุทธิ์ (ภาพประกอบ 34) ส่วนที่สามารถแยกได้คือ กลุ่ม H2 และ H4

2. การแยกสารกลุ่ม H 2 นำสารกลุ่ม H2หนัก 2.34 กรัม มาแยกต่อด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ silica gel 80 กรัม เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane และ hexane : CH_2Cl_2 โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย เก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกันได้สารทั้งหมด 4 กลุ่ม คือ H2.1, H2.2, H2.3 และ H2.4

เฉพาะสารกลุ่ม H2.2 เป็นสารเกือบบริสุทธิ์ จึงนำมาแยกต่อด้วยเทคนิค PLC ใช้ตัวทำละลาย hexane : CH_2Cl_2 อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร แยกสารได้ทั้งหมด 3 กลุ่มคือ H2.2.1 , H2.2.2 และ H2.2.3 โดยกลุ่ม H2.2.2 เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่าค่อนข้างบริสุทธิ์จึงนำมาตกผลึกด้วย MeOH นำผลึกที่ได้มาทำให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักหายจุตหลอมเหลว และตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (ภาพประกอบ 35) สารกลุ่ม H2.2 และ H2.2.3 ไม่สามารถแยกและทำให้บริสุทธิ์ได้

3. การแยกสารกลุ่ม H₄หนัก 2.84 กรัม มาแยกต่อด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ Silica gel 100 กรัม เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane, hexane : CH_2Cl_2 และ CH_2Cl_2 : MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย เก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 20 cm³ นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary

evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกันได้สารทั้งหมด 7 กลุ่มคือ H4.1, H4.2, H4.3, H4.4, H4.5, H4.6 และ H4.7

เฉพาะกลุ่ม H4.2 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวปนอยู่และมีปริมาณมาก เมื่อตรวจสอบด้วย TLC พบว่าเกือบบริสุทธิ์ จึงนำมาตกผลึกด้วย MeOH นำผลึกที่ได้มาทำให้แห้ง ซึ่งน้ำหนัก หาจุดหลอมเหลว และตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (ภาพประกอบ 36)

2.2.2 การแยกสารสกัดหยาบ methanol และการทำสารให้บริสุทธิ์

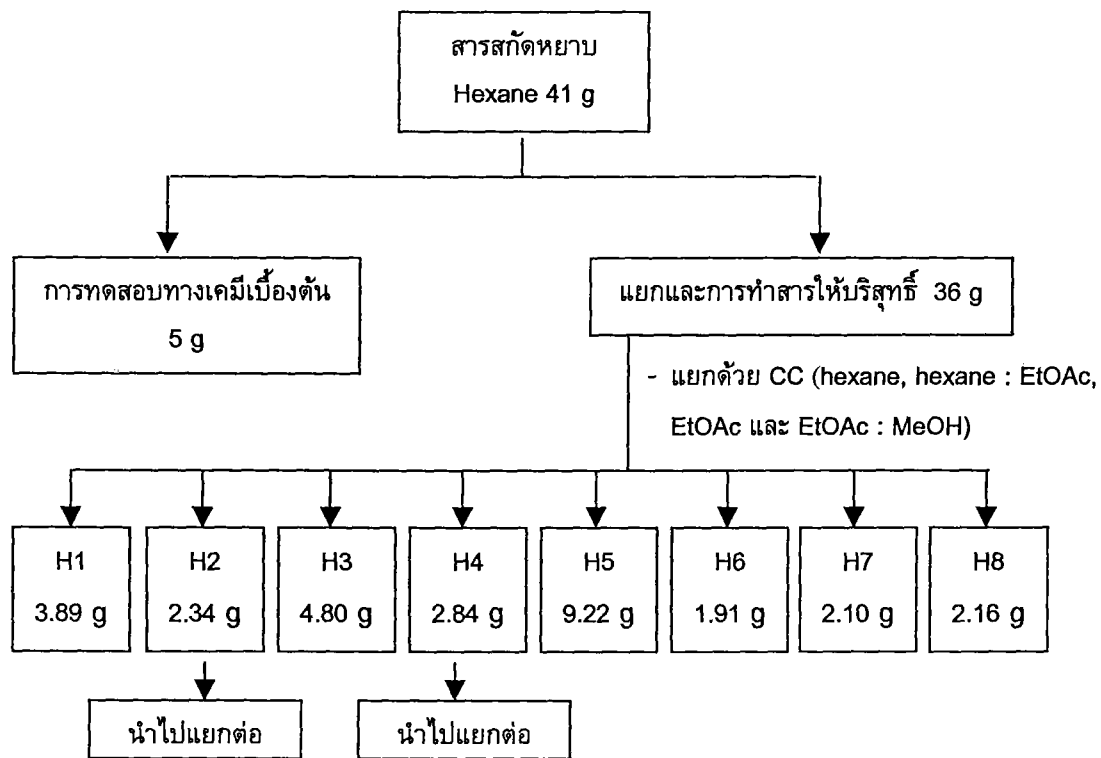
1. นำสารสกัดหยาบ methanolหนัก 110 กรัม มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ silica gel 1,500 g เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ CHCl_3 CHCl_3 : MeOH และ MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายเก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 120 cm^3 นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกันได้สารทั้งหมด 12 กลุ่มคือ M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 และ M12 (ภาพประกอบ 37) กลุ่มที่สามารถนำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ได้ คือ M5

2. การแยกสารกลุ่ม M5 นำสารกลุ่ม M5หนัก 3.85 g มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ silica gel 135 g เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ CHCl_3 CHCl_3 : Me_2CO Me_2CO Me_2CO : MeOH และ MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายเก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 20 cm^3 นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 15 กลุ่ม คือ M5.1, M5.2, M5.3, M5.4, M5.5, M5.6, M5.7, M5.8, M5.9, M5.10, M5.11, M5.12, M5.13, M5.14 และ M5.15 กลุ่มที่สามารถนำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ คือ กลุ่ม M5.3 และ M5.6

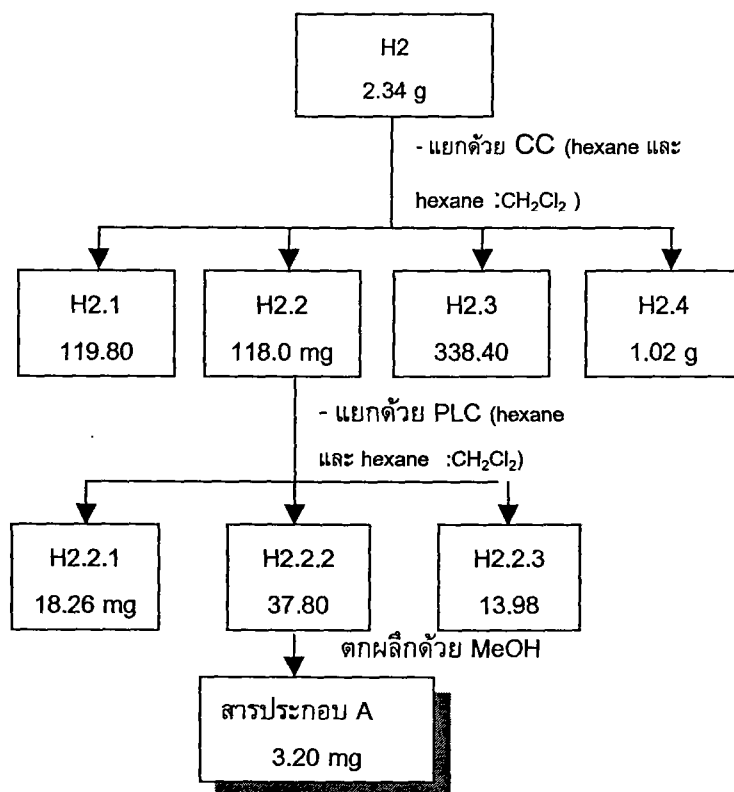
สารกลุ่ม M5.3 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวปนอยู่ เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่าเป็นสารเกือบบริสุทธิ์ จึงนำมาตกผลึกด้วย MeOH นำผลึกที่ได้มาทำให้แห้ง ซึ่งน้ำหนัก หาจุดหลอมเหลว และวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (ภาพประกอบ 38)

การแยกสารกลุ่ม M5.6 นำสารกลุ่ม M5.6หนัก 112.00 mg มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้ silica gel 12 g เป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane hexane : Me_2CO Me_2CO Me_2CO : EtOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย เก็บสารละลายที่ถูกชะผ่านคอลัมน์เป็นส่วน ส่วนละ 10 cm^3 นำสารละลายแต่ละส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 7 กลุ่ม คือ M5.6.1, M5.6.2, M5.6.3, M5.6.4, M5.6.5, M5.6.6 และ M5.6.7

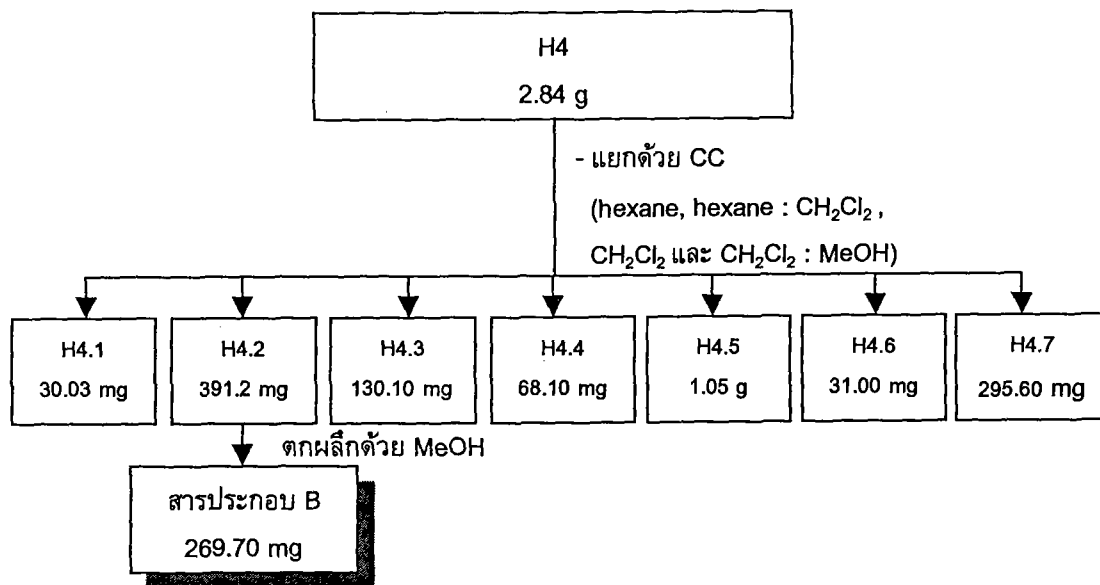
เนื่องจากสารกลุ่ม M5.6.4 เป็นสารค่อนข้างบริสุทธิ์ (21.80 mg) จึง นำมา
แยกด้วยเทคนิค PLC ใช้ตัวทำละลาย hexane : Me₂CO อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร แยกสาร
ได้ทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ M5.6.4.1 และ M5.6.4.2 กลุ่ม M5.6.4.1 มีลักษณะเป็นผงสีขาว เมื่อ
ทดสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่าเป็นสารบริสุทธิ์แล้ว จึงนำไปทำให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก หาคะจุณหอม
เหลว และตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (ภาพประกอบ 39)



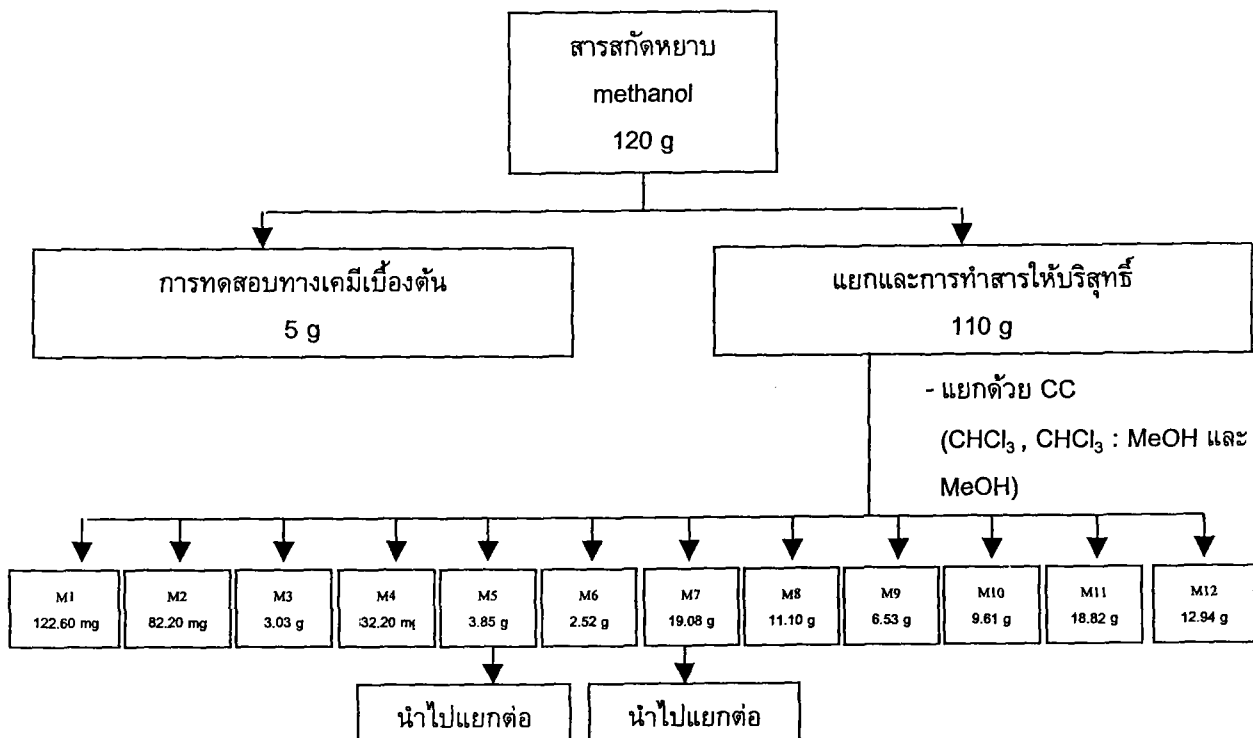
ภาพประกอบ 34 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ hexane



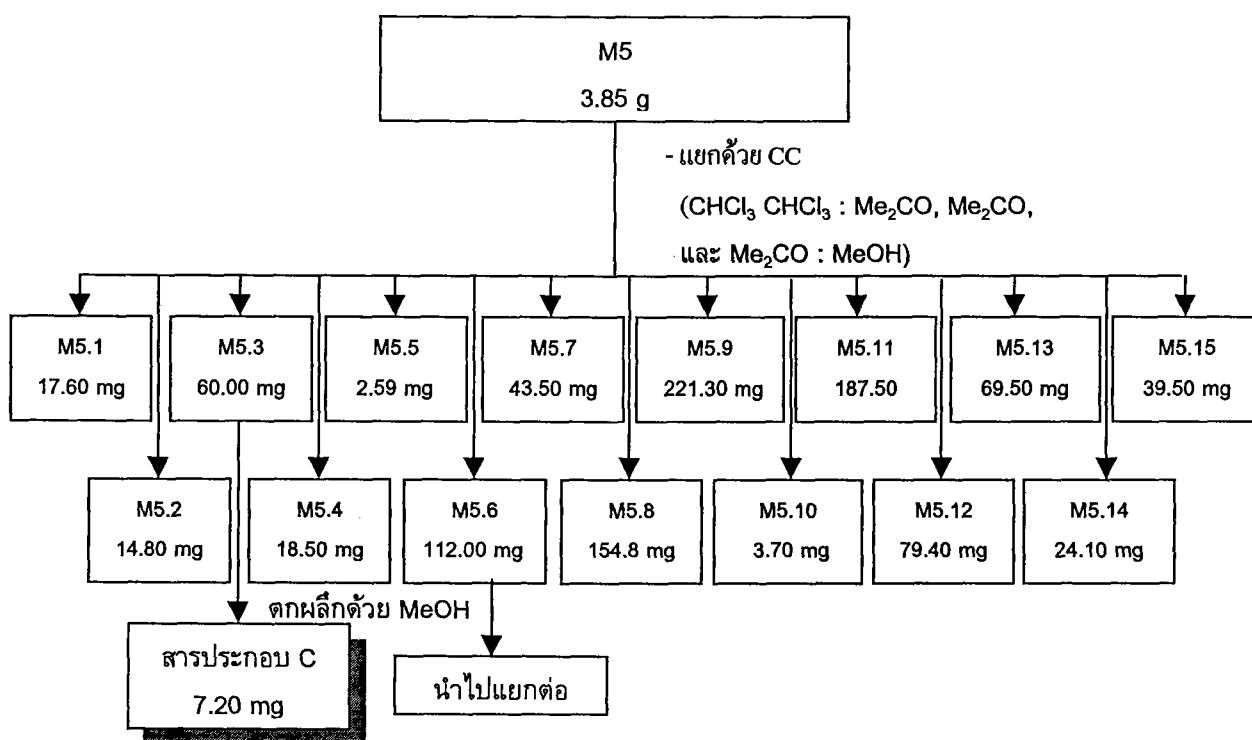
ภาพประกอบ 35 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม H2



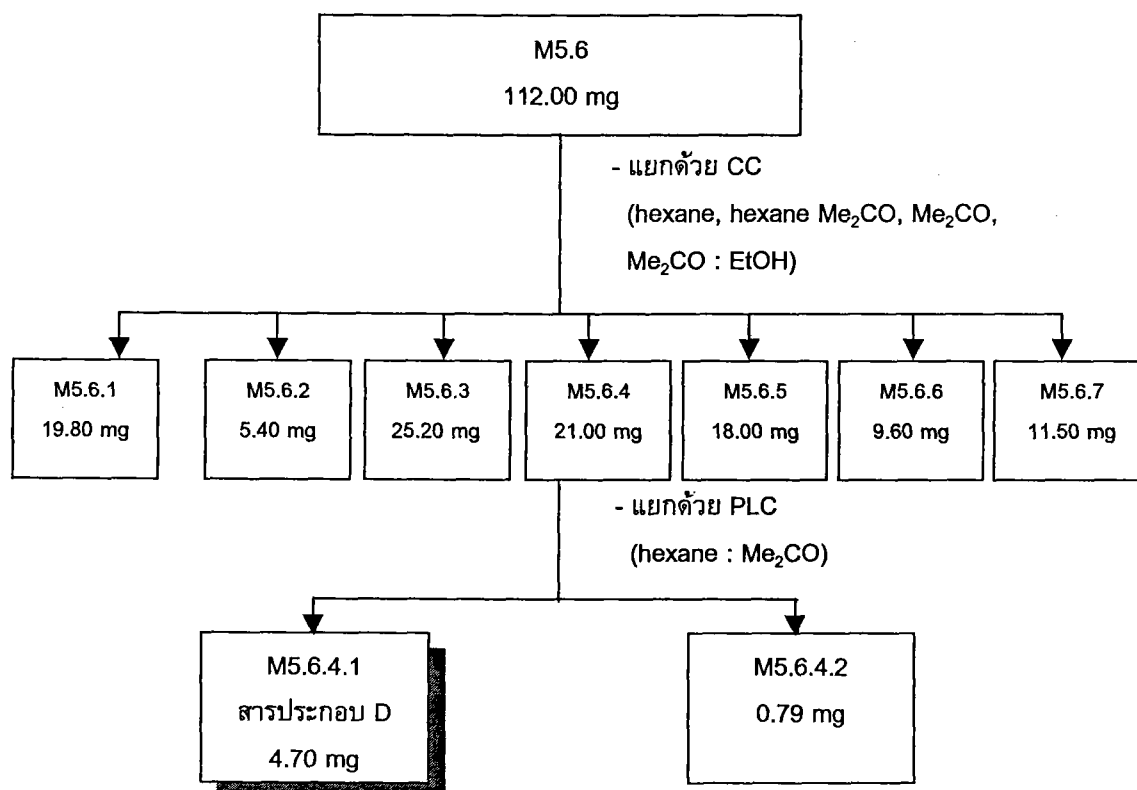
ภาพประกอบ 36 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม H4



ภาพประกอบ 37 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดหยาบ methanol



ภาพประกอบ 38 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม M5



ภาพประกอบ 39 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการแยกสารกลุ่ม M5.6

บทที่ 4 ผลการวิจัย

1. การทดสอบเบื้องต้นทางเคมีเพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า

1.1 การทดสอบ alkaloid

สารสกัดหยาบ	ผลการเกิดปฏิกิริยากับน้ำยาตกตะกอน			
	Dragendorff's reagent	Tannic acid reagent	Mayer's reagent	Wagner's reagent
hexane	ตะกอนสีน้ำตาล	ไม่เกิดตะกอน	ไม่เกิดตะกอน	ไม่เกิดตะกอน
chloroform	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้มอ่อน	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีน้ำตาล
ethyl acetate	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีส้ม	ตะกอนสีน้ำตาล
methanol	ตะกอนสีส้มแดง	ตะกอนสีขาว	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีน้ำตาล

ผลการทดสอบ

สารสกัดหยาบ methanol สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำยาตกตะกอนที่ใช้ทดสอบ alkaloid ได้ตะกอนสีที่กำหนดครบทั้ง 4 ชนิด แสดงว่ามี alkaloid ในสารสกัด methanol

1.2 การทดสอบ cardiac glycoside

การทำ color reaction test ที่มีผลต่อองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 3 ส่วน ของ cardiac glycoside ให้ผลดังนี้

1.2.1 การทดสอบส่วน steroid skeletal

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลาย	
	การเปลี่ยนแปลงทันที	การเปลี่ยนแปลงเมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
hexane	สีส้มแดง	ส้มแดง → ม่วงปนน้ำเงิน → เขียว
chloroform	เหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน → ส้มแดง → เหลือง
ethyl acetate	ส้มแดง	ส้มแดง → ม่วงปนน้ำเงิน → เขียว
methanol	ส้มแดง	ส้มแดง → ม่วงปนน้ำเงิน → เขียว

ผลการทดสอบ

สารสกัดหยาบ hexane ethyl acetate และ methanol เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลายไม่ชัดเจนจากสีชมพู เป็นสีแดง แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวซึ่งได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 3 แสดงว่ามีส่วน steroid skeletal

1.2.2 การทดสอบส่วน unsaturated lactone ที่ C17 (butenolide)

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลาย
hexane	ไม่มีสี
chloroform	สีเหลืองอ่อน
ethyl acetate	สีส้มอ่อน
methanol	สีม่วงชมพู

ผลการทดสอบ

สารสกัดหยาบ methanol เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลายเป็นไปตามที่กล่าวไว้ แสดงว่ามีส่วน unsaturated lactone ที่ C17

1.2.3 การทดสอบส่วน deoxy sugar

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลาย		
hexane	เกิดวงแหวนสีเหลืองระหว่างรอยต่อ	ชั้นบนสีส้ม	ชั้นล่างเหลืองอ่อน
chloroform	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อ	ชั้นบนสีเหลือง	ชั้นล่างไม่มีสี
ethyl acetate	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อ	ชั้นบนสีส้ม	ชั้นล่างไม่มีสี
methanol	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อ	ชั้นบนสีส้ม	ชั้นล่างไม่มีสี

ผลการทดสอบ

สารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol เกิดวงแหวนสีเหลืองหรือสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อสารละลายและสีแพร่เข้าไปในชั้นบน ซึ่งสารละลายชั้นบนเป็นชั้นของ glacial acetic acid แสดงว่าสารสกัดหยาบดังกล่าวมีส่วน deoxy sugar

จากการทดสอบส่วน steroid skeletal unsaturated lactone ที่ C17 และ deoxy sugar พบว่า สารสกัดหยาบ methanol มี color reaction test ต่อองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 3 ส่วน ของ cardiac glycoside แสดงว่าสารสกัดหยาบ methanol มี cardiac glycoside

1.3 การทดสอบ saponin

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น	
	Foam test	Liebermann - Burchard's test
hexane	ไม่เกิดฟอง	สีเขียวขี้ม้า
chloroform	ไม่เกิดฟอง	สีเขียวขี้ม้า
ethyl acetate	ไม่เกิดฟอง	สีเขียวขี้ม้า
methanol	ไม่เกิดฟอง	สีส้มแดง

ผลการทดสอบ

จากปฏิกิริยาการทดสอบฟองและการเปลี่ยนสี พบว่าสารสกัดหยาบทุกชนิดไม่มี saponin

1.4 การทดสอบ flavonoid

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น		
	Cyanidin reaction	ปฏิกิริยากับเบส	
hexane	ชั้นบนสีส้มน้ำตาล	ชั้นล่างสีเขียว	สีเหลือง
chloroform	ชั้นบนสีส้มน้ำตาลดำ	ชั้นล่างสีน้ำตาล	สีเหลือง
ethyl acetate	ชั้นบนสีน้ำตาลดำ	ชั้นล่างสีน้ำตาล	สีน้ำตาล
methanol	ชั้นบนสีแดงเลือดหมู	ชั้นล่างสีน้ำตาลอ่อน	สีส้มน้ำตาล

ผลการทดสอบ

ใน cyanidin reaction สารสกัดหยาบ hexane เกิดสีส้มน้ำตาลในชั้นบน คือ ชั้น octanol เป็นกลุ่ม flavone chalcone และ aurone แต่การเปลี่ยนสีในปฏิกิริยากับเบสให้สีเหลืองเป็นกลุ่ม flavone ส่วนสารสกัด methanol เกิดสีแดงเลือดหมูในชั้น octanol เป็นกลุ่ม flavonol flavanone flavanonol และ xanthone แต่การเปลี่ยนสีในปฏิกิริยากับเบสให้สีส้มน้ำตาล เป็นกลุ่ม flavanonol จากผลการทดสอบ cyanidin reaction และการเปลี่ยนสีในปฏิกิริยากับเบส ให้ผลการทดสอบตรงกันคือสารสกัดหยาบ hexane มี flavonoid กลุ่ม flavone และ สารสกัดหยาบ methanol มี flavonoid กลุ่ม flavanonol

1.5 การทดสอบ Coumarin

สารสกัดหยาบ	ปฏิกิริยาการเรืองแสง	
	Coumarin ชนิดระเหยได้	Coumarin ชนิดระเหยไม่ได้
hexane	ไม่เรืองแสง	ไม่เรืองแสง
chloroform	ไม่เรืองแสง	ไม่เรืองแสง
ethyl acetate	ไม่เรืองแสง	ไม่เรืองแสง
methanol	ไม่เรืองแสง	ไม่เรืองแสง

ผลการทดสอบ

สารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol ไม่เกิดการเรืองแสงใน fluorescence test แสดงว่าไม่มี coumarin ในสารสกัดหยาบดังกล่าว

ในการทดสอบเบื้องต้นทางเคมี เพื่อหาประเภทของสารอินทรีย์ในรากกล้วยเต่า พบว่า สารสกัด hexane มีสาร flavonoid กลุ่ม flavone สารสกัด chloroform และ ethyl acetate ไม่พบสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มทดสอบ ส่วนสารสกัด methanol มีสาร alkaloid cardiac glycoside และ flavonoid กลุ่ม flavanone

2. ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่าและการทำสารให้บริสุทธิ์

2.1 ผลการสกัดสารจากรากกล้วยเต่า

สารสกัด hexane มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีเขียวเข้มหนัก 41.55 g

สารสกัด chloroform มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ หนัก 39.60 g

สารสกัด ethyl acetate มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ หนัก 38.42 g

สารสกัด methanol มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีดำ หนัก 120.77 g

2.2 ผลการแยกสารสกัด hexane และการทำสารให้บริสุทธิ์

2.2.1 ผลการแยกสารสกัดหยาบ hexane หนัก 36 g ด้วยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลาย ดังนี้ hexane, hexane : EtOAc, EtOAc และ EtOAc : MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกันและมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 8 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 ผลการแยกสารสกัด hexane ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
hexane : EtOAc (90 : 10)	H 1	3.89 g	น้ำมันสีเหลืองส้ม
(80 : 20)	H 2	2.34 g	น้ำมันสีเหลืองมีของแข็งปนเล็กน้อย
(60 : 40)	H 3	4.80 g	สารเหนียวสีน้ำตาล
(40 : 60)	H 4	2.84 g	ของแข็งสีเขียวน้ำมันสีเหลืองปน
(20 : 80)	H 5	9.22 g	สารคล้ายขี้ผึ้งสีน้ำตาลเข้ม
(0 : 100)	H 6	1.91 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
EtoAc : MeOH (95 : 5)	H 7	2.10 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
(80 : 20)	H 8	2.16 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม

2.2.2 นำสารกลุ่ม H 2 น้หนัก 2.34 g มาแยกด้วยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลาย ดังนี้ hexane hexane : CH_2Cl_2 โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกันและมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 4 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 5

ตาราง 5 ผลการแยกสารกลุ่ม H 2 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
hexane : (90 : 10)	H 2.1	119.80 mg	น้ำมันสีเหลืองอ่อน
CH_2Cl_2 (70 : 30)	H 2.2	118.00 mg	ของแข็งสีเขียวน้ำตาลอ่อน
(40 : 60)	H 2.3	338.40 mg	น้ำมันสีเหลืองเข้ม
(20 : 80)	H 2.4	1.02 g	น้ำมันสีเหลืองเข้ม

2.2.3 นำสารกลุ่ม H 2.2 น้หนัก 118.00 mg ซึ่งเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มาตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่า มีจุดที่มีค่า R_f ประมาณ 0.38, 0.54 และ 0.73 ในตัวทำละลาย hexane: CH_2Cl_2 อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร จึงนำมาแยกต่อด้วยเทคนิค PLC ใช้ตัวทำละลาย hexane : CH_2Cl_2 อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร ได้สาร 3 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 ผลการแยกสารกลุ่ม H 2.2 ด้วยเทคนิค PLC

สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
H 2.2.1	18.26 mg	น้ำมันสีเหลืองเข้ม
H 2.2.2	37.80 mg	ของแข็งสีขาวปนเหลืองอ่อน
H 2.2.3	13.98 mg	น้ำมันสีเหลืองเข้ม

สารกลุ่ม H 2.2.2 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวปนเหลืองอ่อน เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่าเป็นสารค่อนข้างบริสุทธิ์แล้ว จึงนำมาล้างและตกผลึกด้วย MeOH กรอง ทำผลึกให้แห้ง ได้ผลึกสีขาวหนัก 3.20 mg ให้ชื่อว่า สารประกอบ A นำสารประกอบ A ไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง ส่วนสารกลุ่ม H 2.2.1 และ H 2.2.3 เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่ายังมีสารอีกหลายชนิดจึงไม่นำมาแยกให้บริสุทธิ์

2.2.4 นำสารกลุ่ม H 4 หนัก 2.84 g มาแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane, hexane : CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 : MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มี R_f ใกล้เคียงกันและมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 7 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 ผลการแยกสารกลุ่ม H 4 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
hexane : CH_2Cl_2 (90 : 10)	H 4.1	30.03 mg	สารคล้ายขี้ผึ้งสีเหลือง
	H 4.2	391.10 mg	ของแข็งสีขาวปนเหลืองอ่อน
	H 4.3	130.10 mg	สารคล้ายขี้ผึ้งสีน้ำตาล
	H 4.4	68.10 mg	สารคล้ายขี้ผึ้งสีน้ำตาล
CH_2Cl_2 : MeOH (97 : 3)	H 4.5	1.05 g	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
	H 4.6	31.00 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	H 4.7	295.60 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล

สารกลุ่ม H 4.2 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวปนเหลือง เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่าเป็นสารค่อนข้างบริสุทธิ์ จึงนำมาตกผลึกด้วย MeOH กรอง ทำผลึกให้แห้งได้ผลึกสีขาวหนัก 269.70 mg ให้ชื่อว่า สารประกอบ B และนำ ไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง

2.3 ผลการแยกสารสกัด methanol และการทำสารให้บริสุทธิ์

2.3.1 ผลการแยกสารสกัดหยาบ methanolหนัก 110 g ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ CHCl_3 , $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ และ MeOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกัน และมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกันได้สาร 12 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 ผลการแยกสารสกัด methanol ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
$\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (98 : 2)	M 1	122.60 mg	น้ำมันสีเหลือง
(96 : 4)	M 2	82.20 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
(94 : 6)	M 3	3.03 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
(92 : 8)	M 4	832.20 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
(90 : 10)	M 5	3.85 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
(80 : 20)	M 6	2.52 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
(70 : 30)	M 7	19.08 g	สารเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม
(60 : 40)	M 8	11.10 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
(50 : 50)	M 9	6.53 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
(40 : 60)	M 10	9.61 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
(20 : 80)	M 11	18.82 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ
(0 : 100)	M 12	21.94 g	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำ

2.3.2 นำสารกลุ่ม M 5หนัก 3.85 g มาแยกต่อด้วยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ CHCl_3 , $\text{CHCl}_3 : \text{Me}_2\text{CO}_2$, Me_2CO_2 และ $\text{Me}_2\text{CO}_2 : \text{MeOH}$ โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกัน และมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกันได้สาร 15 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 ผลการแยกสารสกัด methanol ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
CHCl ₃ : Me ₂ CO ₂	(100 : 0) M 5.1	17.60 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(95 : 5) M 5.2	14.80 mg	น้ำมันสีเหลืองเข้ม
	(90 : 10) M 5.3	60.00 mg	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
	(80 : 20) M 5.4	18.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(70 : 30) M 5.5	2.59 mg	คราบสีน้ำตาลเข้ม
	(60 : 40) M 5.6	112.00 mg	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
	(30 : 70) M 5.7	43.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(0 : 100) M 5.8	154.80 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
Me ₂ CO ₂ : MeOH	(98 : 2) M 5.9	221.30 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(96 : 4) M 5.10	3.70 mg	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
	(94 : 6) M 5.11	187.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(92 : 8) M 5.12	79.40 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(90 : 10) M 5.13	69.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(85 : 15) M 5.14	24.10 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	(60 : 40) M 5.15	39.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล

สารกลุ่ม M 5.3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่าเป็นสารค่อนข้างบริสุทธิ์ จึงนำมาล้างและตกผลึกด้วย MeOH กรองและทำผลึกให้แห้งได้ผลึกสีขาวหนัก 7.20 mg ให้ชื่อว่า สารประกอบ C และนำไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง

2.3.3 นำสารกลุ่ม M 5.6 หนัก 112.00 mg มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วชะด้วยตัวทำละลายดังนี้ hexane, hexane : Me₂CO , Me₂CO และ Me₂CO : EtOH โดยค่อยๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลาย ตรวจสอบส่วนที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกันและมีลักษณะบนแผ่น TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สาร 7 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 ผลการแยกสารกลุ่ม M 5.6 ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตัวทำละลาย	สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
hexane : Me ₂ CO (90 : 10)	M 5.6.1	19.80 mg	น้ำมันสีเหลืองเข้ม
	M 5.6.2	5.40 mg	คราบสีน้ำตาล
	M 5.6.3	25.20 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	M 5.6.4	21.00 mg	ของแข็งสีขาวปนเหลืองอ่อน
	M 5.6.5	18.00 mg	คราบสีน้ำตาล
Me ₂ CO : MeOH (98 : 2)	M 5.6.6	9.60 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล
	M 5.6.7	11.50 mg	สารเหนียวหนืดสีน้ำตาล

2.3.4 นำสารกลุ่ม M 5.6.4 น้ำหนัก 21.00 mg ซึ่งเป็นของแข็งสีขาวปนเหลืองอ่อน เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่า มีจุดที่มีค่า R_f ประมาณ 0.42 และ 0.54 ในตัวทำละลาย hexane: Me₂CO อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร จึงนำมาแยกด้วยเทคนิค PLC ใช้ตัวทำละลาย hexane : Me₂CO อัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร ได้สาร 2 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 ผลการแยกสารกลุ่ม H 5.6.4 ด้วยเทคนิค PLC

สารกลุ่ม	น้ำหนัก	ลักษณะสาร
M 5.6.4.1	4.30 mg	ของแข็งสีขาว
M 5.6.4.2	0.79 mg	น้ำมันสีเหลือง

สารกลุ่ม 5.6.4.1 เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคทาง TLC พบว่าเป็นสารบริสุทธิ์แล้วให้ชื่อว่า สารประกอบ D และนำไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง

3. การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

สารประกอบ A

สารประกอบ A เป็นของแข็งสีขาวหนัก 3.20 mg จุดหลอมเหลวเท่ากับ 299 - 302 °C

ค่า $R_f = 0.54$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : CH₂Cl₂ 7:3)

FTIR spectrum (KBr) (ภาพประกอบ 44)

2,935, 2,868	cm ⁻¹	C-H สั่นแบบยืดของ -CH, -CH ₂ ,-CH ₃
1,734	cm ⁻¹	C=O (ester)
1,686	cm ⁻¹	C=O (carboxyl)
1,466	cm ⁻¹	CH ₃
1,364	cm ⁻¹	CH ₃ COO-
1,242, 1,026	cm ⁻¹	C-O สั่นแบบยืดของ Acetate

¹H NMR spectrum (CDCl₃, 400 MHz) δ_H (ppm) (ภาพประกอบ 45, 46)

0.85	br s	3 H	(30-H)
0.88	br s	3 H	(29-H)
0.92	br s	3 H	(27-H)
0.95	br s	3 H	(23-H)
1.25	s	1 H	(22-H)
1.61	d	1 H	(2H, $J=8.76$ Hz)
1.92	dd	1 H	(16 β -H, $J=3.20, 14.64$ Hz)
2.05	s	3 H	(CH ₃ COO-)
2.27	dd	1 H	(18-H, $J=3.20, 13.79$ Hz)
2.37	dd	1 H	(16 α -H, $J=7.32, 14.11$ Hz)
4.46	dd	1 H	(3-H, $J=5.04, 9.82$ Hz)
5.52	dd	1 H	(15-H, $J=3.15, 7.77$ Hz)

¹³C NMR spectrum (CDCl₃, 100MHz) δ_C (ppm) (ภาพประกอบ 47)

37.47	(C - 1)	23.46	(C - 2)	80.89	(C - 3)
37.68	(C - 4)	55.59	(C - 5)	18.71	(C - 6)
40.78	(C - 7)	39.02	(C - 8)	49.06	(C - 9)

^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100MHz) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$ (ต่อ)

37.92	(C – 10)	17.31	(C – 11)	33.66	(C – 12)
37.34	(C – 13)	160.59	(C – 14)	116.76	(C – 15)
31.36	(C – 16)	51.38	(C – 17)	41.47	(C – 18)
35.33	(C – 19)	29.29	(C – 20)	33.32	(C – 21)
30.72	(C – 22)	27.96	(C – 23)	16.59	(C – 24)
15.62	(C – 25)	26.15	(C – 26)	22.42	(C – 27)
183.23	(C – 28)	31.89	(C – 29)	28.68	(C – 30)
21.30	CH_3	171.00	$\text{C}=\text{O}$		

EIMS (m/z) (% Relative Intensity) (ภาพประกอบ 48)

498 (0.2)	438 (4)	344 (5)
329 (8)	269 (9)	248 (36)
234 (90)	190 (112)	189(100)

สารประกอบ B

สารประกอบ B เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 269.7 mg จุดหลอมเหลวเท่ากับ

147-149 °C ค่า $R_f = 0.32$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : CH_2Cl_2 6:4)

FTIR spectrum (KBr) (ภาพประกอบ 53)

3,435	cm^{-1}	O-H สั่นแบบยืดของ ROH
2,937	cm^{-1}	C-H สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1,654	cm^{-1}	$\text{C}=\text{C}$ สั่นแบบยืด
1,459	cm^{-1}	C-H สั่นแบบงอของ CH_2 , CH_3
1,383	cm^{-1}	C-H สั่นแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin
1,054	cm^{-1}	C-O สั่นแบบยืดของ secondary alcohol
970	cm^{-1}	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ trans – configuration

^1H NMR spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) $\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$ (ภาพประกอบ 54)

0.68 – 1.02	m	18 H	(6x CH_3)
1.02 – 2.32	m	25 H	(9x CH_2 , 7xCH)
3.49 – 3.55	m	1 H	(CH-OH)

^1H NMR spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) $\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$ (ต่อ)

4.49—5.18	m	2 H	(CH=CH)
5.35	br s	1 H	(CH=C)

^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100MHz) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$ (ภาพประกอบ 55)

37.02	(C - 1)	31.62	(C - 2)	71.78	(C - 3)
42.26	(C - 4)	140.72	(C - 5)	121.69	(C - 6)
31.87	(C - 7)	31.87	(C - 8)	50.19	(C - 9)
36.48	(C - 10)	21.05	(C - 11)	39.74	(C - 12)
42.26	(C - 13)	56.84	(C - 14)	24.34	(C - 15)
28.90	(C - 16)	56.02	(C - 17)	12.02	(C - 18)
19.38	(C - 19)	40.48	(C - 20)	21.05	(C - 21)
138.30	(C - 22)	129.24	(C - 23)	51.21	(C - 24)
31.879	(C - 25)	21.20	(C - 26)	19.01	(C - 27)
25.39	(C - 28)	12.23	(C - 29)		

EIMS (m/z) (% Relative Intensity) (ภาพประกอบ 56)

412 (1.57, M)	273 (29.89)	271 (43.31)
255 (65.40)	231 (43.25)	213 (69.37)
185 (33.86)	159 (100)	

สารประกอบ C

สารประกอบ C เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 7.20 mg จุดหลอมเหลวเท่ากับ 135-137 °C

ค่า $R_f = 0.54$ (silica gel GF₂₅₄, CHCl_3 : Me_2CO 95 : 5)

FTIR spectrum (KBr) (ภาพประกอบ 59)

3,422	cm^{-1}	O-H	สั่นแบบยืดของ R-OH
2,936, 2,868	cm^{-1}	C-H	สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1,654	cm^{-1}	C=C	สั่นแบบยืด
1,465	cm^{-1}	C-H	สั่นแบบงอของ CH_2 , CH_3
1,383	cm^{-1}	C-H	สั่นแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin

1,054	cm ⁻¹	C-O สั่นแบบยืดของ secondary alcohol
959	cm ⁻¹	C-H สั่นแบบงอนอกกระนาบของ trans - configuration
800	cm ⁻¹	C-H สั่นแบบงอนอกกระนาบของ trisubstituted olefin

¹H NMR spectrum (CDCl₃, 400 MHz) δ_H (ppm) (ภาพประกอบ 60)

0.69 - 1.02	m	18 H (6xCH ₃)
1.06 - 1.73	m	22 H (11xCH ₂)
1.88 - 2.39	m	7 H (7xCH)
3.50- 3.57	m	1 H (H - 3) (-CH-OH)
4.49- 4.18	m	2 H (บางส่วนของ H - 22, H - 23)
5.35	br s	1 H (H - 6) (-C=C)

¹³C NMR spectrum (CDCl₃, 100MHz) δ_C (ppm) (ภาพประกอบ 61)

37.20 (C - 1)	31.61 (C - 2, 7,8)	71.77 (C - 3)
42.25 (C - 4,13)	140.70 (C - 5)	121.68 (C - 6)
50.08 (CI - 9, 24)	51.19 (CII - 9)	36.10 (CI - 10)
36.10 (CII - 10,20)	21.17 (C - 11,26)	39.72 (C - 12)
56.72 (C - 14)	24.32 (CI - 15)	24.25 (CII - 15)
28.88 (CI - 16)	28.20 (CII - 16)	56.00 (C - 17)
12.00 (CI - 18)	12.00 (CII - 18,29)	19.35 (C - 19,27)
40.45 (CI - 20)	21.17 (CI - 21)	18.73 (CII - 21)
138.28 (CI - 22)	33.89 (CII - 22)	129.22 (CI - 23)
26.01 (CII - 23)	45.78 (CII - 24)	31.85 (CI - 25)
129.09 (CII - 25)	25.36 (CI - 28)	23.04 (CII - 28)
12.21 (CI - 29)		

CI คือ stigmasterol

CII คือ β - sitosterol

EI MS (m/z) (% Relative Intensity) (ภาพประกอบ 63)

414 (100)	412 (79.45)	399 (31.42)
396 (48.12)	273 (38.89)	271 (38.24)
255 (65.80)	231 (62.18)	213 (72.24)

สารประกอบ D

สารประกอบ D เป็นของแข็งสีขาวหนัก 4.30 mg จุดหลอมเหลวเท่ากับ 139 – 142 °C

ค่า $R_f = 0.42$ (Silica gel GF₂₅₄ , hexane : Me₂CO 7 : 3)

FTIR spectrum (KBr) (ภาพประกอบ 64)

3614	(cm ⁻¹)	OH
3448	(cm ⁻¹)	OH สันแบบยืดของ ROH
3038 , 2932	(cm ⁻¹)	CH สันแบบยืดของ – CH ₃ , – CH ₂
1640	(cm ⁻¹)	C = C สันแบบยืดของ CH = CH ₂
1466	(cm ⁻¹)	CH สันแบบงอของ – CH ₃ , – CH ₂
1376	(cm ⁻¹)	CH สันแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin
981, 909	(cm ⁻¹)	CH สันแบบงอนอกระนาบของ R – CH = CH ₂
892	(cm ⁻¹)	CH สันแบบงอนอกระนาบของ C = CH ₂

¹H NMR spectrum (CDCl₃ , 400 MHz) δ_H (ppm) (ภาพประกอบ 65, 66, 67)

0.61	s	3H (H – 18)
0.88	s	3H (H – 29)
0.90	s	3H (H – 21, $J=6.46$ Hz)
0.94	s	3H (H – 28)
0.97	s	3H (H – 19)
1.00	s	3H (H – 30)
1.02	d	3H (H – 26, $J=6.84$ Hz)
1.03	d	3H (H – 27, $J=6.84$ Hz)
1.10	dd	1H (H – 5, $J = 3.78, 11.79$ Hz)
1.64 – 1.68	m	1H (H – 17)
2.06, 2.30	dd, d	2x1H (H – 12, $J = 6.94, 17.74$ และ $J = 17.48$ Hz)
3.25	dd	1H (H – 3, $J = 4.50, 11.29$ Hz)
4.28	dd	1H (H – 15, $J = 5.70, 9.70$ Hz)
4.65, 4.72	2s	2x1H (H – 31)
5.31	d	1H (H – 11, $J = 6.23$ Hz)
5.85	d	1H (H – 7, $J = 6.59$ Hz)

^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$ (ภาพประกอบ 68)

35.68 (C – 1)	27.72 (C – 2)	78.85 (C – 3)
38.62 (C – 4)	48.90 (C – 5)	22.89 (C – 6)
121.27 (C – 7)	140.90 (C – 8)	146.05 (C – 9)
37.37 (C – 10)	116.01 (C – 11)	38.45 (C – 12)
44.80 (C – 13)	52.00 (C – 14)	74.70 (C – 15)
40.06 (C – 16)	48.81 (C – 17)	15.87 (C – 18)
22.81 (C – 19)	35.95 (C – 20)	18.41 (C – 21)
34.81 (C – 22)	31.16 (C – 23)	156.52 (C – 24)
33.75 (C – 25)	21.95 (C – 26)	21.81 (C – 27)
17.10 (C – 28)	28.10 (C – 29)	15.76 (C – 30)
106.09 (C – 31)		

EIMS (% relative intensity) (ภาพประกอบ 70, 71)

454 (100)	421 (28)	327 (95)
286 (43)	273 (23)	239 (25)
187 (26)	185 (29)	171 (29)
159 (27)		

บทที่ 5

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

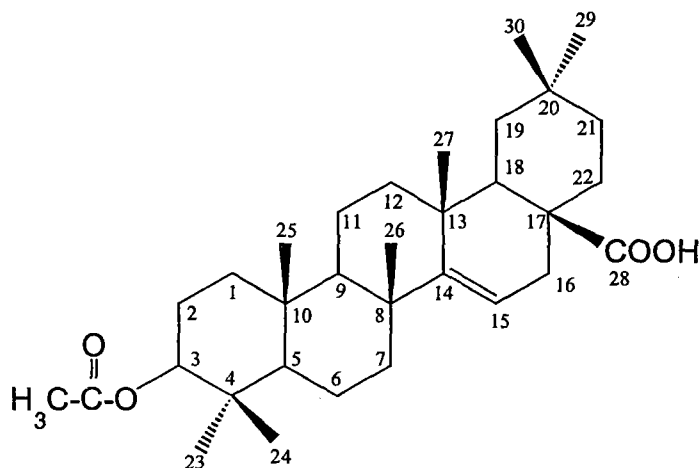
1. การทดสอบเบื้องต้นทางเคมี

นำรากกล้วยเต่าแห้งบดละเอียดมาสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารสกัดหยาบ hexane chloroform ethyl acetate และ methanol จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบเบื้องต้นทางเคมีเพื่อหาสารกลุ่มต่างๆ ได้แก่ alkaloid coumarin saponin flavonoid และ cardiac glycoside จากการทดสอบพบว่า สารสกัด hexane มีสาร flavonoid กลุ่ม flavone สารสกัด chloroform และ ethyl acetate ไม่พบสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มทดสอบ ส่วนสารสกัด methanol มีสาร alkaloid cardiac glycoside และ flavonoid กลุ่ม flavanone

2. การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

จากการทดสอบเบื้องต้นทางเคมีพบว่า สารสกัด hexane และ methanol มีสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มทดสอบ จึงนำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งสารสกัด hexane แยกได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด สารสกัด methanol แยกสารบริสุทธิ์ได้ 2 ชนิด เราสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี

สารประกอบ A



สารประกอบ A เป็นของแข็งสีขาว จุดหลอมเหลว เท่ากับ $299-302^{\circ}\text{C}$ ($288-290^{\circ}\text{C}$ Addac-Mensah, 1992 : 2057) ; ($301-302^{\circ}\text{C}$ Woo & Wagner. 1977 : 1845) ; ($302-303^{\circ}\text{C}$ Gunasekera, Cordell & Farnsworth. 1980 : 286) ; (Maciel, et al. 1998 : 827) ค่า $R_f = 0.54$ (silica gel GF₂₅₄, hexane : CH₂Cl₂, 7:3)

FTIR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 2935 และ 2863 cm^{-1} เป็น CH สันแบบยืดของ -CH, CH₂ และ -CH₃ 1734 cm^{-1} เป็นหมู่ carbonyl (C=O) ของ ester ที่ 1686 cm^{-1} เป็นหมู่ carboxyl ที่ 1466 cm^{-1} เป็นของ CH₃ ที่ 1364 cm^{-1} เป็นหมู่ CH₃COO- สำหรับการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 1242 และ 1026 cm^{-1} เป็นของ C-O สันแบบยืดของ acetate (ภาพประกอบ 44)

^1H NMR spectrum (CDCl₃, 400 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์มีลักษณะเป็น broad singlet (br s) ของหมู่ tertiary methyl 4 หมู่ ที่ δ 0.85 0.88 0.92 และ 0.95 ตรงตำแหน่ง 30 29 27 และ 23 ตามลำดับ ที่ δ 1.61 เป็นสัญญาณเรโซแนนซ์มีลักษณะเป็น doublet (d) มีค่า J เท่ากับ 8.76 Hz เป็นของ CH ที่ตำแหน่ง 1 สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 1.92 มีลักษณะเป็น doublet of doublet (dd) มีค่า J เท่ากับ 3.20 และ 14.64 Hz เป็นของหมู่ CH ที่ตำแหน่ง 16 β ที่ δ 2.05 มีลักษณะเป็น singlet (s) ของหมู่ acetate methyl (CH₃COO-) สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 2.27 เป็นของหมู่ CH ที่ตำแหน่ง 18 มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่า J เท่ากับ 3.20 และ 13.79 Hz ส่วนของหมู่ CH ที่ตำแหน่ง 16 α ปรากฏสัญญาณที่ δ 2.37 มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่า J เท่ากับ 7.32 และ 14.11 Hz สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 4.46 มี

ลักษณะเป็น doublet doublet of doublet มีค่า J เท่ากับ 5.04 และ 9.82 Hz เป็นของหมู่ oxymethine proton (OH) ที่ต่อกับหมู่ O-acetyl ที่ตำแหน่ง 3 และ สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 5.52 มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่า J เท่ากับ 3.15 และ 7.77 Hz เป็นสัญญาณของ olefinic proton ที่ตำแหน่ง 15 (ภาพประกอบ 45 และ 46)

จาก ^1H - ^1H COSY spectrum (ภาพประกอบ 49) จะเห็นการ coupling ระหว่าง H-2 กับ H-3 (δ 1.61 และ δ 4.46) H-15 กับ H-16 (δ 5.52 และ δ 2.37) H-18 กับ H-22 (δ 2.27 และ δ 1.25) ดังตาราง 13

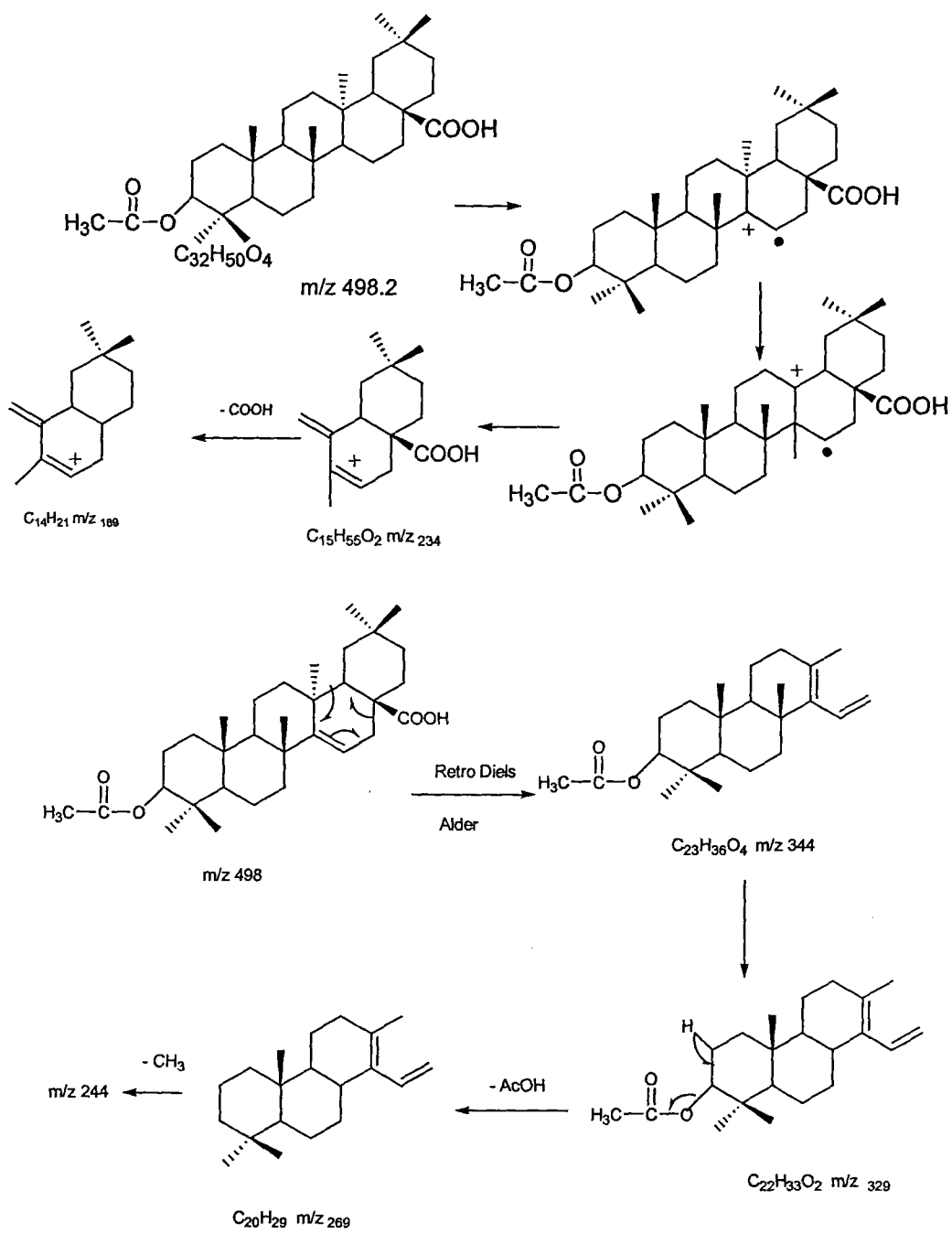
^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ 32 พีค เป็นของคาร์บอน 32 คาร์บอนในโมเลกุล (ภาพประกอบ 47) จาก DEPT-90 และ DEPT-135 spectra (ภาพประกอบ 50) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH 5 หมู่ที่ δ 80.89 (C-3) 55.59 (C-5) 49.06 (C-9) 116.76 (C-15) และ 41.47 (C-18) สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH_2 10 หมู่ปรากฏที่ δ 37.47 (C-1) 23.46 (C-2) 18.71 (C-6) 40.78 (C-7) 17.31 (C-11) 33.66 (C-12) 31.36 (C-16) 35.33 (C-19) 33.32 (C-21) และ 30.72 (C-22) ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH_3 8 หมู่ปรากฏที่ δ 15.62 (C-25) 16.59 (C-24) 21.30 (CH_3COO -) 22.42 (C-27) 26.15 (C-26) 27.96 (C-23) 28.68 (C-30) และ 31.89 (C-29) สัญญาณเรโซแนนซ์ของ quaternary carbon ที่ δ 29.29 (C-20) 37.34 (C-13) 37.68 (C-4) 37.92 (C-10) 39.02 (C-8) 51.38 (C-17) 160.59 (C-14) และ 183.23 (C-28) พบสัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ $\text{C}=\text{O}$ ที่ δ 171.0 ดังตาราง 12

EIMS spectrum ของสารประกอบ A (ภาพประกอบ 48) ให้สัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ 498 (0.2) [M^+ , $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$] 329 (8) [M^+ - $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2$ - CH_3] 269 (9) [M^+ - $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2$ - CH_3 - COOH] 234 (90) [M^+ - $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_2$] 189 (100) [M^+ - $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_2$ - COOH] (ภาพประกอบ 40) จากพีคที่ m/z 189 และ 234 แสดงว่ามีการแตกของพันธะระหว่าง C-11 กับ C-12 และพันธะระหว่าง C-8 กับ C-9 ลักษณะการแตกของพันธะเป็นรูปแบบของ Δ^{14} -taraxerene derivatives (Budzikiewicz, Wilson & Djerassi. 1963 : 3691-3692) ซึ่งเป็นการแตกแบบ retro Diels-alders แสดงให้เห็นความเกี่ยวพันของพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C-14 และ C-15 ใน ring D สังเกตได้ที่ m/z 344 ซึ่งนำไปสู่การแตกพันธะทำให้ได้พีคที่ m/z 29 และ 269 (Woo & Wagner. 1977 : 1845)

จากข้อมูลของสารประกอบ A เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลของ 3-O-acetyl aleuritolic acid หรือ 3-O-acetyl-D-fiedo-olean-14-en-28-oic acid หรือ 3 β -acetoxy taraxer-14-en-28-oic acid (Woo & Wagner, 1977 : 1845) ; (Addae-Mensah, et al. 1992 : 2057-2058) ; (Maciel, et al. 1998 : 827) ; (Kapingu, et al. 2000 : 767) โดยพิจารณาจาก FTIR spectrum (ภาพประกอบ 44) แสดงการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของหมู่ acetyl ที่ 1734 และ 1242 cm^{-1} สำหรับการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 1686 cm^{-1} เป็นหมู่

carboxyl สัญญาณ ^1H NMR spectrum (ภาพประกอบ 45 และ 46) ที่ δ 0.85-0.95 ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ quaternary methyl ที่ δ 2.05 ปรากฏสัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ acetate methyl ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 4.46 เป็นพันธะของ oxymethine proton ที่ต่อกับ O-acetyl ที่ตำแหน่ง 3 และจากการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR spectrum (ตาราง 16) พร้อมทั้งข้อมูล EI MS spectrum (ภาพประกอบ 48) แสดงให้เห็น molecular ion m/z เท่ากับ 498 สัญญาณที่ปรากฏขึ้นเป็นลักษณะการแตกพันธะของโครงสร้าง taraxer-14-ene ซึ่งมีการแตกพันธะแบบ retro-Diels-Alder และชี้ให้เห็นว่า C-14 และ C-15 ที่เป็นพันธะคู่ใน ring D นอกจากนั้นสัญญาณที่ m/z 344 ที่สามารถแตกพันธะต่อไปได้ m/z 392 269 และ 244 ข้อมูลที่ได้ ทำให้สรุปได้ว่า สารประกอบ A คือ 3-O-acetyl aleuritolic acid หรือ 3β -acetoxo taraxer-14 en-28 oic acid หรือ O-acetyl aleuritolic acid และมีสูตรโมเลกุลคือ $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$

3-acetyl aleuritolic acid หรือ 3β -acetoxo taraxer-14en-28-oic acid หรือ O-acetyl aleuritolic acid เป็นสารที่แยกได้จาก พืชวงศ์ Euphorbiaceae ได้แก่ *Phytolacca americana* L. สามารถแยกได้จากสารสกัด hexane และ methanol โดยใช้ soxhlet ส่วน *Croton cajucara* *Croton megalocarpus* แยกได้จากส่วนเปลือกลำต้นของสารสกัด petroleum ether โดยใช้ soxhlet นอกจากนี้ยังแยกสารดังกล่าวได้จากส่วนรากของ *Croton macrostachys* ซึ่งสกัดด้วย ethanol 80 % พืชสกุล *Croton* สามารถต้านแผลมีหนอง ต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นการศึกษานี้เป็นการพบสาร 3-acetyl aleuritolic acid ในพืชสกุล *Polyalthia* วงศ์ Annonaceae ครั้งแรกซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการค้นพบมาก่อน



ภาพประกอบ 40 แสดงการแตกพันธะของสารประกอบ A

ตาราง 12 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ A

ตำแหน่ง	^{13}C NMR δ_c (ppm)	DEPT 90 δ_c (ppm)	DEPT 135 δ_c (ppm)
1	37.47 (CH ₂)		37.47
2	23.46 (CH ₂)		23.46
3	80.89 (CH)	80.89	80.89
4	37.68 (C)		
5	55.59 (CH)	55.59	55.59
6	18.71 (CH ₂)		18.71
7	40.78 (CH ₂)		40.78
8	39.02 (C)		
9	49.06 (CH)	49.06	49.06
10	37.92 (C)		
11	17.31 (CH ₂)		17.31
12	33.66 (CH ₂)		33.66
13	37.34 (C)		
14	160.59 (C)		
15	16.76 (CH)	116.76	116.76
16	31.36 (CH ₂)		31.36
17	51.38 (C)		
18	41.47 (CH)	41.47	41.47
19	35.33 (CH ₂)		35.33
20	29.29 (C)		
21	33.32 (CH ₂)		33.32
22	30.72 (CH ₂)		30.72
23	27.96 (CH ₃)		27.96
24	16.59 (CH ₃)		16.59
25	15.62 (CH ₃)		15.62
26	26.15 (CH ₃)		26.15
27	22.42 (CH ₃)		22.42
28	183.23 (C)		
29	31.89 (CH ₃)		31.89
30	28.68 (CH ₃)		28.68
CH ₃ COO-	21.30		
C=O	171.00		

ตาราง 13 ข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum ของสารประกอบ A

δ_{H} (ppm)	ความสัมพันธ์กับ	δ_{H} (ppm)
1.61 (H-2)	$\leftrightarrow$	4.46 (H-3)
2.27 (H-18)	$\leftrightarrow$	1.25 (H-22)
2.37 (H-16)	$\leftrightarrow$	5.52 (H-15)
4.46 (H-3)	$\leftrightarrow$	1.61 (H-2)
5.52 (H-15)	$\leftrightarrow$	2.57 (H-16)

ตาราง 14 ข้อมูล HMQC spectrum ของสารประกอบ A

δ_{C} (ppm)		δ_{H} (ppm)	ตำแหน่งของ ^{13}C และ ^1H
21.30 (CH_3)	$\leftrightarrow$	2.05 ($\text{CH}_3\text{COO-}$)	
16.59 (C-24)	$\leftrightarrow$	0.94 (H-24)	CH_3 -24
22.42 (C-27)	$\leftrightarrow$	0.92 (H-27)	CH_3 -27
27.96 (C-23)	$\leftrightarrow$	0.95 (H-23)	CH_3 -23
28.68 (C-30)	$\leftrightarrow$	0.85 (H-30)	CH_3 -30
30.72 (C-22)	$\leftrightarrow$	1.22 (H-22)	CH_3 -22
31.36 (C-16)	$\leftrightarrow$	1.92 (H-16 β) ,	
		2.37 (H-16 α)	CH_2 -16
31.89 (C-29)	$\leftrightarrow$	0.88 (H-29)	CH_3 -29
3.66 (C-12)	$\leftrightarrow$	1.14 (H-12)	CH_2 -12
37.47 (C-1)	$\leftrightarrow$	1.61 (H-2)	CH_2 -2
1.47 (C-18)	$\leftrightarrow$	2.27 (H-18)	CH-18
80.89 (C-3)	$\leftrightarrow$	4.46 (H-3)	CH-3
116.76 (C-15)	$\leftrightarrow$	5.52 (H-15)	CH-15

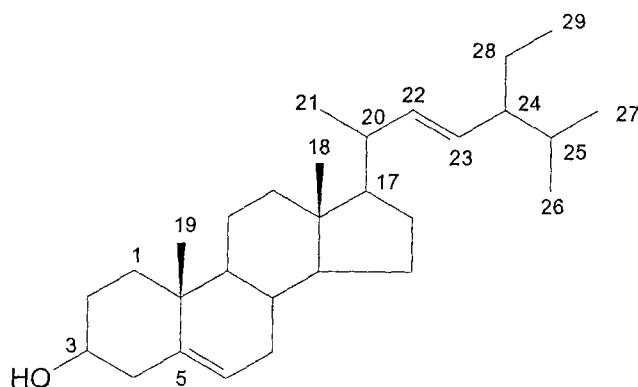
ตาราง 15 ข้อมูล HMBC spectrum ของสารประกอบ A

δ_c (ppm)	ความสัมพันธ์กับ	δ_H (ppm)
16.59 (C-24)	$\leftrightarrow$	4.46 (H-3)
29.29 (C-20)	$\leftrightarrow$	0.88 (H-29)
51.38 (C-17)	$\leftrightarrow$	2.37(H-16 α), 1.92 (H-16 β)
55.59 (C-5)	$\leftrightarrow$	5.52 (H-15)
80.89 (C-3)	$\leftrightarrow$	1.61 (H-2)
116.76 (H-15)	$\leftrightarrow$	2.37 (H-16)

ตาราง 16 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ A

ตำแหน่ง	3-O-acetylleucitol acid (Addae-Mensah, et al, 1992 : 2057-2058)	สารประกอบ A
1	37.4	37.47
2	23.5	23.46
3	80.8	80.89
4	37.7	37.68
5	55.6	55.59
6	18.7	18.71
7	40.7	40.78
8	39.0	39.02
9	49.1	49.06
10	37.9	37.92
11	17.3	17.31
12	33.7	33.66
13	37.3	37.34
14	160.5	160.59
15	116.9	116.76
16	31.3	31.36
17	51.5	51.38
18	41.3	41.47
19	35.3	35.33
20	29.3	29.29
21	33.3	33.32
22	30.7	30.72
23	27.9	27.96
24	16.6	16.59
25	15.6	15.62
26	26.2	26.15
27	22.5	22.42
28	184.5	183.23
29	31.8	31.89
30	28.6	28.68
CH ₃ COO-	21.3	21.30
C=O	171.0	171.00

สารประกอบ B



Stigmasterol

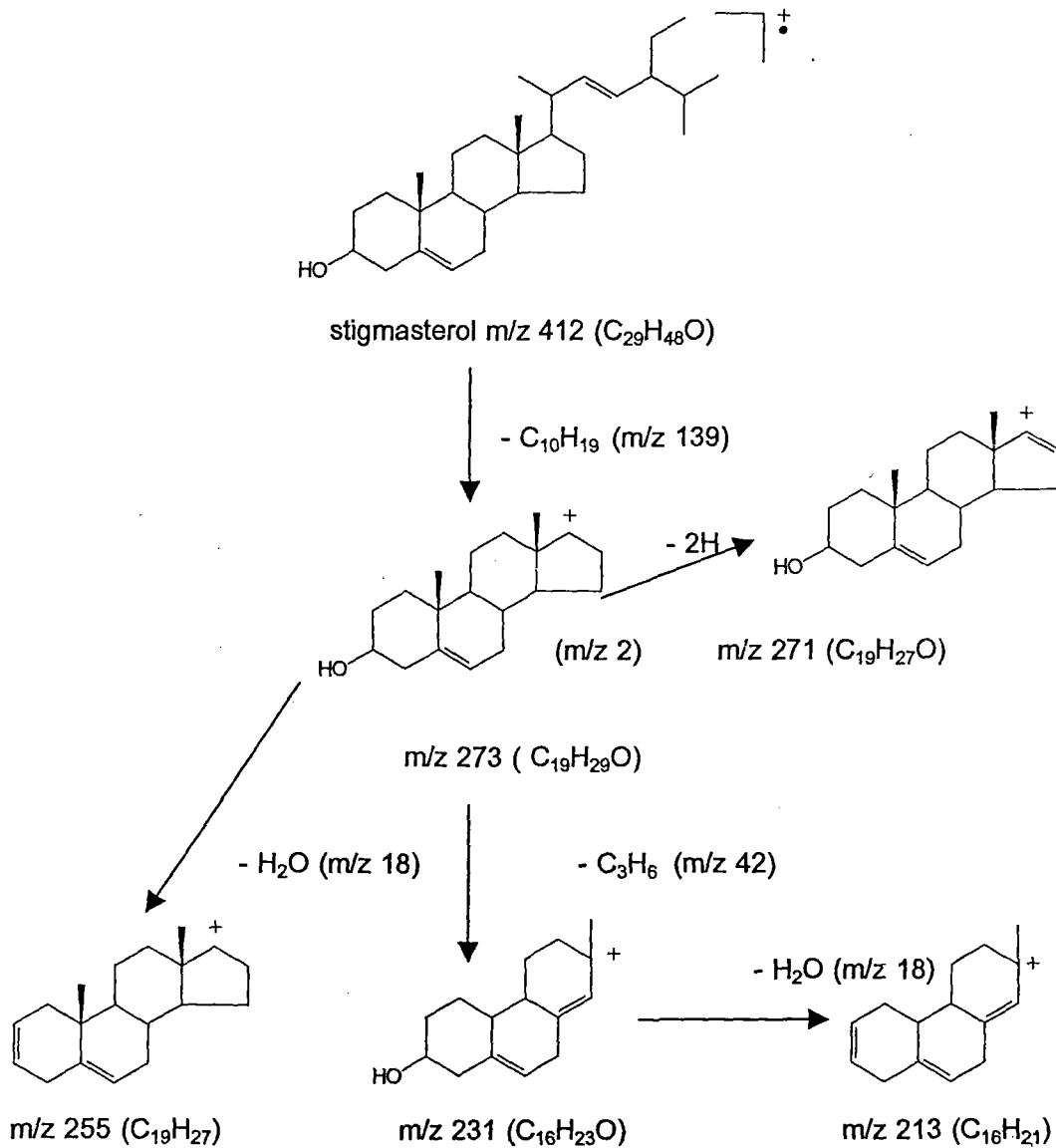
สารประกอบ B เป็นผลึกสีขาวแยกได้จากสารสกัด hexane และตกผลึกด้วย methanol จุดหลอมเหลว เท่ากับ 147 - 149 °C (169 - 170 °C, Thompson, et al. 1972 : 1789) ; (166 °C, Pouchert & Behke. 1993 : 569) ค่า Rf = 0.32 (silica gel GF₂₅₄ , hexana : CH₂Cl₂ 6:4)

FT IR spectrum (KBr) แสดงแถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 3,435 cm⁻¹ (OH) 2,937 cm⁻¹ (CH สั่นแบบยืดของ CH₂, CH₃) 1,654 cm⁻¹ (C = C สั่นแบบยืด) 1,459 cm⁻¹ (C - H สั่นแบบงอของ CH₂, CH₃) 1,383 cm⁻¹ (C - H สั่นแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin) 1,054 cm⁻¹ (C - O สั่นแบบยืดของ secondary alcohol) 970 cm⁻¹ (CH สั่นแบบงอนอกระนาบของ trans - configuration) (ภาพประกอบ 53)

¹H NMR spectrum (CDCl₃, 400 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH₃ 6 หมู่ที่ δ 0.68 - 1.02 มีลักษณะเป็น multiplet (m) สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH₂ 9 หมู่ และหมู่ CH 7 หมู่ที่ δ 1.02 - 2.32 มีลักษณะเป็น multiplet สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 3.52 เป็นของ H - 3 มีลักษณะเป็น multiplet ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 4.49 - 5.18 มีลักษณะเป็น multiplet เป็นของ trans olefinic proton H - 6 และบางส่วนของ H - 22 และ H - 23 และสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 5.35 มีลักษณะเป็น broad singlet (br s) เป็นของ olefinic protons ที่ H - 6 (ภาพประกอบ 53)

¹³C NMR spectrum (CDCl₃, 400 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ 29 พีค เป็นของ คาร์บอน 29 คาร์บอนในโมเลกุล (ภาพประกอบ 55) จาก DEPT - 90 และ DEPT - 135 spectrum (ภาพประกอบ 57) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ ของ CH 11 หมู่ CH₂ 9 หมู่ และ CH₃ 6 หมู่ ดังตาราง 17

EIMS spectrum (ภาพประกอบ 56) ให้สัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ 412(1.57)[M^+ , $C_{29}H_{48}O$] แสดงการแตกพันธะที่ m/z 273[$M - C_{10}H_{19}$] $^+$ 271[$M - C_{10}H_{19} - 2H$] $^+$ 255[$M - C_{10}H_{19} - H_2O$] $^+$ 231[$M - C_{10}H_{19} - C_3H_6$] $^+$ 213[$M - C_{10}H_{19} - C_3H_6 - H_2O$] $^+$ ซึ่งสัญญาณที่ 255 เป็นลักษณะเฉพาะของ C - 29 sterol ที่ปราศจาก side chain แบบไม่อิ่มตัว (Erdman & Thomson .1972 : 5165) (ดังภาพประกอบ 42)



ภาพประกอบ 62 แสดงการแตกพันธะของสารประกอบ B

ตาราง 17 แสดงข้อมูล ^{13}C NMR และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ B

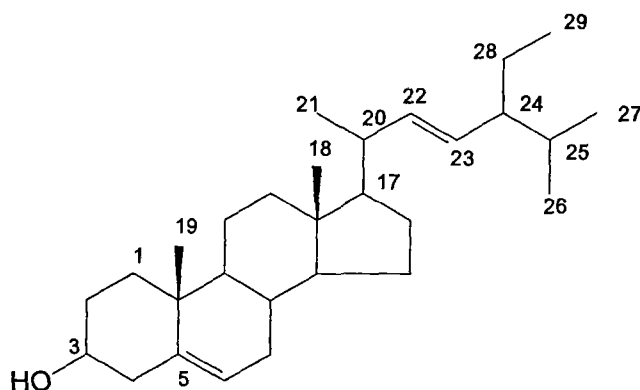
ตำแหน่ง	^{13}C NMR δ_c (ppm)	DEPT-90 δ_c (ppm)	DEPT-135 δ_c (ppm)
1	37.22 (CH_2)		37.22
2	31.62 (CH_2)		31.62
3	71.78 (CH)	71.78	71.78
4	42.26 (CH_2)		42.26
5	140.72 (C)		
6	121.69 (CH)	121.69	121.69
7	31.87 (CH_2)		31.87
8	31.87 (CH)	31.87	31.87
9	50.12 (CH)	50.19	50.19
10	36.48 (C)		
11	21.05 (CH_2)		21.05
12	39.74 (CH_2)		39.74
13	42.26 (C)		
14	56.84 (CH)	56.84	56.84
15	24.34 (CH_2)		24.34
16	28.90 (CH_2)		28.90
17	56.02 (CH)	56.02	56.02
18	12.02 (CH_3)		12.02
19	19.38 (CH_3)		19.38
20	40.48 (CH)	40.48	40.48
21	21.05 (CH_3)		21.05
22	138.30 (CH)	138.30	138.30
23	129.24 (CH)	129.24	129.24
24	51.21 (CH)	51.21	51.21
25	31.87 (CH)	31.87	31.87
26	21.20 (CH_3)		21.20
27	19.01 (CH_3)		19.01
28	25.39 (CH_2)		25.39
29	12.23 (CH_3)		12.23

จากข้อมูล FTIR spectrum ^1H NMR spectrum ^{13}C NMR spectrum และ EIMS ของสารประกอบ B เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ Stigmasterol โดยพิจารณาข้อมูล ^1H NMR spectrum (Pouchert & Behke. 1993 : 569) (ภาพประกอบ 56) ^{13}C NMR spectrum (ตาราง 18) และสูตรโมเลกุลของ stigmasterol คือ $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ มวลโมเลกุล 412 : 698 (Hill, et al. 1991 : 427) ทำให้สรุปได้ว่า สารประกอบ B คือ stigmasterol

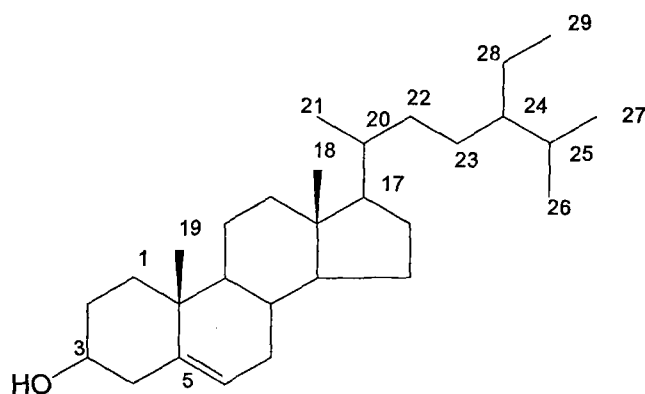
ตาราง 18 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า Chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ B

ตำแหน่ง	Stigmasterol (δc,ppm) (Wright, et al. 1978 : 1900)	Stigmasterol (δc,ppm) (Ikan. 1991 : 138 - 139)	สารประกอบ B (δc,ppm)
1	37.30	37.31	37.22
2	31.69	31.69	31.62
3	71.83	71.81	71.78
4	42.27	42.35	42.26
5	140.79	140.80	140.72
6	121.72	121.69	121.69
7	31.92	31.94	31.87
8	31.92	31.94	31.87
9	50.20	50.20	50.12
10	36.55	36.56	36.48
11	21.11	21.11	21.05
12	39.73	39.74	39.74
13	42.33	42.35	42.26
14	56.90	56.91	56.84
15	24.37	24.39	24.34
16	28.82	28.96	28.90
17	56.06	56.06	56.02
18	12.06	12.07	12.02
19	19.42	19.42	19.38
20	40.45	40.54	40.48
21	20.95	21.11	21.05
22	138.28	138.37	138.30
23	129.37	129.32	129.24
24	51.25	51.29	51.21
25	31.87	31.94	31.87
26	18.97	21.26	21.20
27	21.20	19.02	19.01
28	25.42	25.44	25.39
29	12.43	12.27	12.23

สารประกอบ C



stigmasterol (C I)

 β -sitosterol (C II)

สารประกอบ C เป็นผลึกสีขาวแยกได้จากสารสกัด methanol และตกผลึกด้วย

methanol จุดหลอมเหลวเท่ากับ 135 – 137 °C ค่า Rf = 0.54 (silica gel GF₂₅₄,

CHCl₃ : Me₂CO 95:5)

FT IR spectrum (KBr) แสดงแถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 3,422 cm⁻¹ (O-H) 2,936 และ 2,868 cm⁻¹ (C-H สั่นแบบยืดของ CH₂, CH₃) 1,654 cm⁻¹ (C=C สั่นแบบยืด) 1,465 cm⁻¹ (C-H สั่นแบบงอของ CH₂, CH₃) 1,383 cm⁻¹ (C-H สั่นแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin) 1,054 cm⁻¹ (C-O สั่นแบบยืดของ secondary alcohol) 959 cm⁻¹ (C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ trans - configuration) 800 cm⁻¹ (C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ trisubstituted olefin) (ภาพประกอบ 59)

ตาราง 19 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า Chemical shift ของสารประกอบ CI และ CII

ตำแหน่ง	Stigmasterol (Ikan. 1991 : 138 - 139)	สารประกอบ CI	β - sitosterol (Greca, Monaca & Previtera. 1990 : 1432)	สารประกอบ CII
1	37.31	37.20	37.33	37.20
2	31.69	31.61	31.63	31.61
3	71.81	71.77	71.73	71.77
4	42.35	42.25	42.20	42.25
5	140.80	140.70	140.71	140.70
6	121.69	121.68	121.63	121.68
7	31.94	31.61	31.96	31.61
8	31.94	31.61	31.81	31.61
9	50.20	50.08	51.13	51.16
10	36.56	36.10	36.43	36.10
11	21.11	21.17	21.09	21.17
12	39.74	39.72	39.79	39.72
13	42.35	42.25	42.37	42.25
14	56.91	56.72	56.75	56.72
15	24.39	24.32	24.15	24.25
16	28.96	28.88	28.25	28.20
17	56.06	56.00	56.02	56.00
18	12.07	12.00	11.84	12.00
19	19.42	19.35	19.46	19.35
20	40.54	40.45	36.07	36.10
21	21.11	21.17	18.68	18.73
22	138.37	138.28	33.95	33.89
23	129.32	129.22	26.10	26.01
24	51.29	51.19	45.82	45.78
25	31.94	31.85	29.15	29.09
26	21.26	21.17	19.77	19.78
27	19.02	18.98	19.21	19.35
28	25.44	25.36	23.13	23.01
29	12.27	12.21	11.04	12.00

ตาราง 20 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ C

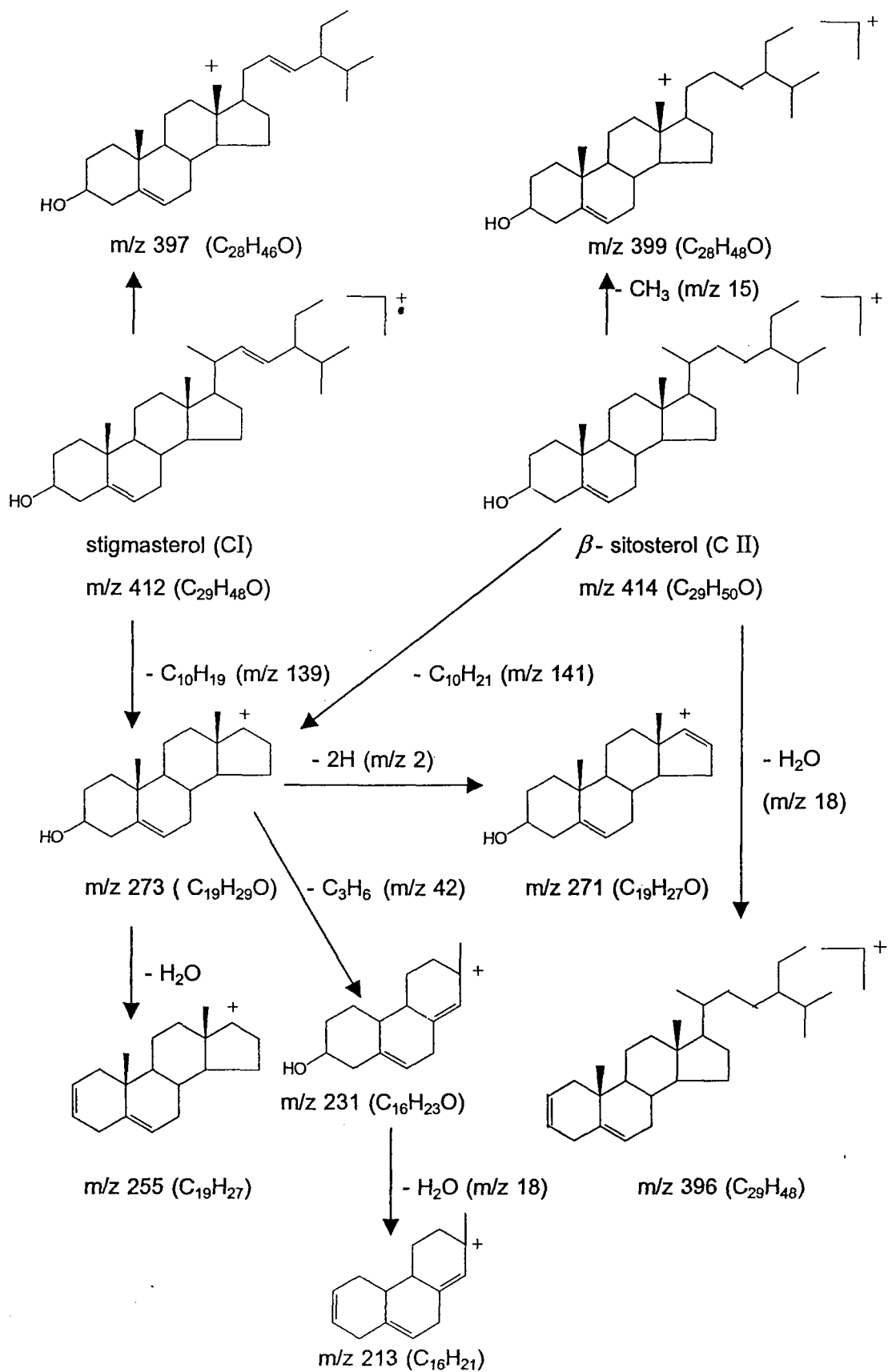
ตำแหน่ง	stigmasterol (CI)			β - sitosterol (CII)		
	^{13}C NMR	DEPT-90	DEPT-135	^{13}C NMR	DEPT-90	DEPT-135
	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)
1	37.20 (CH_2)		37.20	37.20 (CH_2)		37.20
2	31.61 (CH_2)		31.61	31.61 (CH_2)		31.61
3	71.77 (CH)	71.77	71.77	71.77 (CH)	71.77	71.77
4	42.25 (CH_2)		42.25	42.25 (CH_2)		42.25
5	140.70 (C)			140.70 (C)		
6	121.68 (CH)	121.68	121.68	121.68 (CH)	121.68	121.68
7	31.61 (CH_2)		31.61	31.61 (CH_2)		31.61
8	31.61 (CH)	31.61	31.61	31.61 (CH)	31.61	31.61
9	50.08 (CH)	50.08	50.08	51.19 (CH)	51.19	51.19
10	36.10 (C)			36.10 (C)		
11	21.17 (CH_2)		21.17	21.17 (CH_2)		21.17
12	39.72 (CH_2)		39.72	39.72 (CH_2)		39.72
13	42.25 (C)			42.25 (C)		
14	56.72 (CH)	56.72	56.72	56.72 (CH)	56.72	56.72
15	24.32 (CH_2)		24.32	24.25 (CH_2)		24.25
16	28.88 (CH_2)		28.88	28.20 (CH_2)		28.20
17	56.00 (CH)	56.00	56.00	56.00 (CH)	56.00	56.00
18	12.00 (CH_3)		12.00	12.00 (CH_3)		12.00
19	19.35 (CH_3)		19.35	19.35 (CH_3)		19.35
20	40.45 (CH)	40.45	40.45	36.10 (CH)	36.10	36.10
21	21.17 (CH_3)		21.17	18.73 (CH_3)		18.73
22	138.28 (CH)	138.28	138.28	33.89 (CH_2)		33.89
23	129.32 (CH)	129.32	129.32	26.01 (CH_2)		26.01
24	51.19 (CH)	51.19	51.19	45.78 (CH)	45.78	45.78
25	31.85 (CH)	31.85	31.85	29.09 (CH)	29.09	29.09
26	21.17 (CH_3)		21.17	19.78 (CH_3)		19.78
27	18.98 (CH_3)		18.98	19.35 (CH_3)		19.35
28	25.36 (CH_2)		25.36	23.01 (CH_2)		23.01
29	12.21 (CH_3)		12.21	12.00 (CH_3)		12.00

^1H NMR spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) ของสารประกอบ C ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH_3 6 หมู่ที่ δ 0.69(3H), δ 1.02(3H), δ 0.81(3H), δ 0.82(3H), δ 0.83(3H) และ δ 0.89(3H) เป็นของ H - 18, H - 19, H - 21, H - 26, H - 27 และ H - 29 ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH_2 มีลักษณะเป็น multiplet ที่ δ 1.06 - 1.73 สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH ที่ δ 1.98, δ 2.03 และ δ 1.88 เป็นของ H - 8, H - 9 และ H - 24 ที่ δ 3.50 มีลักษณะเป็น multiplet ของ H - 3 ส่วน δ 5.10 มีลักษณะเป็น multiplet แสดงให้เห็นบางส่วนของ olefinic protons ที่ H - 22 และ H - 23 ของสารประกอบ CI ที่ δ 5.35 เป็นลักษณะเฉพาะของ olefinic protons ที่ H - 6 (ภาพประกอบ 60)

^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ 33 พีค เป็นของคาร์บอน 33 คาร์บอนในโมเลกุล (ภาพประกอบ 61) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ ^{13}C NMR ของ stigmasterol (Ikan. 1991 : 138 - 139) และ ^{13}C NMR ของ β -sitosterol (Greca, Monaca & Previtera. 1990 : 1432) ดังตาราง 19 และข้อมูลจาก DEPT - 90 และ DEPT - 135 spectra (ภาพประกอบ 62) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของ CH 11 หมู่ CH_2 9 หมู่ CH_3 6 หมู่ และ quaternary carbon ดังตาราง 20

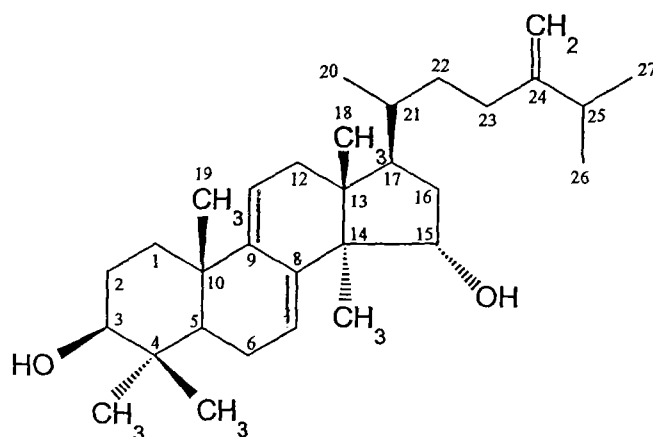
EIMS spectrum (ภาพประกอบ 63) ให้สัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ 412(79.45) [M_1^+ , $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$] เป็น Molecular ion ของสารประกอบ CI และสัญญาณ m/z ที่ 414 (100) [M_2^+ , $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$] เป็น Molecular ion ของสารประกอบ CII และแสดงสัญญาณการแตกของ fragment ต่างๆ ที่ m/z 399 [$\text{M}_2 - \text{CH}_3$] $^+$ 397 [$\text{M}_1 - \text{CH}_3$] $^+$ 396 [$\text{M}_2 - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ 273 [$\text{M}_1 - \text{C}_{10}\text{H}_{19}$] $^+$ หรือ [$\text{M}_2 - \text{C}_{10}\text{H}_{21}$] $^+$ 271 [$\text{M}_1 - \text{C}_{10}\text{H}_{19} - 2\text{H}$] $^+$ หรือ [$\text{M}_2 - \text{C}_{10}\text{H}_{21} - 2\text{H}$] $^+$ 255 [$\text{M}_1 - \text{C}_{10}\text{H}_{19} - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ หรือ [$\text{M}_2 - \text{C}_{10}\text{H}_{21} - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ 231 [$\text{M}_1 - \text{C}_{10}\text{H}_{19} - \text{C}_3\text{H}_6$] $^+$ หรือ [$\text{M}_2 - \text{C}_{10}\text{H}_{21} - \text{C}_3\text{H}_6$] $^+$ 213 [$\text{M}_1 - \text{C}_{10}\text{H}_{19} - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ หรือ [$\text{M}_2 - \text{C}_{10}\text{H}_{21} - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ ดังภาพประกอบ 42

จากข้อมูลของสารประกอบ C เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลของ stigmasterol และ β -sitosterol โดยพิจารณาจากสัญญาณ ^1H NMR spectrum (ภาพประกอบ 60) (Pouchert & Behke. 1993 : 569) ที่ δ 5.10 มีลักษณะเป็น multiplet เป็นสัญญาณของ olefinic protons ที่ H - 22 และ H - 23 ของ stigmasterol และจาก ^{13}C NMR spectrum (ภาพประกอบ 61) ที่ δ 33.95 และ δ 26.10 เป็นสัญญาณของ C-22 และ C-23 ของ β -sitosterol ส่วน δ 138.37 และ δ 129.32 เป็นสัญญาณของ C-22 และ C-23 ของ stigmasterol ข้อมูล EIMS spectrum (ภาพประกอบ 61) แสดงให้เห็น molecular ion $m/z = 414$ (100%) เป็นของ β -sitosterol และ molecular ion $m/z = 412$ (79.45%) เป็นของ stigmasterol ข้อมูลที่ได้จากการเปรียบเทียบทำให้สรุปได้ว่า สารประกอบ C เป็นสารประกอบผสมของ stigmasterol และ β -sitosterol



ภาพประกอบ 42 แสดงการแตกพันธะของสารประกอบ C

สารประกอบ D



สารประกอบ D เป็นของแข็งสีขาว จุดหลอมเหลวเท่ากับ 139 - 142 °C (144 - 146 °C Lue, et al. 1998 : 2055) ; (179 - 182 °C Li, et al. 1993 : 1133) ค่า $R_f = 0.42$ (silica gel GF₂₅₄ , hexane : Me₂CO , 7 : 3)

FTIR spectrum ให้แถบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 3614 และ 3448 cm⁻¹ เป็นหมู่ OH ที่ 3038 และ 2932 cm⁻¹ เป็นของ CH₃, CH₂ และที่ 1640 cm⁻¹ เป็นของ CH = CH₂ ที่ 1376 cm⁻¹ เป็นของ CH สันแบบงอในระนาบของ trisubstituted olefin สำหรับการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 981 cm⁻¹ 909 cm⁻¹ และ 892 cm⁻¹ เป็นของ CH สันแบบงอนอกระนาบของ C = CH₂ (ภาพประกอบ 64)

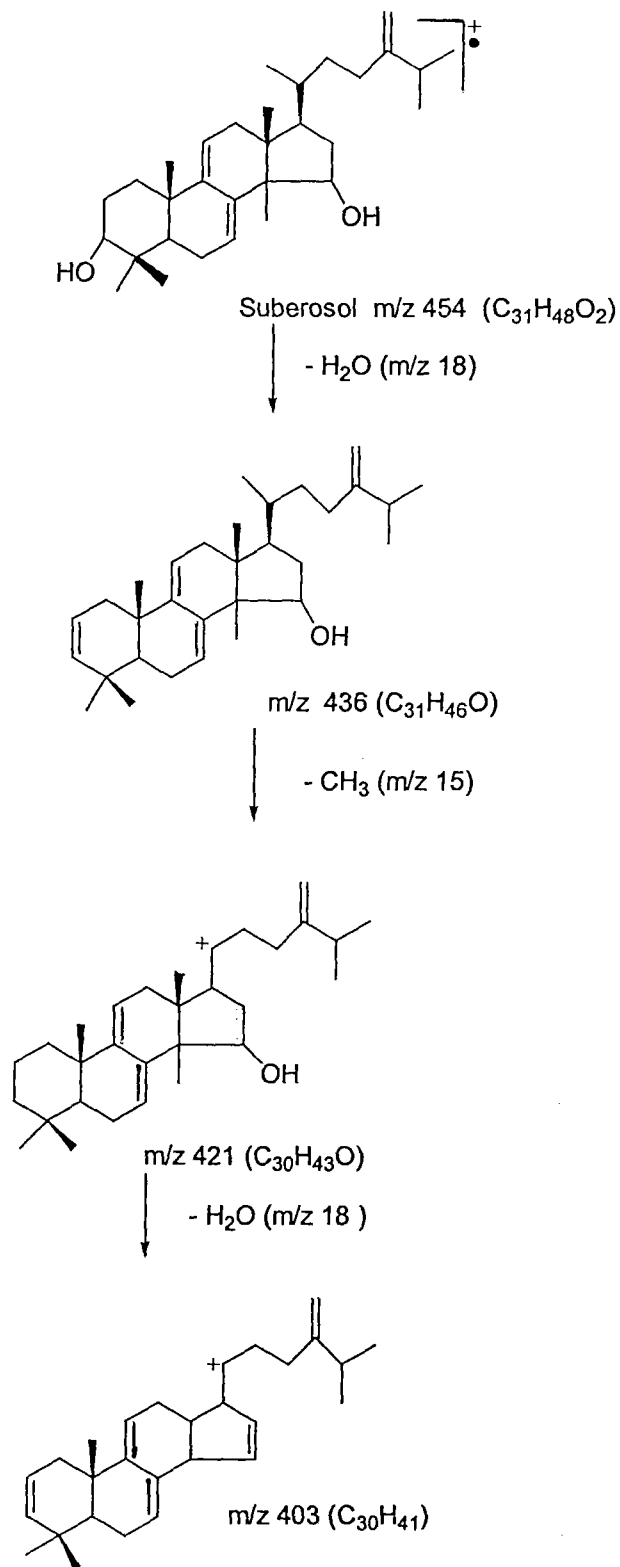
¹H NMR spectrum (CDCl₃ , 400 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ มีลักษณะ singlet (s) ของหมู่ tertiary methyl 5 หมู่ ที่ δ 0.61 0.88 0.94 0.97 1.00 ตรงตำแหน่ง 18 29 28 19 และ 30 ตามลำดับ สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ secondary methyl ตรงตำแหน่ง 20 26 และ 27 ปรากฏเป็นลักษณะ doublet (d) ที่ δ 0.90 มีค่า J เท่ากับ 6.46 Hz ที่ δ 1.02 มีค่า J เท่ากับ 5.84 Hz และ δ 1.03 มีค่า J เท่ากับ 6.84 Hz ตามลำดับ ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH และ CH₂ จะอยู่ในช่วง δ 1.07 - 2.50 สัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 3.25 เป็นของหมู่ CH ที่ตำแหน่ง 3 ต่อกับหมู่ OH มีลักษณะเป็น doublet of doublet (dd) มีค่า J เท่ากับ 4.52 และ 11.29 Hz ทำนองเดียวกันหมู่ CH ที่ ตำแหน่ง 15 ซึ่งต่อกับหมู่ OH แสดงสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 4.28 มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่า J เท่ากับ 5.70 และ 9.70 Hz

ที่ δ 4.65 และ 4.72 มีลักษณะเป็น singlet ทั้งคู่ เป็นสัญญาณของหมู่ exomethylene ที่ตำแหน่ง 31 ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 5.31 มีลักษณะเป็น doublet มีค่า J เท่ากับ 6.23 Hz เป็นสัญญาณของหมู่ olefinic proton ที่ตำแหน่ง 11 ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 5.85 มีลักษณะเป็น doublet มีค่า J เท่ากับ 6.59 Hz เป็นสัญญาณของหมู่ olefinic proton ที่ตำแหน่ง 7 (ภาพประกอบ 65, 66, 67)

จาก $^1\text{H} - ^1\text{H}$ cosy spectrum (ภาพประกอบ 72) จะเห็นการ coupling ระหว่าง H - 2 กับ H - 3 (δ 1.70 และ δ 3.25) H - 6 กับ H - 7 (δ 2.15 และ δ 5.85) H - 11 กับ H - 12 (δ 5.32 และ δ 2.06, 2.30) H - 15 กับ H - 16 (δ 4.28 และ δ 1.75, 1.95) H - 22 กับ H - 23 (δ 1.15, 1.53 และ δ 2.14) และ H - 25 กับ H - 27 (δ 2.23 และ 1.03) ดังตาราง 22

^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ 31 พิกเป็นของคาร์บอน 31 คาร์บอนในโมเลกุล (ภาพประกอบ 68) จาก DEPT - 90 และ DEPT - 135 spectra (ภาพประกอบ 69) ให้สัญญาณเรโซแนนซ์ของหมู่ CH 8 หมู่ ที่ δ 78.85 (C - 3) 48.90 (C - 5) 121.27 (C - 7) 116.01 (C - 11) 74.70 (C - 15) 48.81 (C - 17) 35.95 (C - 20) และ 33.75 (C - 25) ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ของ CH_2 8 หมู่ ปรากฏที่ δ 35.68 (C - 1) 27.72 (C - 2) 38.45 (C - 12) 40.06 (C - 16) 34.81 (C - 22) 31.16 (C - 23) และ 106.09 (C - 31) 52.00 (C - 14) และ 156.32 (C - 24) และมีสัญญาณเรโซแนนซ์ของ quaternary carbon ที่ δ 38.62 (C - 4) 140.90 (C - 8) 146.05 (C - 9) 37.37 (C - 10) และ 44.80 (C - 18) ดังตาราง 21

EIMS spectrum (ภาพประกอบ 70, 71) แสดงให้เห็นสัญญาณ m/z (% relative intensity) ที่ 454 (100) [M^+ , $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2$] แสดงการแตกของ fragment ต่าง ๆ ที่ m/z 436 (11) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ 421 (28) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$] $^+$ 403 (11) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3 - \text{H}_2\text{O}$] $^+$ (ภาพประกอบ 71)



ภาพประกอบ 43 แสดงการแตกพันธะของสารประกอบ D

ตาราง 21 ข้อมูล ^{13}C และ DEPT NMR spectrum ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	^{13}C NMR δ_c (ppm)	DEPT – 90 δ_c (ppm)	DEPT - 135 δ_c (ppm)
1	35.68 (CH ₂)		35.68
2	27.72 (CH ₂)		27.72
3	78.85 (CH)	78.85	78.85
4	38.62 (C)		
5	48.90 (CH)	48.90	48.0
6	22.89 (CH ₂)		22.89
7	121.27 (CH)	121.27	
8	140.90 (C)		
9	146.05 (C)		
10	37.37 (C)		
11	116.01 (CH)	116.01	116.01
12	38.45 (CH ₂)		38.45
13	44.80 (C)		
14	52.00 (C)		
15	74.70 (CH)	74.70	74.70
16	40.06 (CH ₂)		40.06
17	48.81 (CH)	48.81	48.81
18	15.87 (CH ₃)		15.87
19	22.81 (CH ₃)		22.81
20	35.95 (CH)	35.95	35.95
21	18.41 (CH ₃)		18.41
22	34.81 (CH ₂)		34.81
23	31.16 (CH ₂)		31.16
24	156.52 (C)		
25	33.75 (CH)	33.75	33.75
26	21.95 (CH ₃)		21.95
27	21.81 (CH ₃)		21.81
28	17.10 (CH ₃)		17.10
29	28.10 (CH ₃)		28.10
30	15.76 (CH ₃)		15.76
31	106.09 (CH ₂)		106.09

ตาราง 22 ข้อมูล ^1H - ^1H COSY spectrum ของสารประกอบ D

δ_{H} (ppm)		ความสัมพันธ์กับ	δ_{H} (ppm)	
1.02	(H - 27)	$\leftrightarrow$	2.23	(H - 25)
1.15, 1.53	(H - 22)	$\leftrightarrow$	2.14	(H - 23)
1.70	(H - 2)	$\leftrightarrow$	3.25	(H - 3)
1.75, 1.95	(H - 16)	$\leftrightarrow$	4.28	(H - 15)
2.06, 2.30	(H - 12)	$\leftrightarrow$	5.31	(H - 11)
2.14	(H - 23)	$\leftrightarrow$	1.15 , 1.53	(H - 22)
2.15	(H - 6)	$\leftrightarrow$	5.85	(H - 7)
2.23	(H - 25)	$\leftrightarrow$	1.03	(H - 27)
3.25	(H - 3)	$\leftrightarrow$	1.70	(H - 2)
4.28	(H - 15)	$\leftrightarrow$	1.75 , 1.95	(H - 16)
5.31	(H - 11)	$\leftrightarrow$	2.06 , 2.30	(H - 12)
5.85	(H - 7)	$\leftrightarrow$	2.15	(H - 6)

ตาราง 23 ข้อมูล HMQC spectrum ของสารประกอบ D

δ_H (ppm)			δ_H (ppm)	ตำแหน่งของ 1H และ ^{13}C	
15.76	(C - 30)	$\leftrightarrow$	1.00	(H - 30)	CH ₃ - 30
15.87	(C - 18)	$\leftrightarrow$	0.61	(H - 18)	CH ₃ - 18
17.10	(C - 28)	$\leftrightarrow$	0.94	(H - 28)	CH ₃ - 28
18.41	(C - 21)	$\leftrightarrow$	0.90	(H - 21)	CH ₃ - 21
21.81	(C - 27)	$\leftrightarrow$	1.03	(H - 27)	CH ₃ - 27
21.89	(C - 26)	$\leftrightarrow$	1.02	(H - 26)	CH ₃ - 26
22.81	(C - 19)	$\leftrightarrow$	0.97	(H - 19)	CH ₃ - 19
28.10	(C - 29)	$\leftrightarrow$	0.88	(H - 29)	CH ₃ - 29
33.75	(C - 25)	$\leftrightarrow$	2.23	(H - 25)	CH - 25
38.45	(C - 12)	$\leftrightarrow$	2.05	(H - 12)	CH ₂ - 12
40.06	(C - 16)	$\leftrightarrow$	1.75, 2.30	(H - 16)	CH ₂ - 16
48.81	(C - 17)	$\leftrightarrow$	1.68	(H - 17)	CH - 17
48.90	(C - 5)	$\leftrightarrow$	1.10	(H - 5)	CH - 5
74.70	(C - 15)	$\leftrightarrow$	4.28	(H - 15)	CH - 15
78.85	(C - 3)	$\leftrightarrow$	3.25	(H - 3)	CH - 3
106.09	(C - 31)	$\leftrightarrow$	4.65, 4.72	(H - 31)	CH ₂ - 31
116.01	(C - 11)	$\leftrightarrow$	5.31	(H - 11)	CH - 11
121.27	(C - 7)	$\leftrightarrow$	5.85	(H - 7)	CH - 7

ตาราง 24 ข้อมูล HMBC spectrum ของสารประกอบ D

δ_H (ppm)		ความสัมพันธ์กับ δ_H (ppm)	
15.87	(C - 18)	$\leftrightarrow$	2.03, 2.09, 2.30 (H - 12) 4.28 (H - 15)
28.10	(C - 29)	$\leftrightarrow$	1.00 (H - 30)
31.16	(C - 23)	$\leftrightarrow$	2.23 (H - 25) 4.65 , 4.72 (H - 31)
33.75	(C - 25)	$\leftrightarrow$	1.03 (H - 27) 4.65, 4.72 (H - 31)
44.80	(C - 13)	$\leftrightarrow$	0.61 (H - 18) 0.94 (H - 28) 2.03,2.09 , 2.30 (H - 12) 5.32 (H - 11)
52.00	(C - 14)	$\leftrightarrow$	0.61 (H - 18) 0.94 (H - 28) 2.03, 2.09 (H - 12) 5.85 (H - 7)
74.70	(C - 15)	$\leftrightarrow$	0.94 (H - 28)
78.85	(C - 3)	$\leftrightarrow$	0.88 (H - 29) 1.00 (H - 30)
106.09	(C - 31)	$\leftrightarrow$	1.89 , 19.5 (H - 23) 2.23 (H - 25)
140.90	(C - 8)	$\leftrightarrow$	0.95 (H - 28) 2.03 , 2.09 (H - 12) 2.16 (H - 6) 5.31 (H - 11)
146.05	(C - 9)	$\leftrightarrow$	0.98 (H - 19) 2.03 , 2.09 , 2.30 (H - 12) 5.85 (H - 7)
156.36	(C - 24)	$\leftrightarrow$	1.02 (H - 26) 1.89 , 1.95 (H - 23) 2.23 (H - 25) 4.66 , 4.72 (H - 31)

จากข้อมูลของสารประกอบ D เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลของ suberosol หรือ 24-methylenelanosta - 7,9 (11) - diene -3 β ,15 α diol (Lue, et al. 1998 : 2056) ; (Li, et al. 1993 : 1132) สรุปได้ว่าสารประกอบ D คือ suberosol โดยพิจารณาจากสัญญาณ ^1H NMR spectrum (ภาพประกอบ 65) ที่ δ 3.25 และ 4.28 เป็นของหมู่ CH ที่ต่ออยู่กับหมู่ OH ที่ตำแหน่ง 3 และ 15 ตามลำดับ ส่วนสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ δ 4.65 และ 4.72 แสดงให้เห็นลักษณะของ exomethylene ส่วนสัญญาณของ endo-olefinic proton 2หมู่ ปรากฏที่ δ 5.31 และ 5.85 จากการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR spectrum (ตาราง 25) ข้อมูล EI MS spectrum (ภาพประกอบ 70,71) แสดงให้เห็น molecular ion m/z เท่ากับ 454 (100% , M^+) สูตรโมเลกุล $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2$ เป็นของ suberosol (24-methylenelanosta - 7,9 (11) - diene -3 β ,15 α diol)

suberosol (24-methylenelanosta - 7,9 (11) - diene - $3\beta,15\alpha$ diol) เป็นสารที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลของส่วนต้นและใบของ *Polyalthia suberosa* Thw. สารประกอบชนิดนี้มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อ HIV ในเซลล์ H9 lymphocyte โดยมีค่า EC_{50} เป็น $3\mu\text{g/mL}$ และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์ H9 lymphocyte ที่ไม่ติดเชื้อ HIV โดยมีค่า IC_{50} เป็น $20\mu\text{g/mL}$ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบ 24-methylenelanosta - 7,9 (11) - diene - $3\beta,15\alpha$ diol ใน *Polyalthia lamcillimba* (Lue, et al. 1998 : 2056) ; (Li, et al. 1993 : 1132)

ตาราง 24 แสดงการเปรียบเทียบ ^{13}C NMR ค่า chemical shifts (ppm) ของสารประกอบ D

ตำแหน่ง	Suberosol (Li, et al. 1993 : 1132)	24-methylenelanosta - 7,9 (11) - diene - $3\beta,15\alpha$ diol (Lue, et al. 1998 : 2056)	สารประกอบ D
1	37.75	35.8	35.68
2	27.79	27.8	27.72
3	78.88	78.9	78.85
4	38.67	38.7	38.62
5	48.98	49.1	48.90
6	22.93	23.0	22.89
7	121.32	121.3	121.27
8	140.87	140.9	140.90
9	146.14	146.2	146.05
10	37.43	37.5	37.37
11	116.04	116.0	116.01
12	38.52	38.6	38.45
13	44.37	44.4	44.80
14	51.98	52.0	52.00
15	74.71	74.9	74.70
16	40.11	40.1	40.06
17	48.87	48.9	48.81
18	15.92	15.8	15.87
19	22.84	22.8	22.81
20	35.99	36.0	35.95
21	18.45	18.5	18.41
22	34.89	35.0	34.81
23	31.21	31.3	31.16
24	156.55	156.5	156.52
25	33.81	33.8	33.75
26	21.98	21.9	21.95
27	21.85	22.0	21.81
28	17.14	28.2	17.10
29	28.15	16.0	28.10
30	15.79	17.2	15.76
31	106.15	106.2	106.09

ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำสารสกัด chloroform และ ethyl acetate มาแยกและทำให้บริสุทธิ์เพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ
2. สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ควรนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น การต้านวัณโรค การต้านเชื้อ HIV การต้านเชื้อมาลาเรีย และการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากการศึกษารั้งนี้ได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด ได้แก่ 3-acetyl aleuritolic acid และ suberosol เป็นสารที่เคยมีการรายงานด้านฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าว

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- ชาวลิต นิยมธรรม. (2538). *อนุกรมวิธานพืช อักษร ก ฉบับราชบัณฑิตยสถาน*. กรุงเทพฯ : เพื่อนพิมพ์.
- ดรุณ เพ็ชรพลาญ, ญัตติรา จันทร์สุวานิชย์ และ ชาตรี ชาญประเสริฐ. (2538). *พืชสมุนไพรในประเทศไทย ตอนที่ 1*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- เต็ม สมิตินันท์. (2523). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)*. กรุงเทพฯ : พันธุ์ปาลิขซึ่ง.
- ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์. (2534). "การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์," ในการสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. หน้า 89-90. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เพียวรี้ เหมือนวงษ์ญาติ. (2534). *คู่มือการใช้สมุนไพร*. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : เมดิคัลมีเดีย
- เพียวรี้ เหมือนวงษ์ญาติ , เอมอร โสมนะพันธ์ และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. (2534). "การวิเคราะห์หาอัลคาลอยด์ในสมุนไพรไทย ภาค 1," *วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล*. 8(4) : 110.
- เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญและคณะ. (2539). *สถานะภาพและทิศทางการวิจัยการแพทย์แผนไทย*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุลและนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2540). "สมุนไพรพื้นบ้าน จังหวัดอุบลราชธานี," *วารสารสมุนไพร*. 4(2) : 33.
- วันดี กฤษณพันธ์. (2534). "การตรวจสอบคูมารินส์และอนุพันธ์," ในการสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. หน้า 128. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วีณา จิระจรรย์กุล. (2534). "การตรวจสอบซาโปนินในพืช," ในการสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. หน้า 141. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). *ร่วมอนุรักษ์มรดกไทย สารานุกรมสมุนไพรรวมหลักเภสัชกรรมไทย*. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์
- สมาคมแพทย์แผนโบราณ วัดมหาธาตุ กรุงเทพฯ. (2531). *ตำราเภสัชกรรมไทยแผนโบราณ*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาจุฬาลงกรณราชวิทยาลัย
- อัมพร คุณเอนก. (2541). "สารเคมีที่พบในพืชสมุนไพรและการทดสอบเบื้องต้น," *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*. 40(1) : 79.

- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. (2534). "การตรวจสอบฟลาโวนอยด์," ใน *การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ*. หน้า 109-110. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- Abuzarga, M.H. & Shamma, M.(1982), "a Spectral Method for the Determination of the Position of a Phenolic Group on Ring A of an Aporphine. Four New Aporphines from *Polyalthia acuminata*," *J. Nat. Prod.* 45(4) : 471-475.
- Addae – Mensah, I. et al. (1992). "Epoxychiromodine and other Constituents of *Croton Megalocarpus*," *Phytochemistry*. 31(6) : 2057-2058.
- Bhakuni, O.S. et al. (1969). "Screening of Indian Plants for Biological Activity. Part II," *Indian J. Exp. Biol.*(microfilm). 7 : 250-262.
- Bhakuni, D.S. et al.(1971). "Screening of Indian Plants for Biological Activity. Part III," *Indian J. Exp. Biol.*(microfilm). 9 : 91.
- Budzikiewicz, H. Wilson, J. M. & Djerassi, C. (1963). "Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems .XXXII. Pentacyclic Triterpenes ," *J. Amer. Chem. Soc.* 85(11) : 3691-3692.
- Cave, A. et al. (1978). "Alkaloids of Annonaceae. XVIII : Alkaloids from Trunk Bark of *Polyalthia suaveolens* Engl. And Diels," *Planta Med.* 33(3) : 243-250.
- Chakrabarty, M. & Patra, A. (1990). "6,7 – Dimethoxyonychine and other Alkaloids of *Polyalthia longifolia*," *Indian J.Chem., Sect.B.*(microfilm). 29B(4) : 394-395.
- Chakrabarty, N. & Nath A.C. (1992). "a New Clerodane – Type Butenolide Diterpene from the Bark of *Polyalthia longifolia*," *J. Nat. Prod.* 55(2) : 256-258.
- Chauhan. J.S., Singh, N.K. & Singh, S.V.(1989). "Screening of Higher Plants for Specific Herbicidal Principle Active Against Dodder, *cuscuta Reflexa* Roxb," *Indian J. Exp. Biol.*.(microfilm). 27(10) : 877-884.
- Chuakul, W. et al. (1997). *Medicinal Plants in Thailand Volume II*. Bangkok : Amarin Printing and Publishing Public.
- Connolly, J.D., Haque, M.E. & Kadir, A.A. (1996). "Two 7,7' – bisdehydroaporphine Alkaloids from *Polyalthia bullata*," *Phytochemistry*. 43 (1) : 295-297.
- Conzalez, M.C. et al. (1997). "Cerasodine and Cerasonine New Ozoproto – berberine Alkaloids from *Polyalthia cerasodies*," *. Nat. Prod.* 60(2) : 180-110.
- Crovo, L. et al. (1991). "Chemical Composition of the Fruit and Leaf Oil of *Polyalthia suaveolens* Engl. Et Diels," *J. Essent. Oil Res. (microfilm)*. 3(6) : 495-461.

- Dan, S. et al. (1985). "Chemical Investigation of some Annonaceae species," *Int. J. Crude Drug Res.*(microfilm). 23(2) : 73-76.
- Erdman, T.R. & Thomson, R.H. (1972). "Sterols from the Sponges *Cliona grant* and *Hymenialidon perleve*," *Tetrahedron*. 28 : 5163-5173.
- Fansworth, N.R. (1966). "Biological and Phytochemical Screening of Plants," *J. Pharm. Sci.* 55(33) : 245-264.
- Ferdous, A.J., Islam, M.O. & Hassan, C.M. (1992). "Chemical and Biological Studies on the Annonaceae Species of Bangladesh. 5 Oxoaporphine and Noraporphine Alkaloids from the stem Barks of *Polyalthia suberosa*," *J. Bangladesh Acad. Sci.*, (microfilm). 16(1) : 99-103.
- Fried, B. & Sherma, J. (1994). *Thin-Layer Chromatography Techniques and Application*. 3rd ed. New York : Marcel dekker.
- Gonzalez, M.C. Sentandreu, M.A. et al. (1996). "Prenylated Benzopyran Derivatives from Two *Polyalthia* Species," *Phytochemistry*. 43(6) : 1361-1364.
- Gonzalez, M.C., Serrano A. et al. (1995). "Polycerasoidin and Polycerasoidol, Two New Prenylated Benzopyran Derivatives from *Polyalthia cerasoides*," *J. Nat. Prod.* 58(8) : 1278-1284.
- Gonzalez, M.C., Zafra – Polo, M.C. et al. (1997) "Cerasodine and Cerasonine : New Oxoprotoberberine Alkaloids from *Polyalthia cerasoides*," *J. Nat. Prod.* 60(2) : 108-110.
- Goyal, M.M. & Gupta, R.A. (1985). "Pentacyclic Triterpenes and Phytosterols from *Polyalthia longifolia*, Benth and Hood. F.," *Indian Drugs.*, (microfilm). 22(21) : 658.
- Goyal, M.M. & Gupta, R.A. (1986). "Isolation and Characterization of Triterpenoid Fraction from the Leaves of *Polyalthia suberosa* thw." *Acta cienc. Indica, Chem.* (Microfilm) 12(3) : 152-154.
- Greca, M.D., Monaco, P. & Previtera, L. (1990). "Stigmasterols from *Typha latifolia*," *J. Nat. Prod.* 53(6) : 1432.
- Guinaudeau, H. et al. (1978). "Annonaceae Alkaloids. XXII. Alkaloids from *Polyalthia oligosperma* (Danghy) Dieb and *Polyalthia emarginata* Diels," *Planta Med. Phytother.* 12(3) : 166-172.
- Gunasekera, L.P., Cordell, G.A. & Farnsworth, N.R. (1980). "Constituents of *Nealchornea Yapwenis* (Euphorbiaceae)," *J. Nat. Prod.* 43(2) : 286.

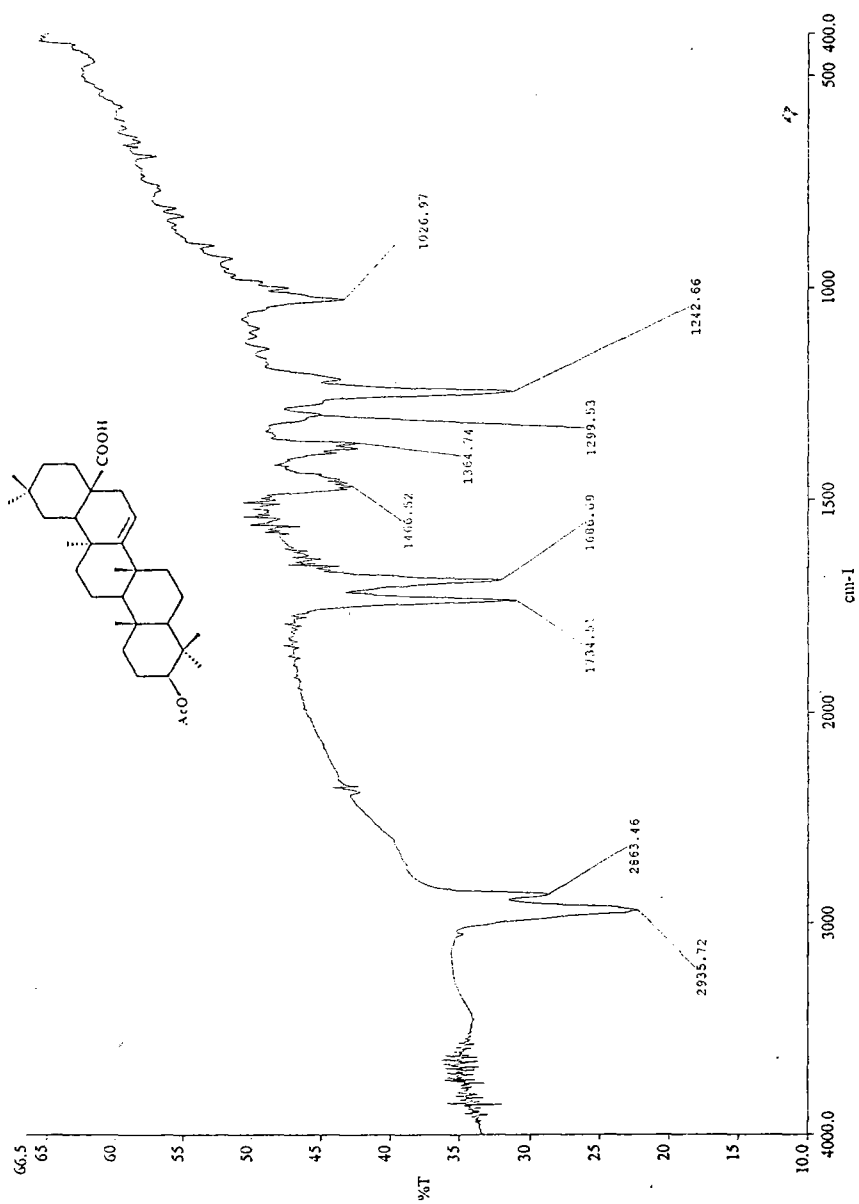
- Gupta, R.A., Singh, B.N. & Singh, R.N. (1982). "Screening of Ayurvedic Drugs for Analgesic Activity," *J. Sci. Res PL. Med.* (Microfilm) 3 : 115-117.
- Hamonniere, M., Leboeuf, M. & Cave, A. (1974). "Oliverdien and Oliverine. New Aporphine Alkaloids of *Polyalthia oliveri*," *C.R. Acad. Sci., Ser. C.* (Microfilm) 278(13) : 921-924.
- Hamonnierem M. et al. (1976). "Polycarpol, a New Triterpene from *Polyalthia oliveri* Engl. And *Meiocarpidium lepidotum* Engl. And Diels, Annonaceae," *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser. C.* (Microfilm) 282(22) : 1045-1047.
- Hamonniere, M. Leboeuf, M. & Cave, A. (1977). "Alkaloids from annonaceae. Part 15. Aporphine Alkaloids and Terpenoid Compounds from *Polyalthia oliveri*," *Phytochemistry.*, (microfilm). 16(7) : 1029-1034.
- Han, G.Y., Hsu, P.H. et al. (1980). "studies on Active Components of *Polyalthia*. Isolation and Structure of Zincpolyvanemine," *K'O Haueh T'ung Pao.* (Microfilm) 25(6) : 285-286.
- Han, G.Y., Xu, B. et al. (1981). "Studies on Active Principles of *Polyalthia nemoralis* A. et Dc. Isolation and structure of Natural Zinc – containing compound, Anluosu," *Huaxue Xuebao.* (Microfilm) 39(5) : 433-437.
- Hao, X. J. et al. (1995). "Chlordane Diterpenes from *Polyalthia cheliensis*," *Phytochemistry.* 39(2) : 447-448.
- Hara, N. et al. (1995). "Clerodane and Ent-halimane Diterpenes from *Polyalthia longifolia*," *Phytochemistry.* 38(1) : 189-194.
- Hasan, C.M., Hossain M.D. et al. (1994). "Constituents of *Polyalthia longifolia* var. Pendulla," *Fitoterapia.* (Microfilm) 65(3) : 283-284.
- Hasan, C.M., Islam, M.O. & Rashid, M.A. (1995). "Clerodene Diterpene from *Polyalthia longifolia* Var. Pendulla." *Pharmazie* (Microfilm). 50(3) : 227-228.
- Hill, R.A. et al. (1991). *Dictionary of Steroids* UK : Chapman and Hall Ltd. London.
- Hocquemiller, R. et al. (1981). "Alkaloids of the Annonaceae. Part XXXI. Polyveoline, a New indolosesquiterpene Isolated from *Polyalthia suaveolens* , Annonaceae," *Tetrahedron Lett.* 22(50) : 5057-5060.
- Ikan, A. (1996). *Natural Products : a Laboratory Guide.* 2nd ed. New york USA : Academic Press.

- Jossang, A. Leboeuf, M. & Cave, A. (1982). "Un Nouveau Type D' Alcaloides Isoquinoleiques, Les Bisapoiphines (1)," *Tetrahedron Lett.* (microfilm). 23(49) : 5147-5150.
- Jossang, A., Leboeuf, M. & Cabalion, P. et al. (1983). "Alkaloids from Annonaceae XLV : Alkaloids of *Polyalthia nitidissima*," *Planta Med.* 49 : 20-24.
- Jossang, A., Leboeuf, M. & Cave, A. et al. (1984). "Alcaloides Des Annonacees, L : Alcaloides De *Polyalthia Caulifloa*," *J. Nat. Prod.* (Microfilm). 47(3) : 504-513.
- Kanokmedhakul, S. et al. (1998). "A Diynomic Acid from *Polyalthia evecta*," *Phytochemistry*. 47(1) : 131-133.
- Kapingu, M.C. et al. (2000). "Diterpenoids from the Roots of *Croton Macrostachys*," *Phytochemistry*. 58 : 764.
- Kijjoa, A., Pinto, M. & Herz, W. (1989). "16 – hydroxy – 3, 13Z – Kolavadien – 16, 15-olide from *Polyalthia viridis*," *Planta. Med.* 55(2) : 205-206.
- Kijjea, A. et al. (1993). "Clerodanes from *Polyalthia viridis*," *Phytochemistry*. 34(2) : 457-460.
- Kunesch, N. et al. (1985). "Isopolyalthenol and Neopolyalthenol, New Indolosequiterpenes Isolated from *Polyalthia suaveolens* (Annonaceae)," *Tetrahedron Lett.* 26(40) : 4937-4940.
- Lavault, M. et al. (1990). "(-) – Thaipetaline, a Tetrahydroprotoberberine from a Malayan Annonaceae," *Phytochemistry*. (Microfilm). 29(12) : 3845-3847.
- Leboeuf, M. et al. (1976). "The Structure of Polyalthenol, an Indolosequiterpene," *Tetrahedron Lett.* 39 : 2559-2563.
- Lee, K.H., Chuah, C.H. & Goh, S.H. (1997). "Seco – Benzyltetrahydroisoquinolines from *Polyalthia insignis* (Annonaceae)," *Tetrahedron Lett.* 38(7) : 1253-1256.
- Li, H-Y. et al. (1993). "Anti-AIDS Agents, 9 Suberosol, a New C31 Lanostane – Type Triterpene and Antr-HIV Principle from *Polyalthia suberosa*," *J. Nat. Prod.* 56(7) : 1130-1133.
- Lue, Y.P. et al. (1998). "24 – Methylene Tetracyclic Triterpenes from *Polyalthia lamcilimba*," *Phytochemistry*. 49(7) : 2053-2056.
- Manzoor -I- Khuda, M. & Hoosain, M. (1982). "Chemical investigation of *Polyalthia longifolia* (Bene Debbaru). Part I. Isolation of β - sitosterol from the Bark," *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* (microfilm) 17 (1 - 2) : 134-135.

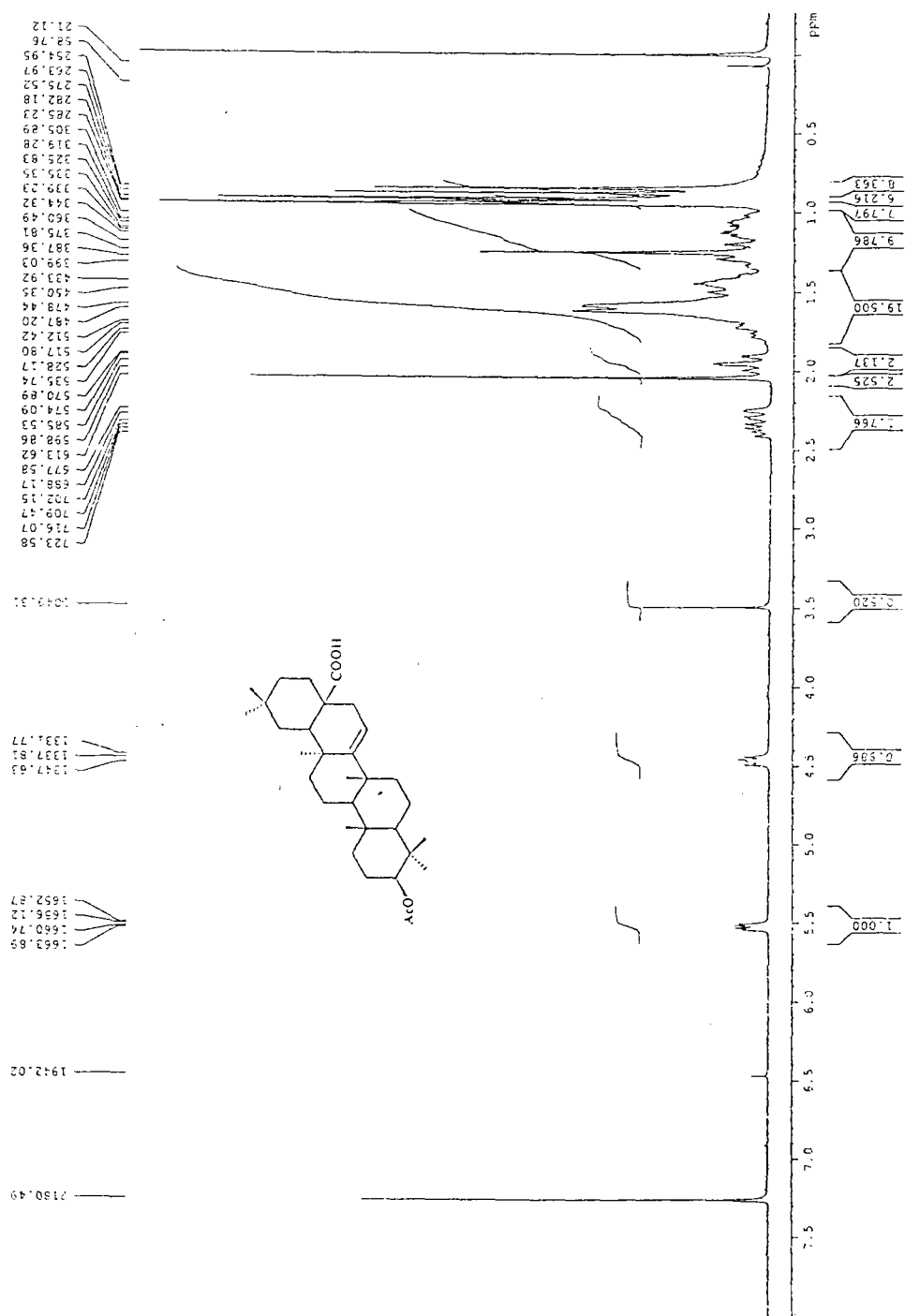
- Ma, X. et al. (1994). "Cytotoxic Clerodane Diterpenes from *Polyalthia barnesii*," *Phytochemistry*. 37(6) : 1659-1662.
- NAPRALERT. (1999, August). *Polyalthia* (online) Available E-mail : NAPRALERT <1.pmmp.uic.edu>
- Okorie, D.A. (1980). "a New Class of Indolosesquiterpene alkaloids from *Polyalthia suaveolens*," *Tetrahedron*. 36(13) : 2005-2008.
- Padme, P., Chansouria, J. & Khosa, R. (1998). "Effect of Some Indigenous Drugs on Cold Immobilization Stress Induced Gastric Uicer," *Phytother Res*. 12(2) : 127-128.
- Pavia, D.L., et al. (1955). *Organic Laboratory Techniques*. 2nd ed. Philadelphia : Saunders College Publishing.
- Phadnis, A.P. et al. (1988). "Clerodane Diterpenoids from *Polyalthia longifolia*," *Phytochemistry*. 27(9) : 2899-2901.
- Pouchert, C.J., Behke, J. (1993). *The Aldrich library of ¹³C and ¹H FTNMR Spectra*. Wisconsin : Aldrich Chemical Company, Inc.
- Rashid, M.A. et al. (1996). "Antimicrobial Diterpenes from *Polyalthia longifolia* var. *Pendulla* (Annonaceae)," *Phytother. Res.* (Microfilm). 10(1) : 79-81.
- Rao, K.S. (1996). "Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants of Papua New Guinea," *Int. J. Pharmacog.* 34(3) : 223-255.
- Richomme, P. et al. (1991). "a Novel Leishmanicidal Labdane from *Polyalthia macropoda*," *Planta Med.* 52 : 552-554.
- Seetharaman, T.R. (1986). "Flavonoids from the leaves of *Annona squamosa* and *Polyalthia longifolia*," *Fitoterapia* (Microfilm) 57(37) : 198-199.
- Thompson, M.J. et al. (1992). "NMR Spectra of C-24 Isomeric Sterols," *Phytochemistry*. 11 : 1789.
- Tuchinda, P. et al. (2000). "an Azaanthracene Alkaloid from *Polyalthia suberosa*," *Phytochemistry*. 53 : 1079-1082.
- Woo, W.S. & Wagner, H. (1977). "3 - Acetylaleuritolic Acid from the Seeds of *Phytolacca americana*," *Phytochemistry*. 16 : 1845.
- Wright, J.L.C. et al. (1978). "Identification of C - 24 alkyl epimers of Marine Sterols by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy," *Can. J. Chem.* 56 : 1900.

- Wu, Y.C. et al. (1989). "Azafluorene and Apoiphine Alkaloids from *Polyalthia longifolia*," *Heterocycles*. 29 (3) : 463-475.
- Wu, Y.C. et al. (1990). "Two New natural Azafluorene Alkaloids and Cytotoxic Aporphine Alkaloid from *Polyalthia longifolia*," *J. Nat. Prod.* 53(5) : 1327-1331.
- Yao, J.Z., Liang, H.Q. & Liao, S.H. (1994). "Active constituents of *Polyalthia Nemoralis*," *Yaoxue Xuebao*. (Microfilm) 29(11) : 845-850.
- Zafra – Polo, M.C. et al. (1996). "Polyalthidin : New Prenylater Benzopyran Inhibitor of the Mammalian Mitochondrial Respiratory Chain," *J. Nat. Prod.* 59(10) : 193-196.
- Zhao, G. et al. (1991). "Cytotoxic Clerodane Diterpene from *Polyalthia longifolia*," *Planta Med.* 57 : 380-383.
- Zheng, X. et al. (1994). "Plagionicin A, with C₅-OH, a New Monotetrahydrofuran Acetogenin," *Zhiwu Xuebao*. (Microfilm). 36(7) : 557-560.

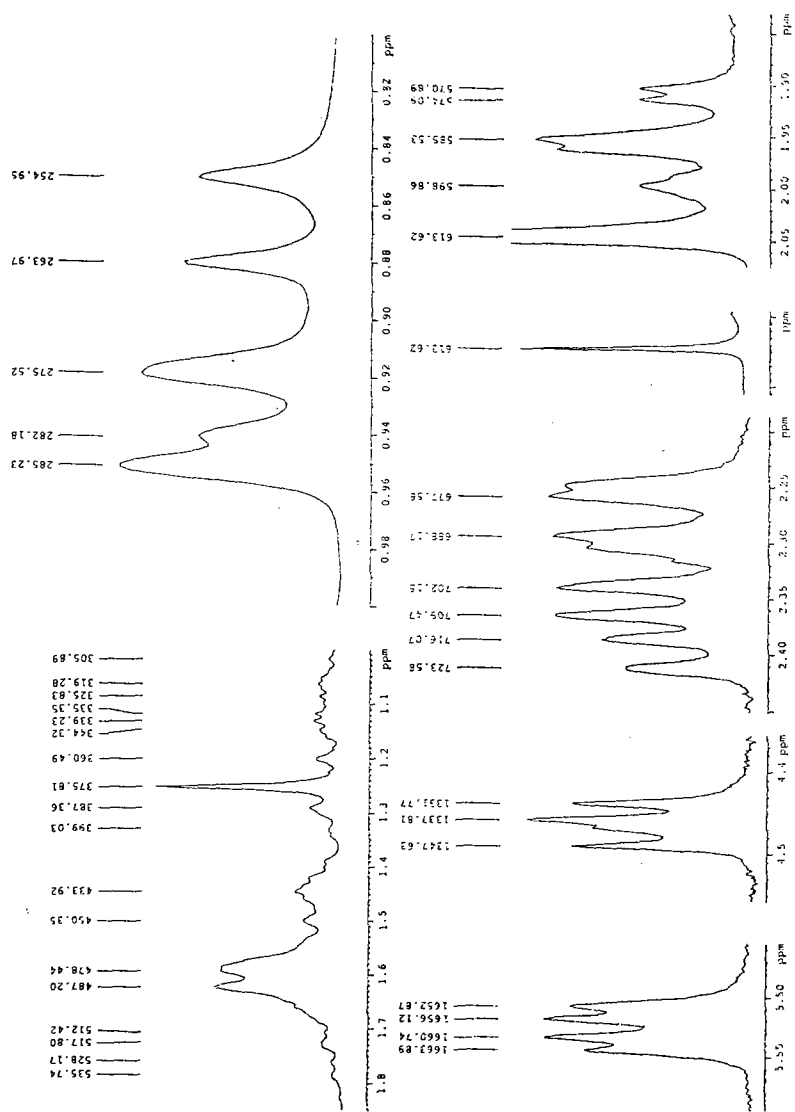
ภาคผนวก



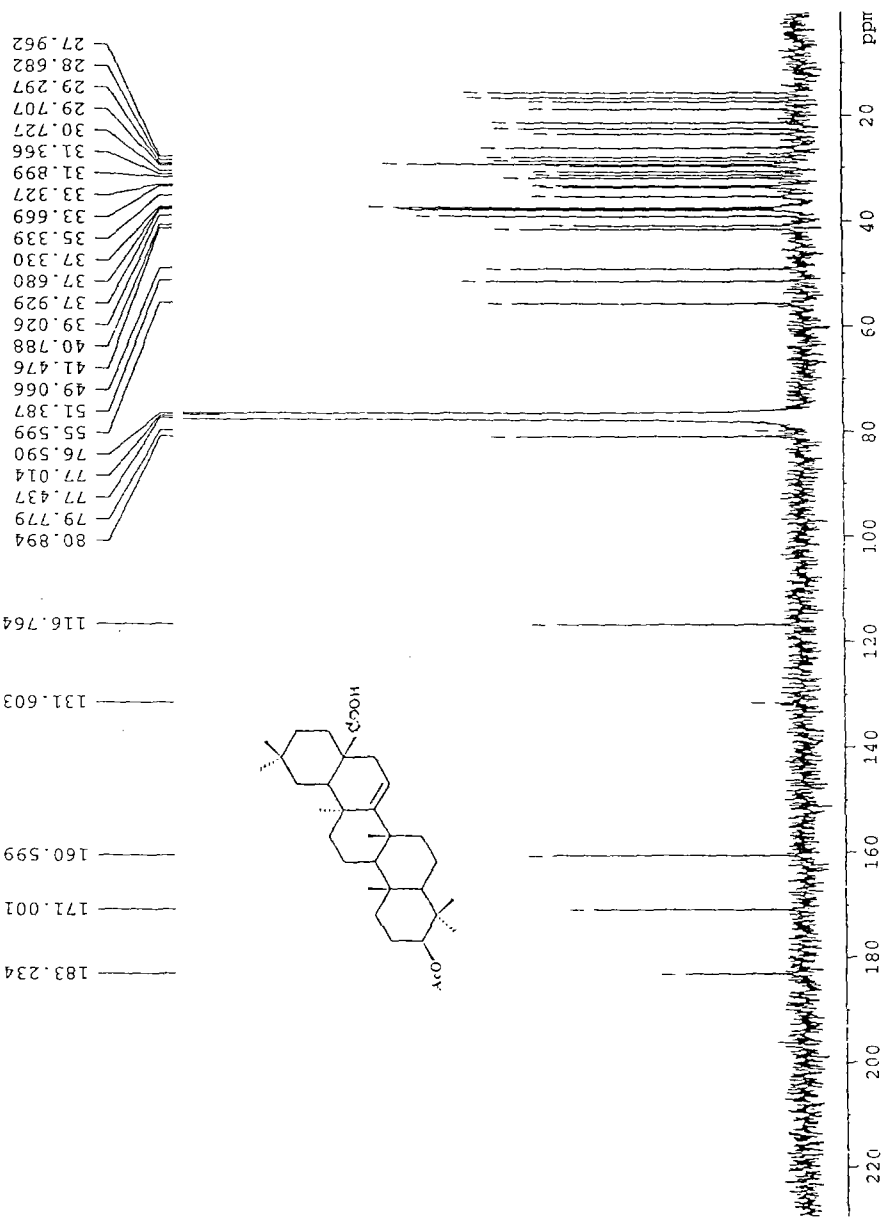
ภาพประกอบ 44 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ A (KBr)



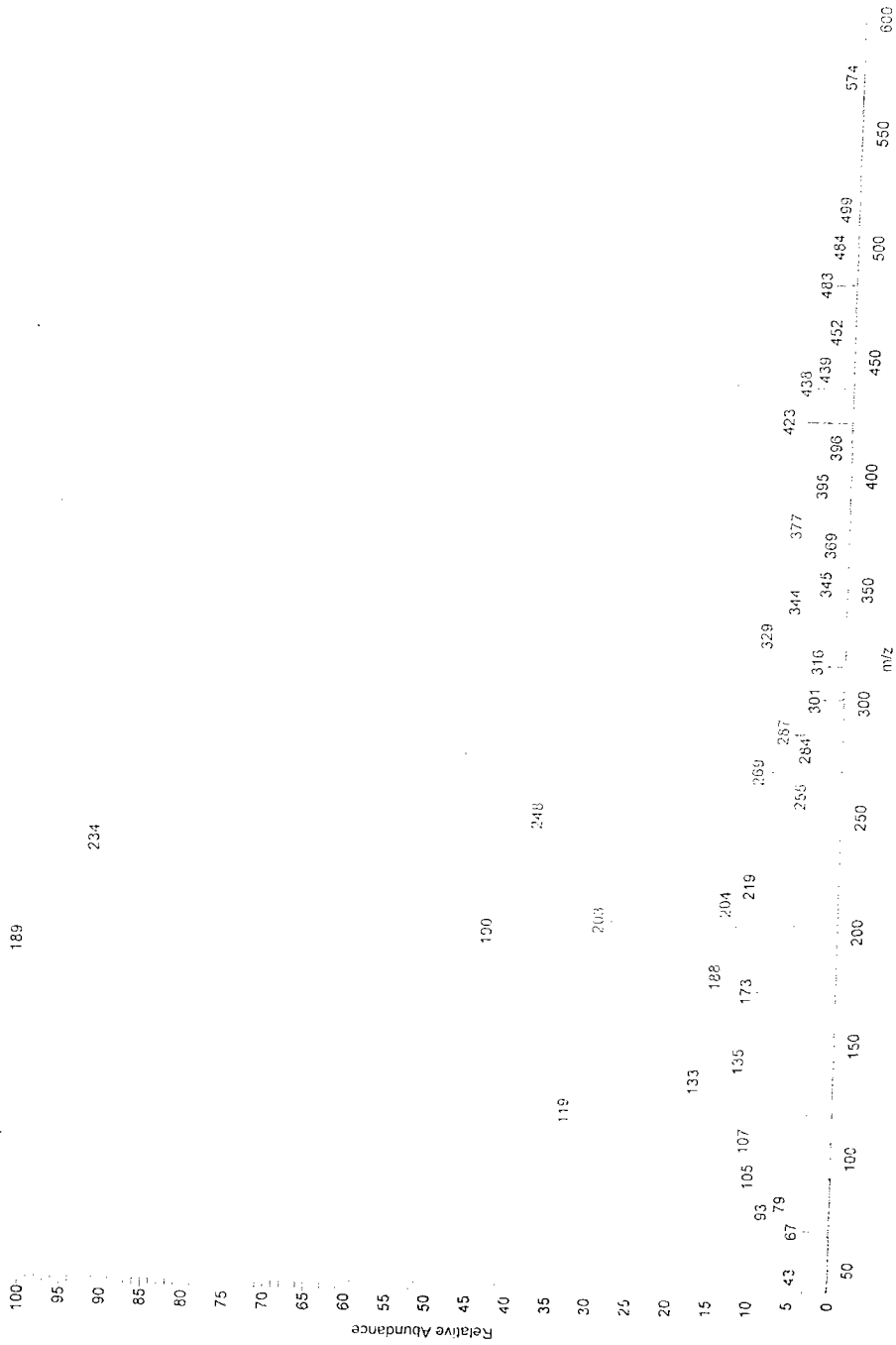
ภาพประกอบ 45 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ A (400 MHz, CDCl_3)



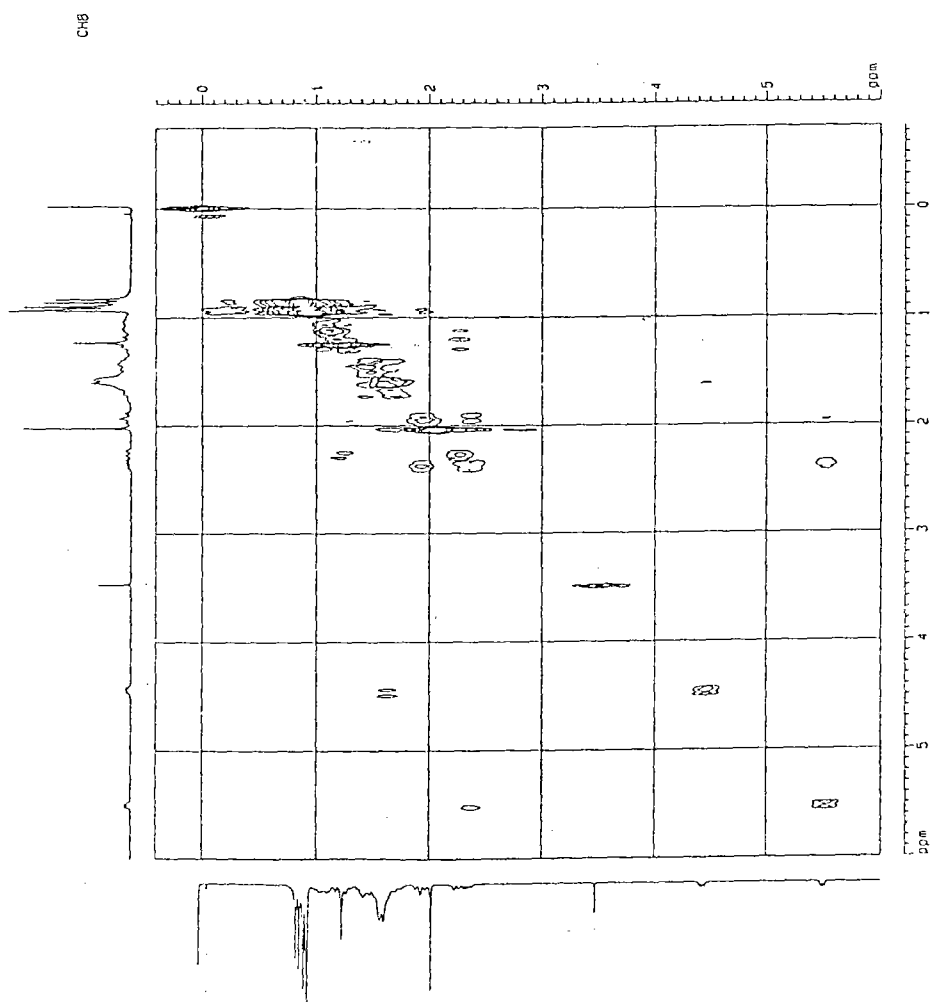
ภาพประกอบ 46 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ A



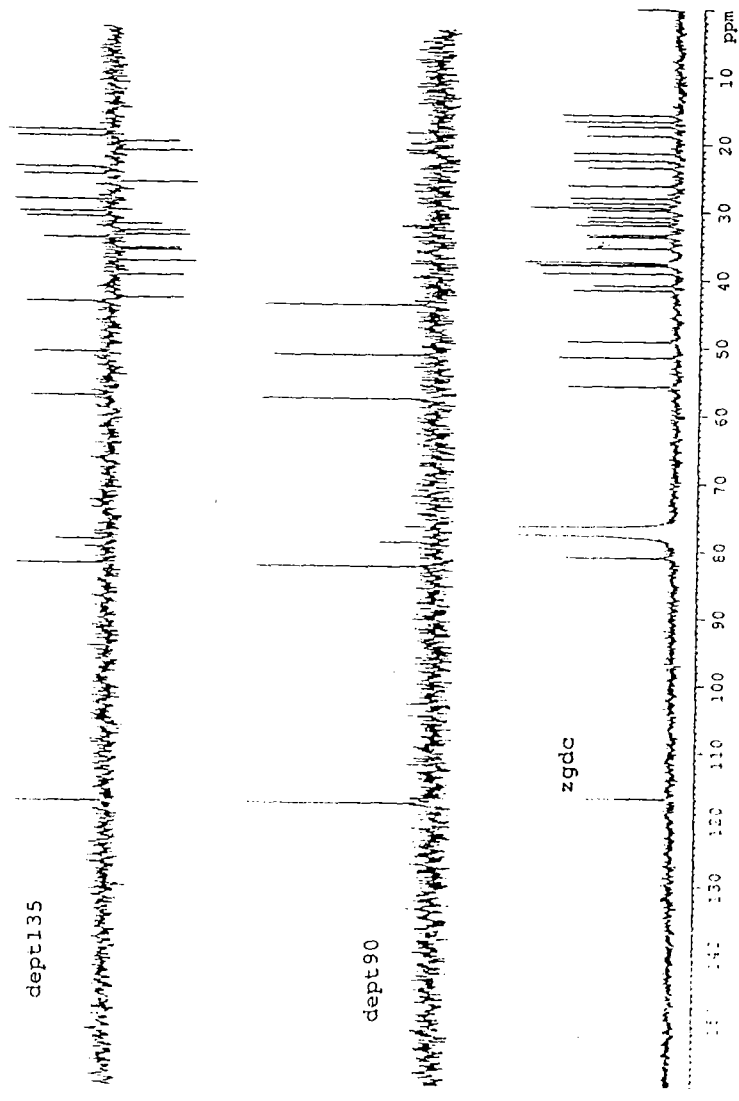
ภาพประกอบ 47 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ A(100 MHz, CDCl_3)



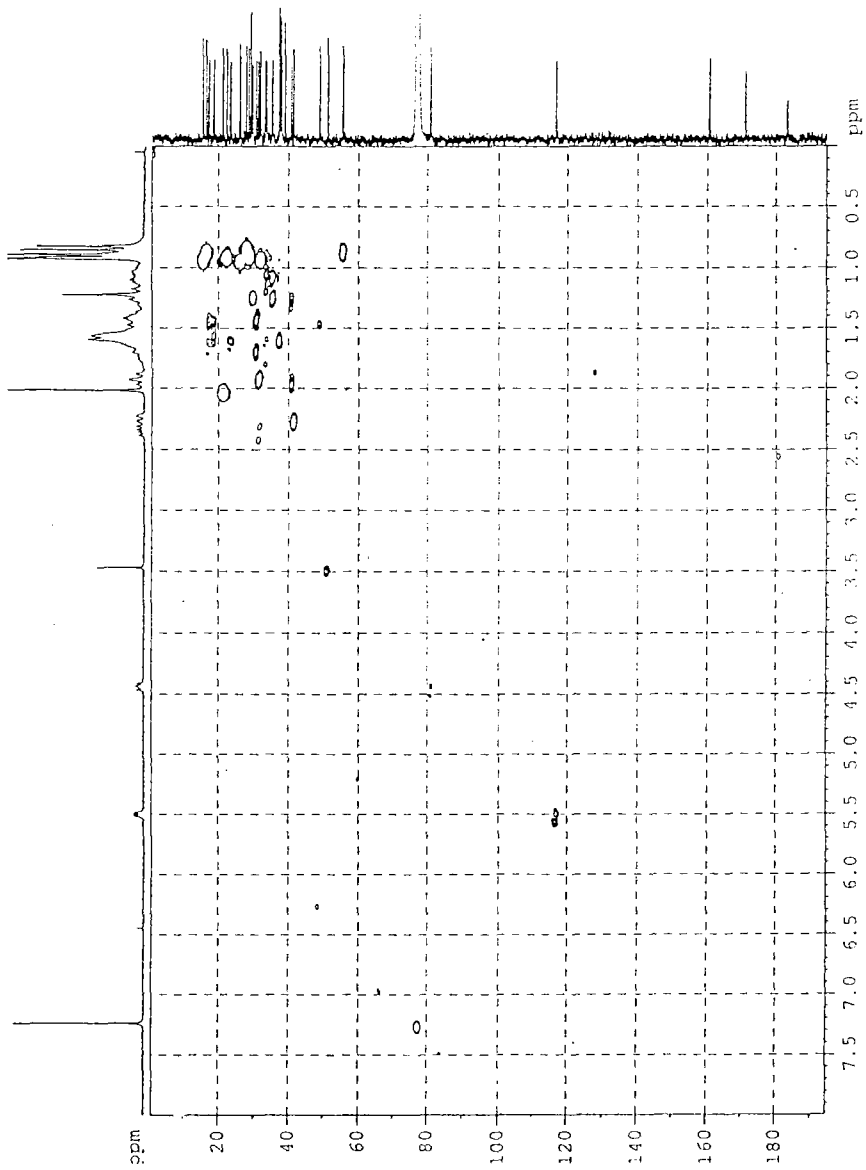
ภาพประกอบ 48 Mass spectrum ของสารประกอบ A



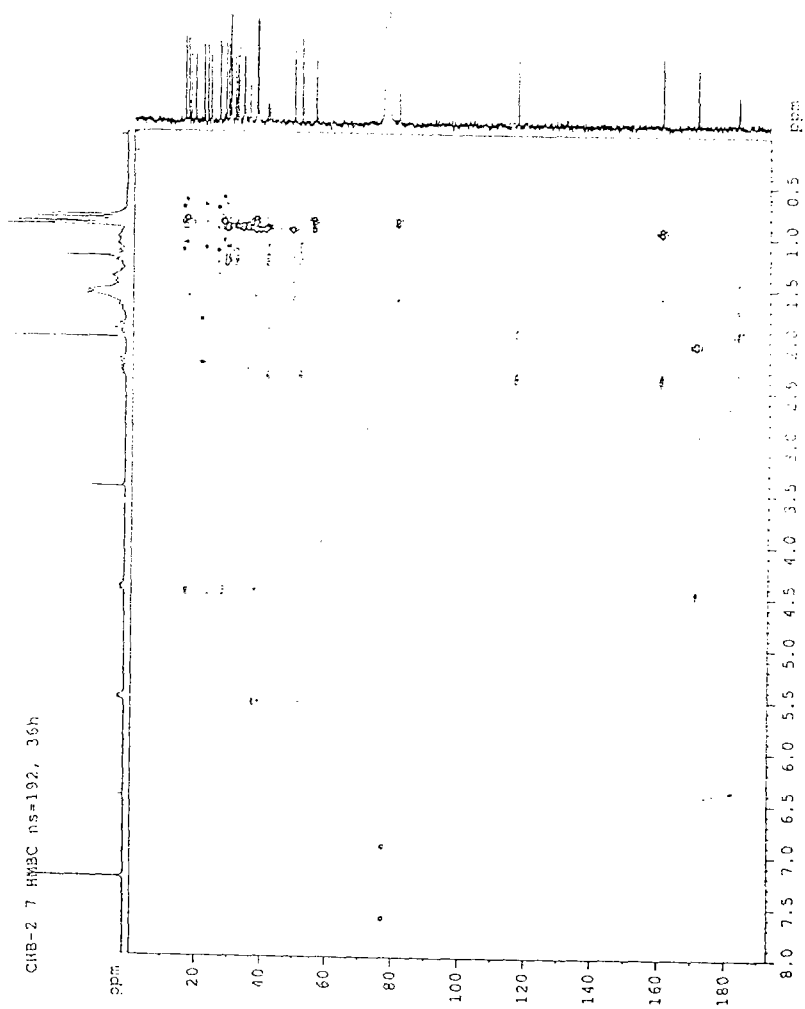
ภาพประกอบ 49 COSY spectrum ของสารประกอบ A



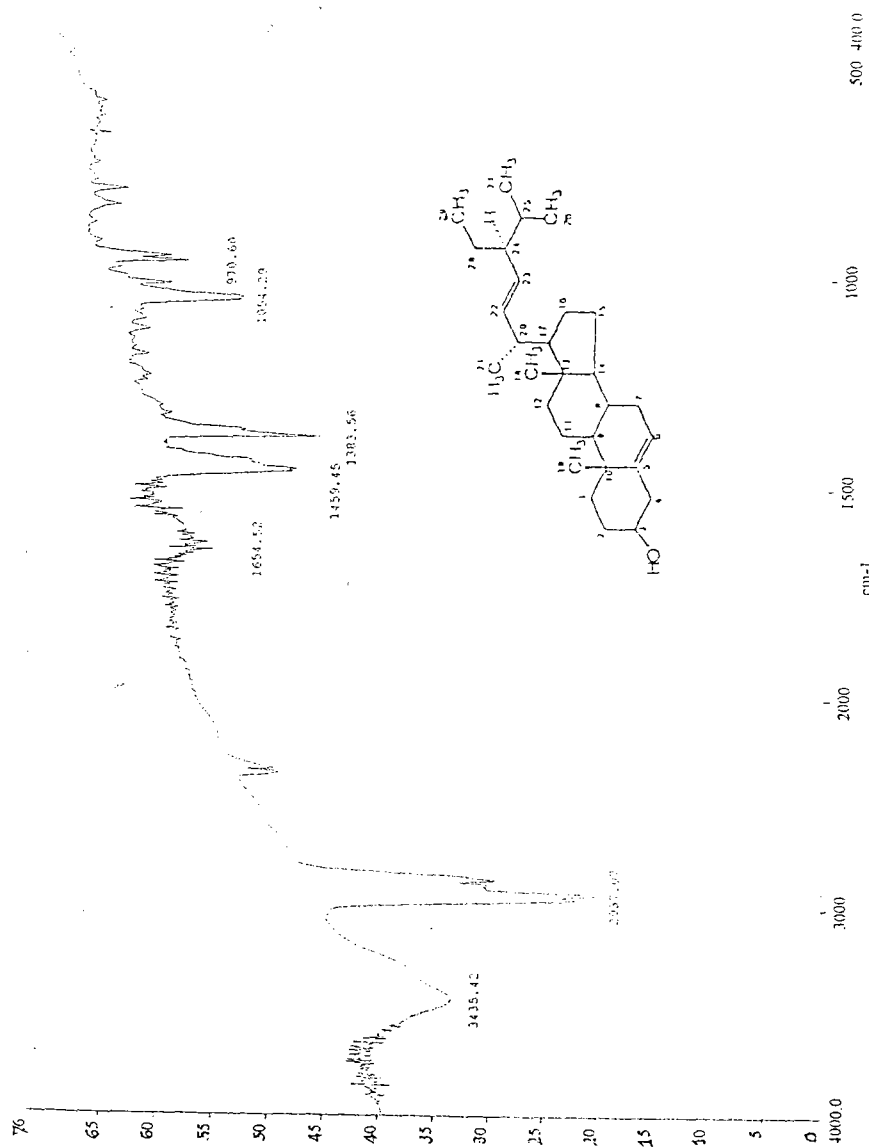
ภาพประกอบ 50 DEPT - 90 และ DEPT - 135 ของสารประกอบ A



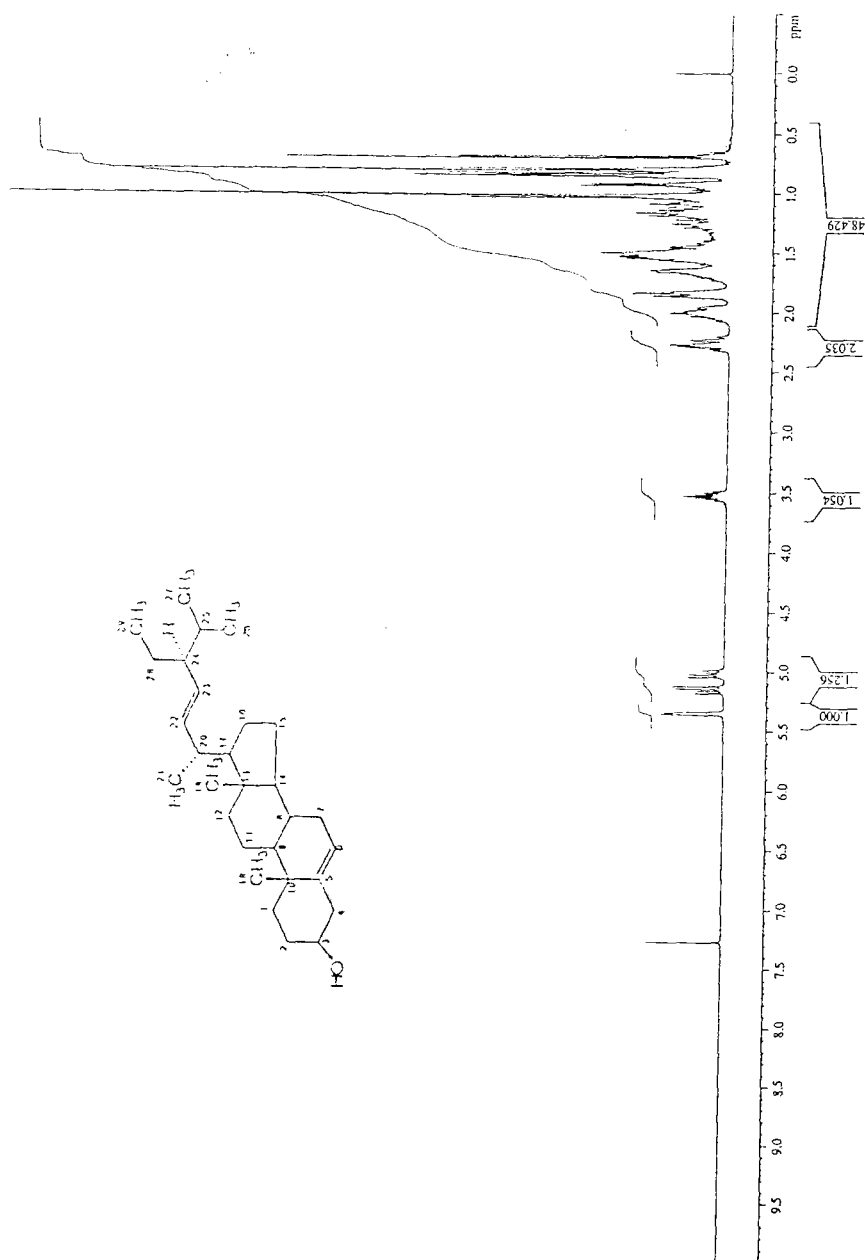
ภาพประกอบ 51 HMQC spectrum ของสารประกอบ A



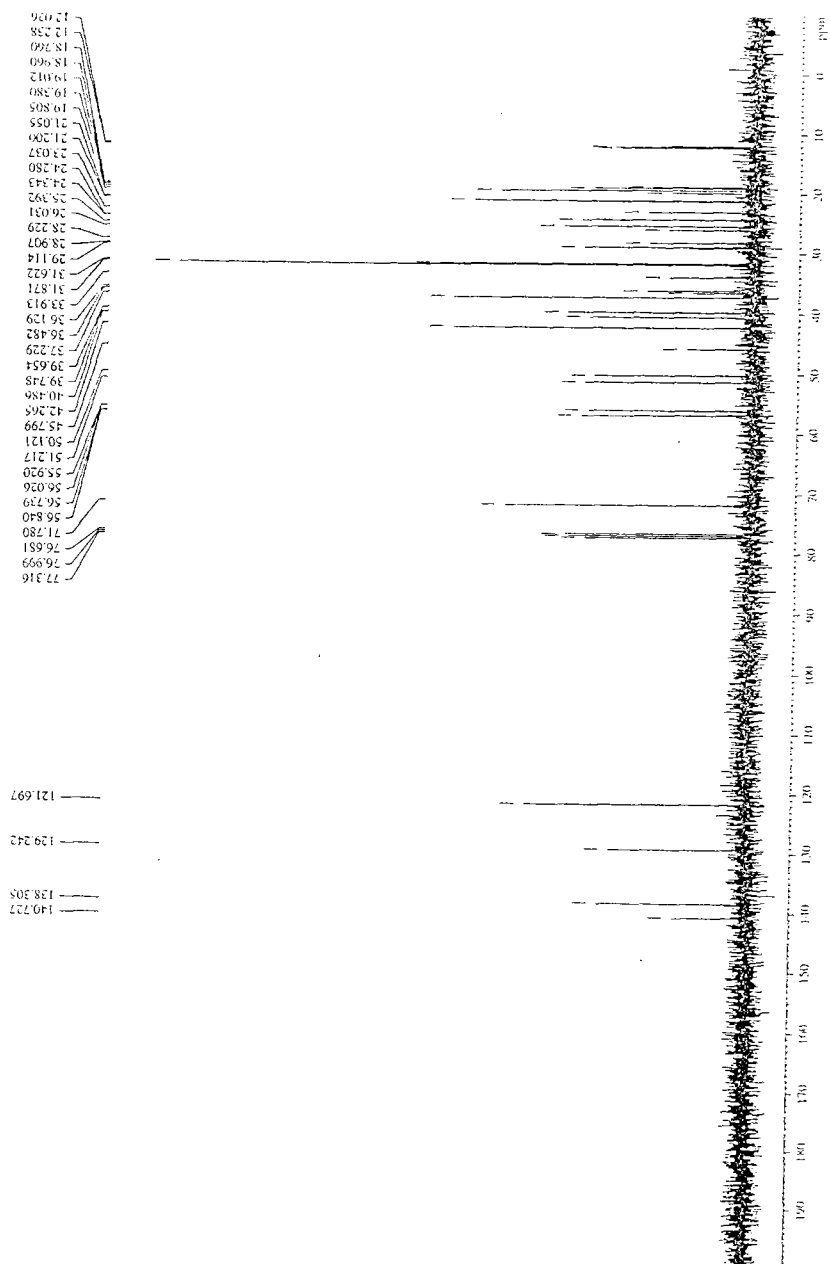
ภาพประกอบ 52 HMBC spectrum ของสารประกอบ A



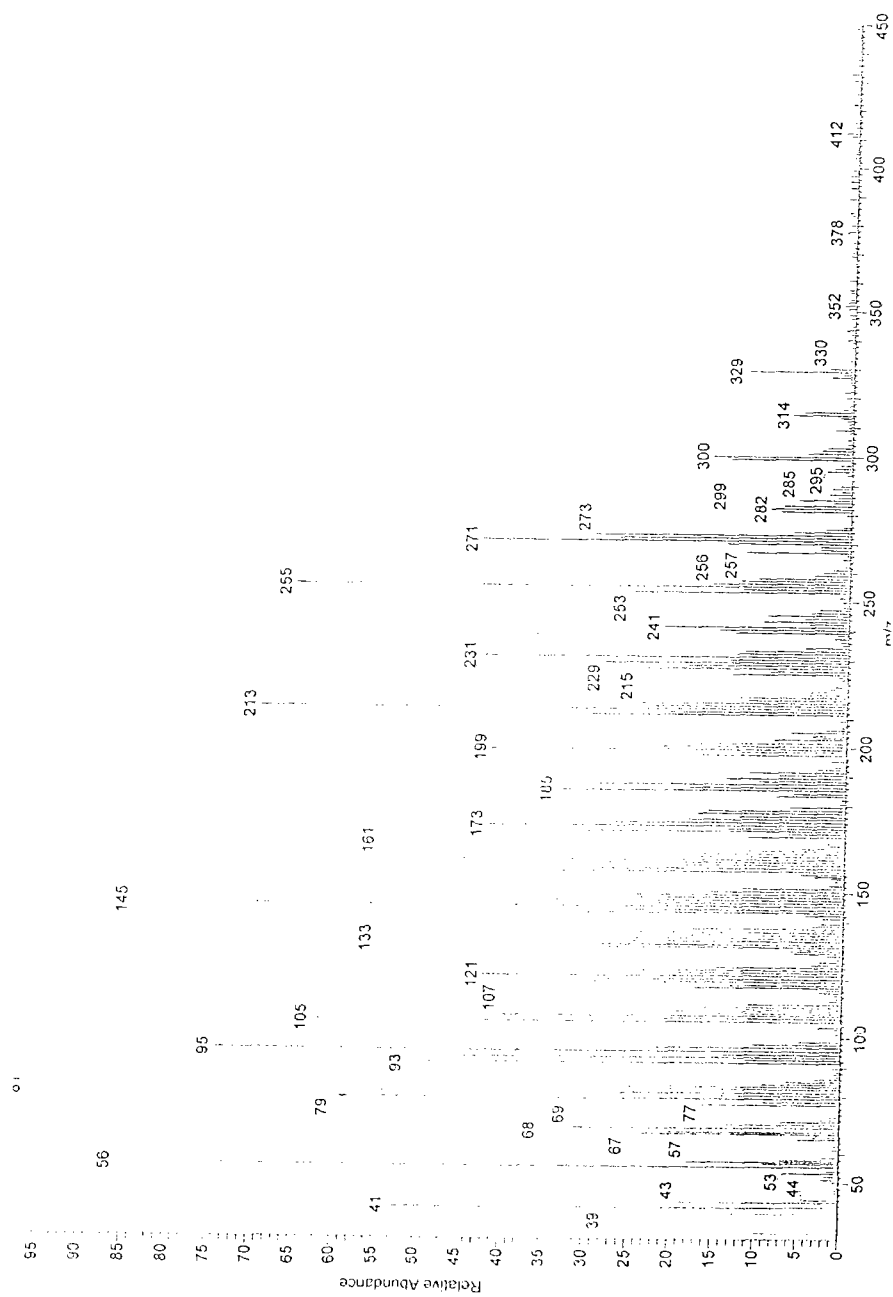
ภาพประกอบ 53 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ B (KBr)



ภาพประกอบ 54 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ B (400 MHz, CDCl₃)

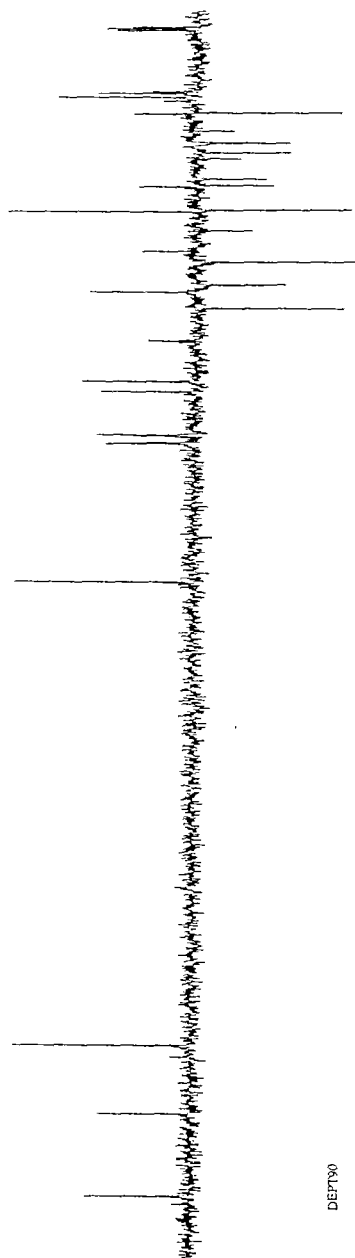


ภาพประกอบ 55 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ B (100 MHz, CDCl_3)

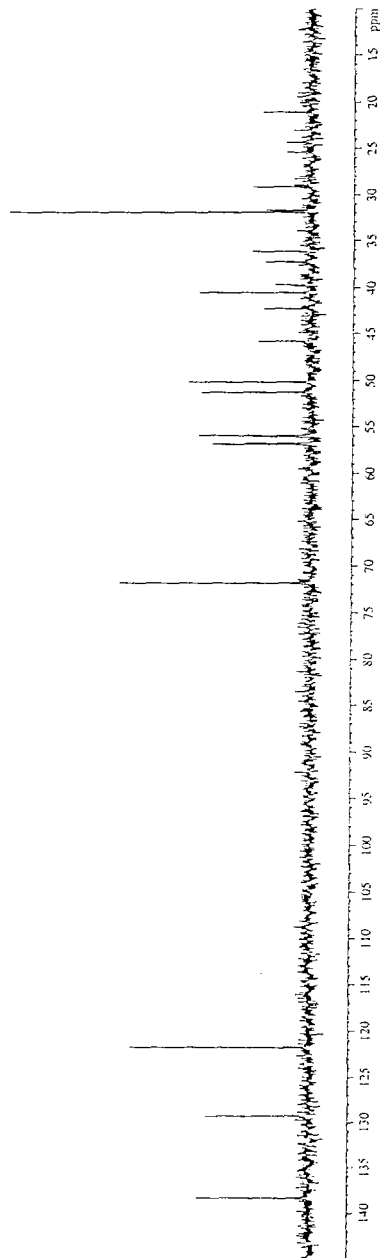


ภาพประกอบ 56 Mass spectrum ของสารประกอบ B

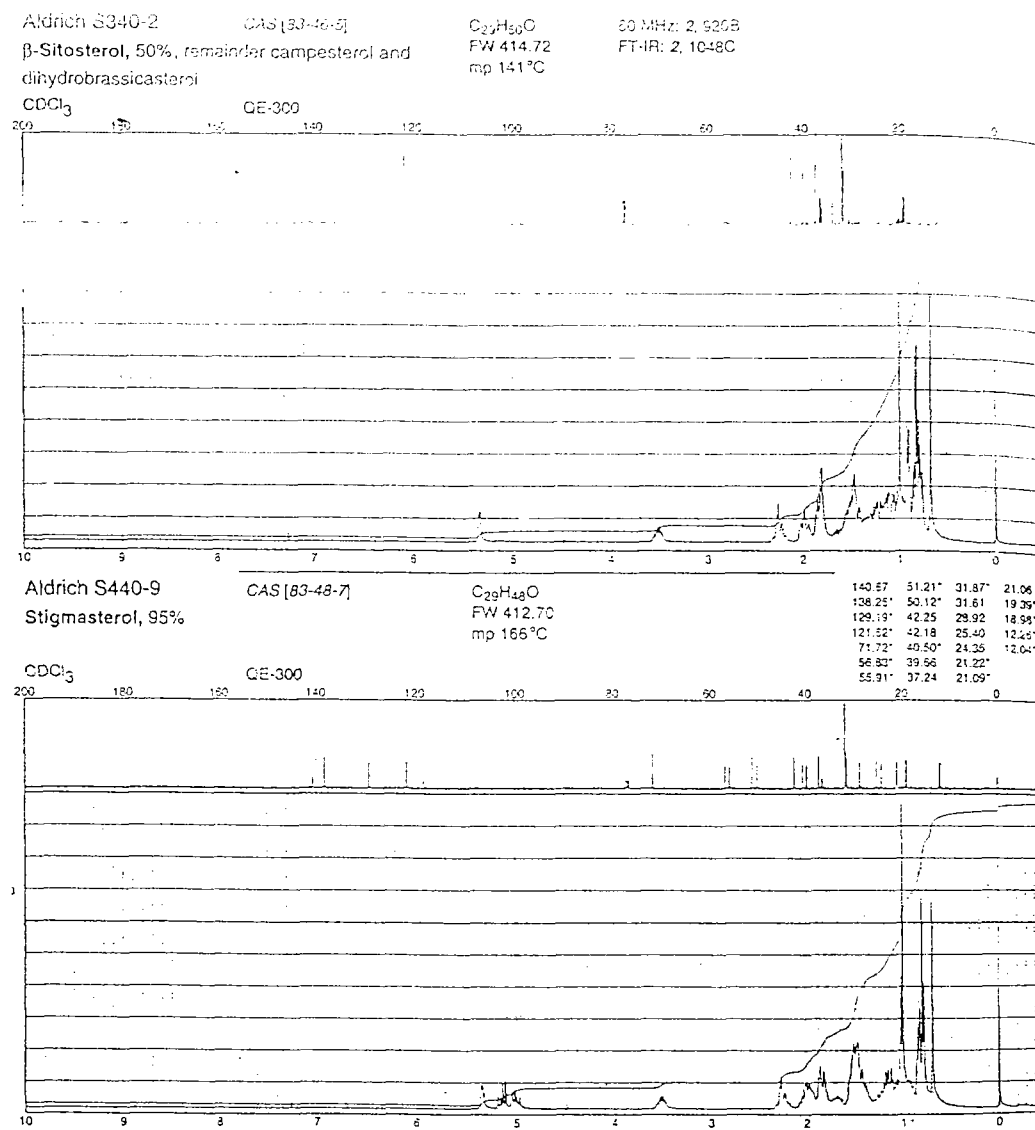
DEPT135



DEPT90

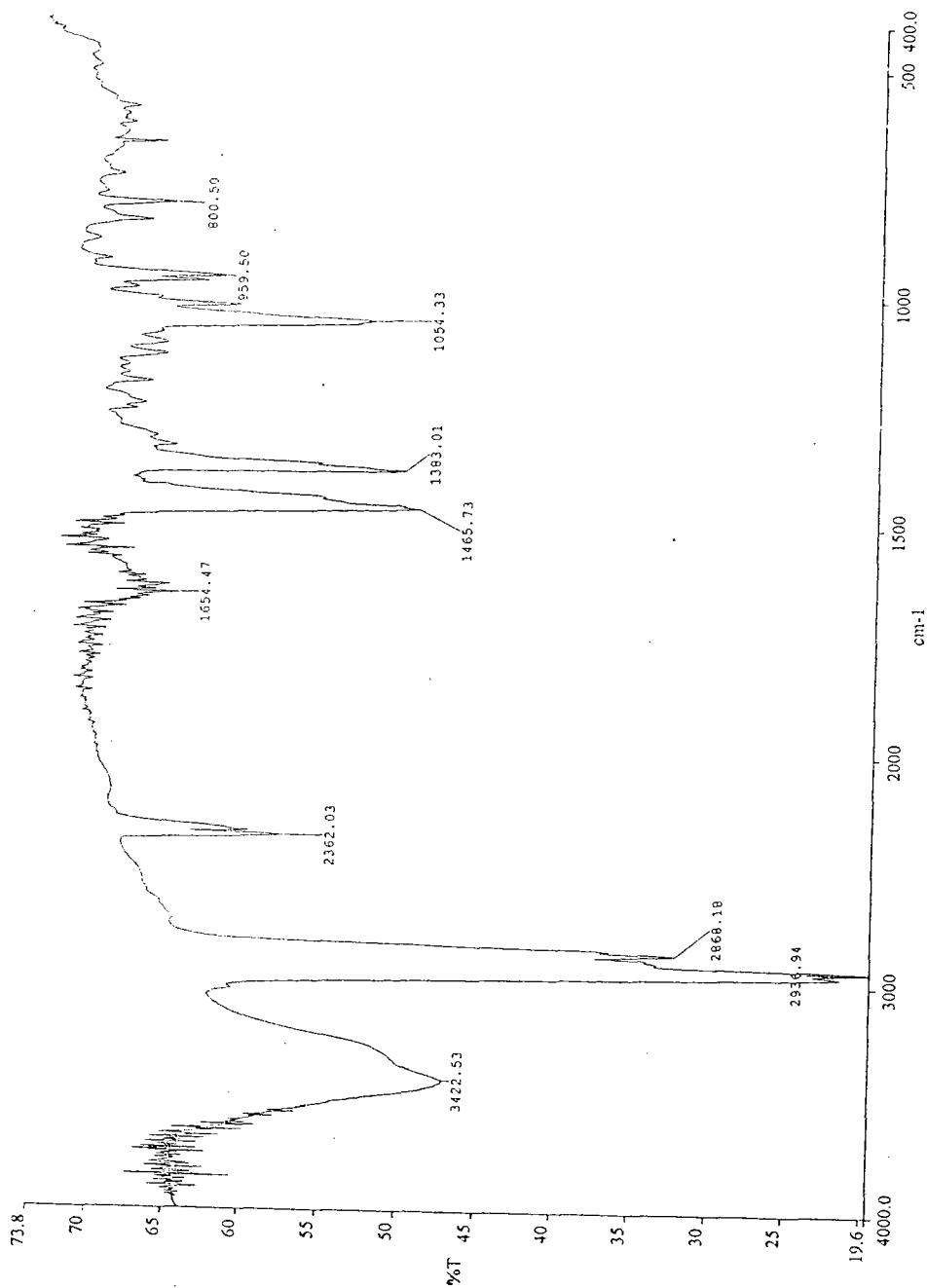


ภาพประกอบ 57 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ B

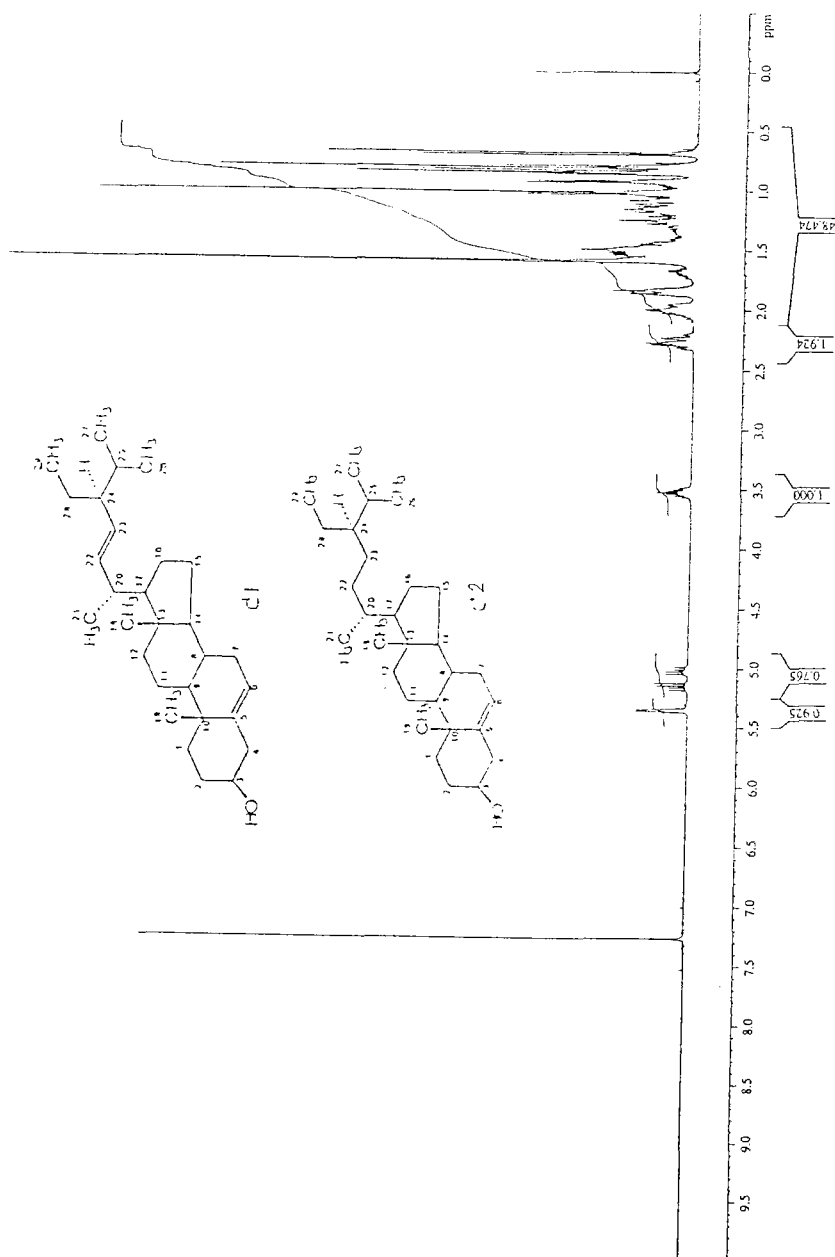


ภาพประกอบ 58 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ β -sitosterol และ stigmasterol

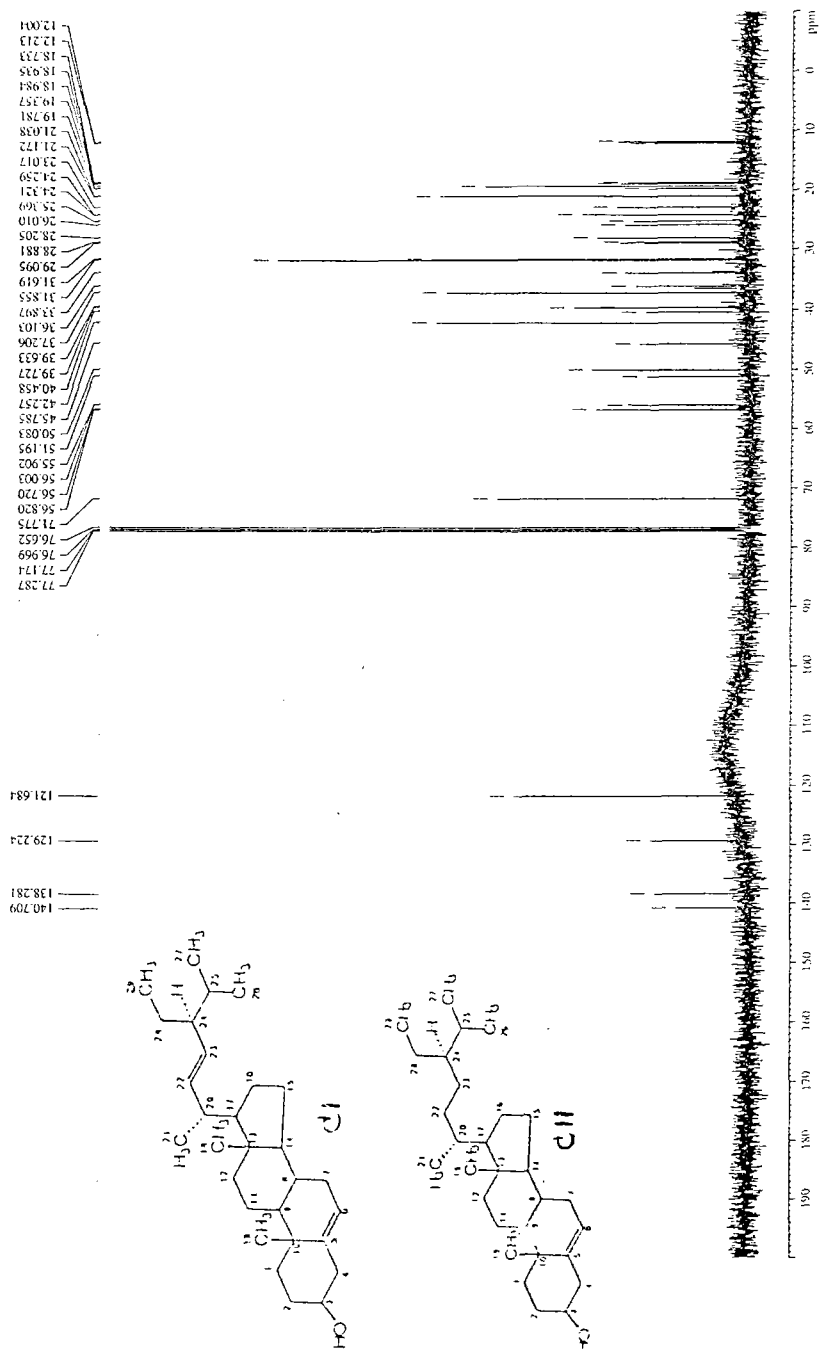
(Pouchert & Behke. 1993 : 569)



ภาพประกอบ 59 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ C (KBr)

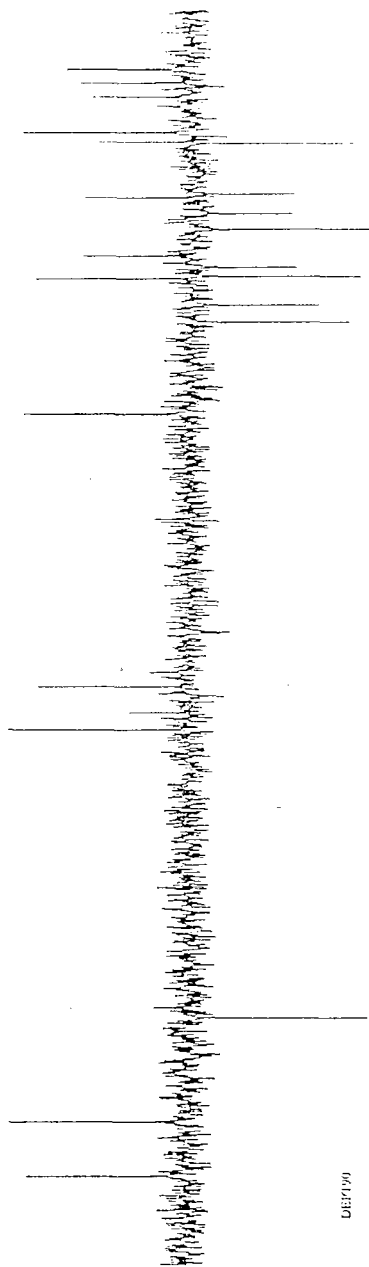


ภาพประกอบ 60 ¹H NMR spectrum ของสารประกอบ C (400 MHz, CDCl₃)

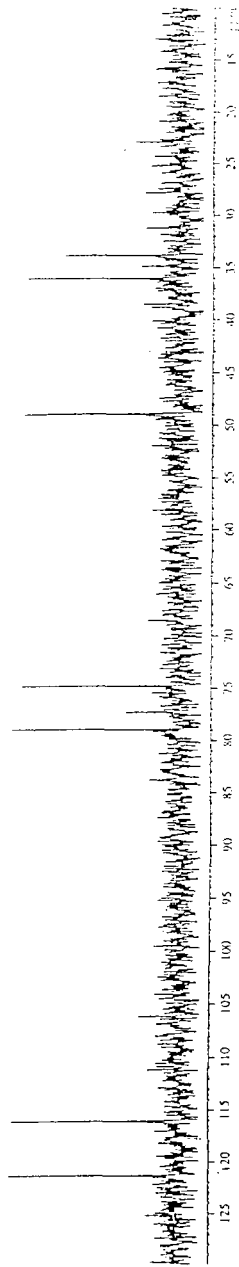


ภาพประกอบ 61 ¹³C NMR spectrum ของสารประกอบ C (100 MHz CDCl₃)

DEPT135



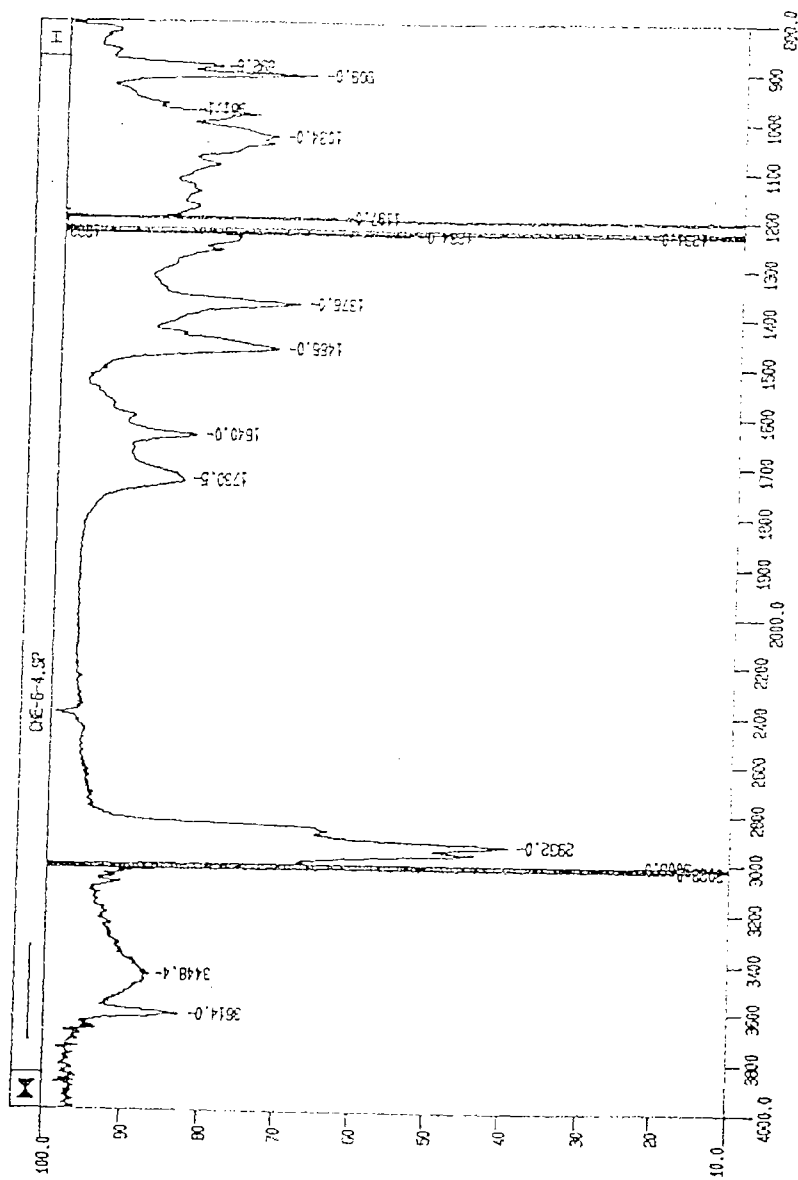
DEPT190



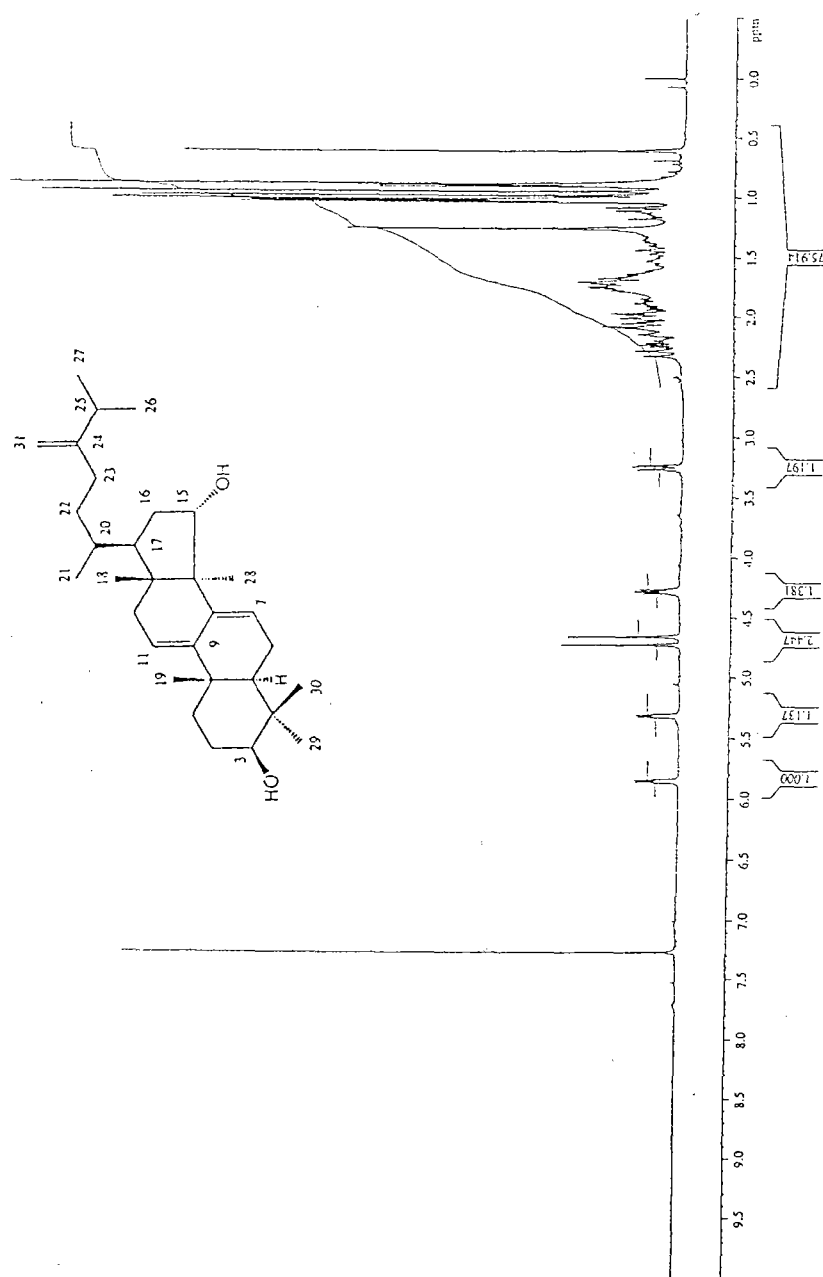
ภาพประกอบ 62 DEPT - 90 และ DEPT - 135 ของสารประกอบ C



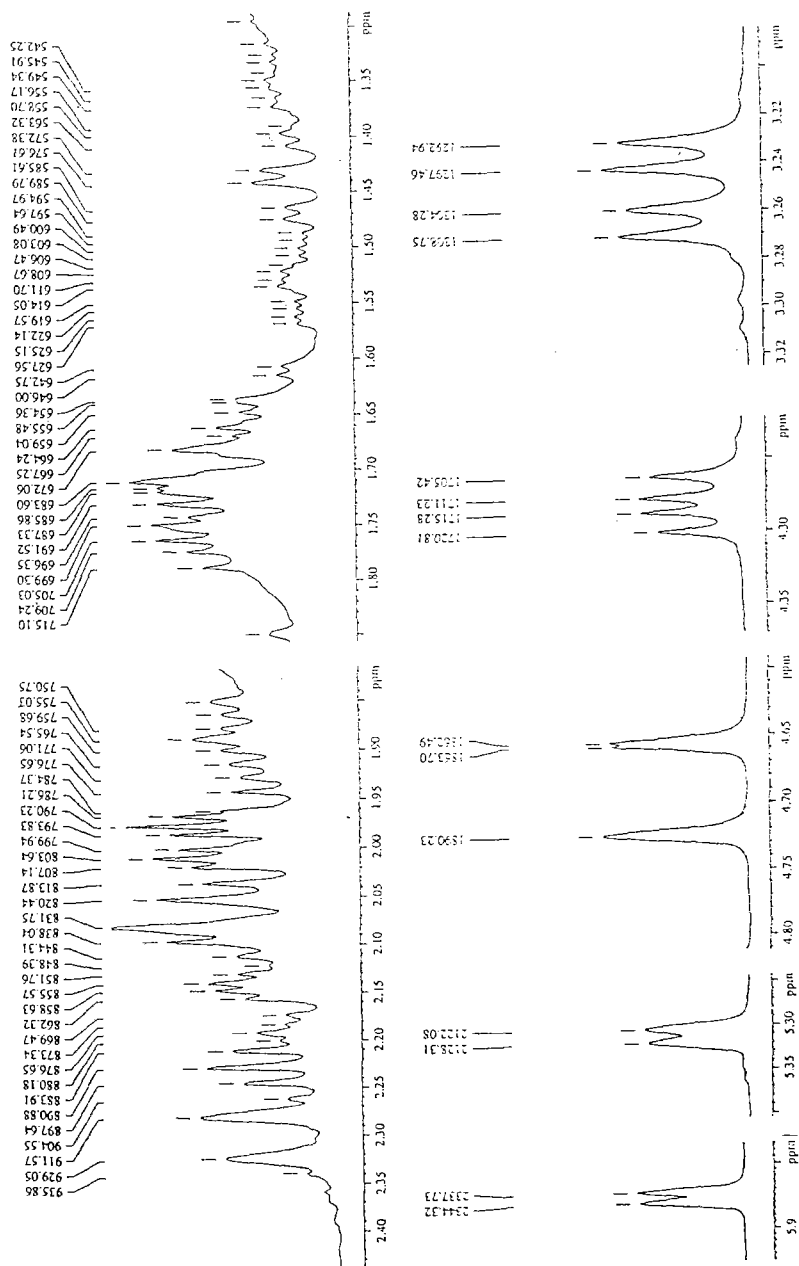
ภาพประกอบ 63 Mass spectrum ของสารประกอบ C



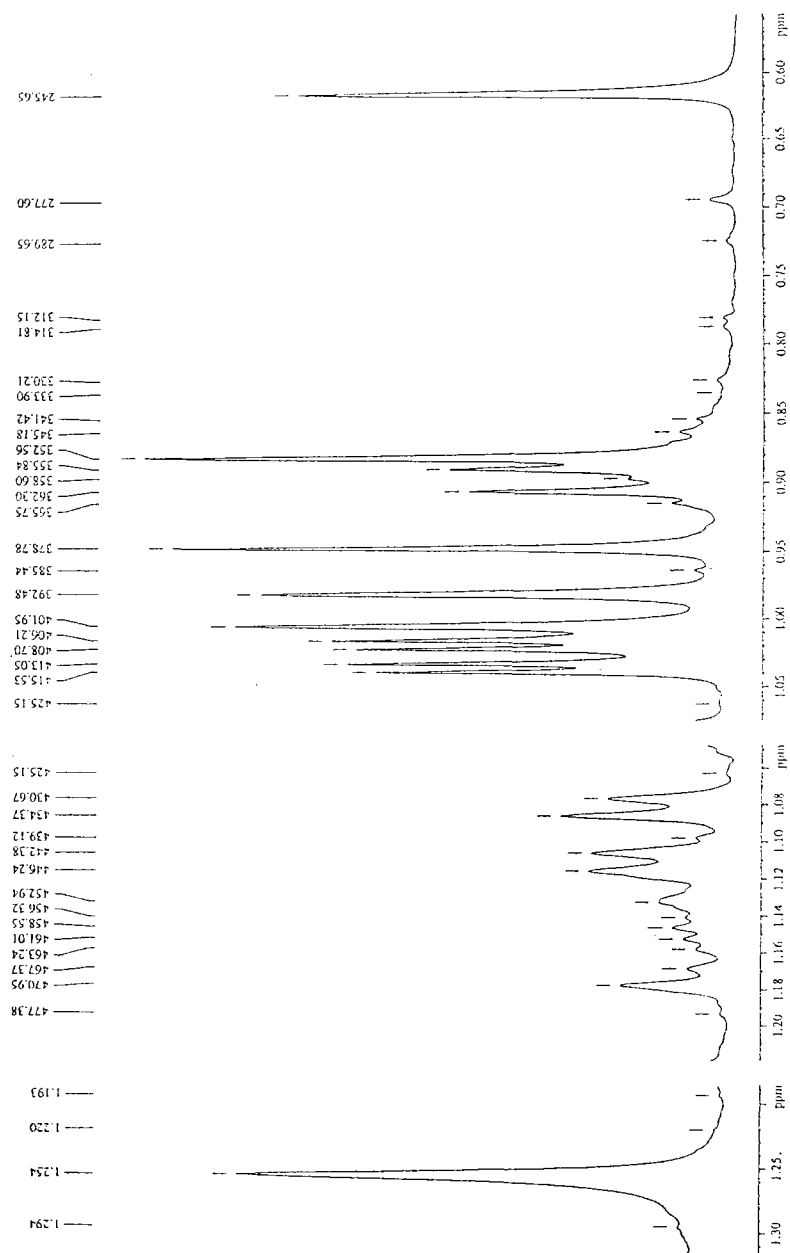
ภาพประกอบ 64 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ D (KBr)



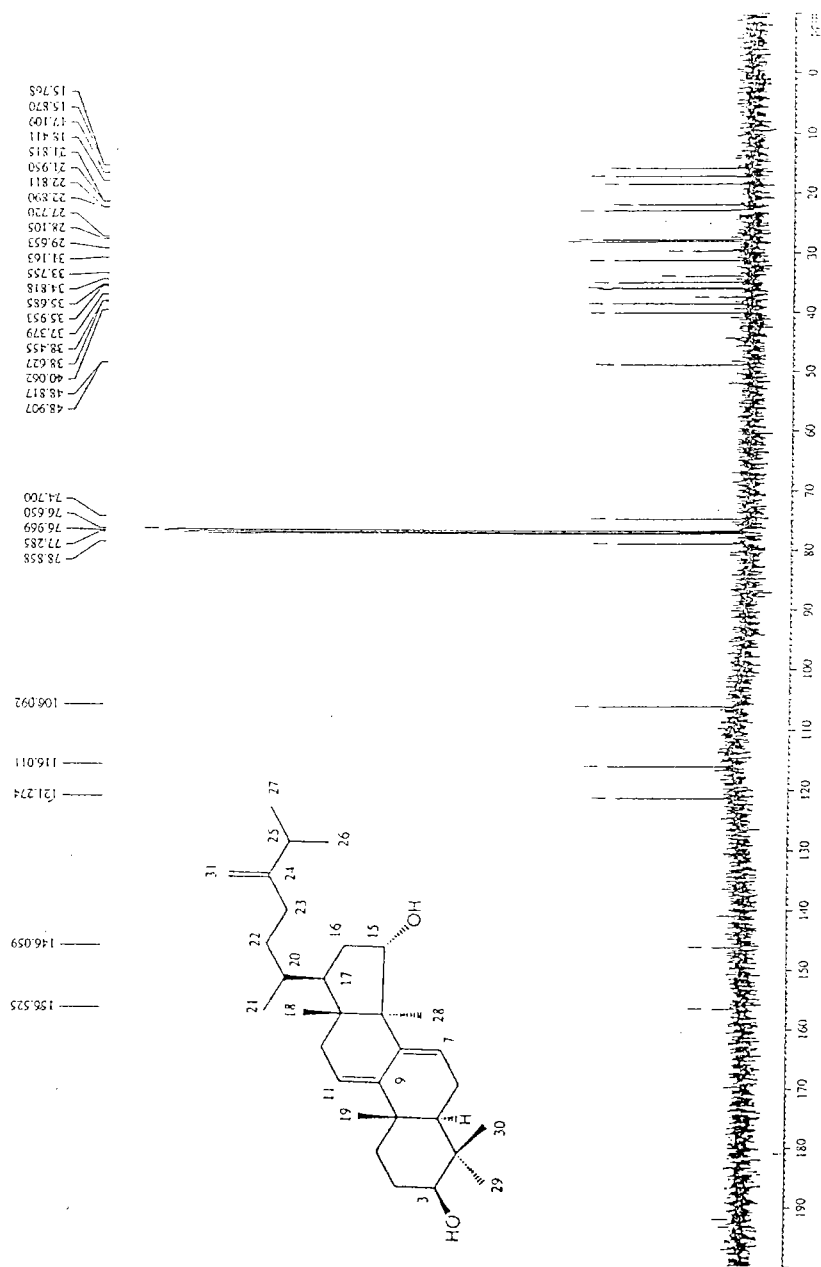
ภาพประกอบ 65 ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3)



ภาพประกอบ 66 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3)

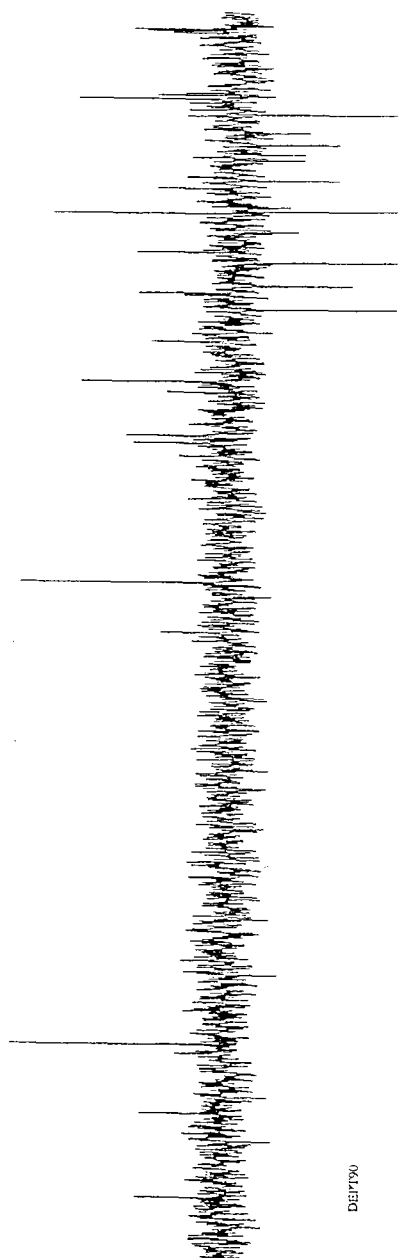


ภาพประกอบ 67 ขยายสัญญาณ ^1H NMR spectrum ของสารประกอบ D (400 MHz, CDCl_3)

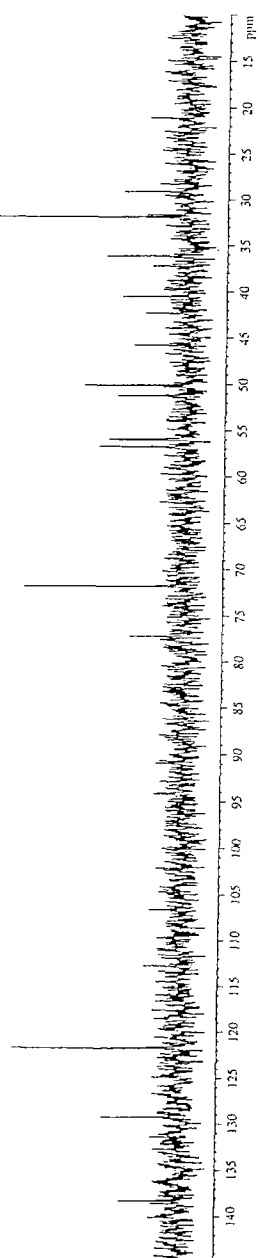


ภาพประกอบ 68 ^{13}C NMR spectrum ของสารประกอบ D (100 MHz, CDCl_3)

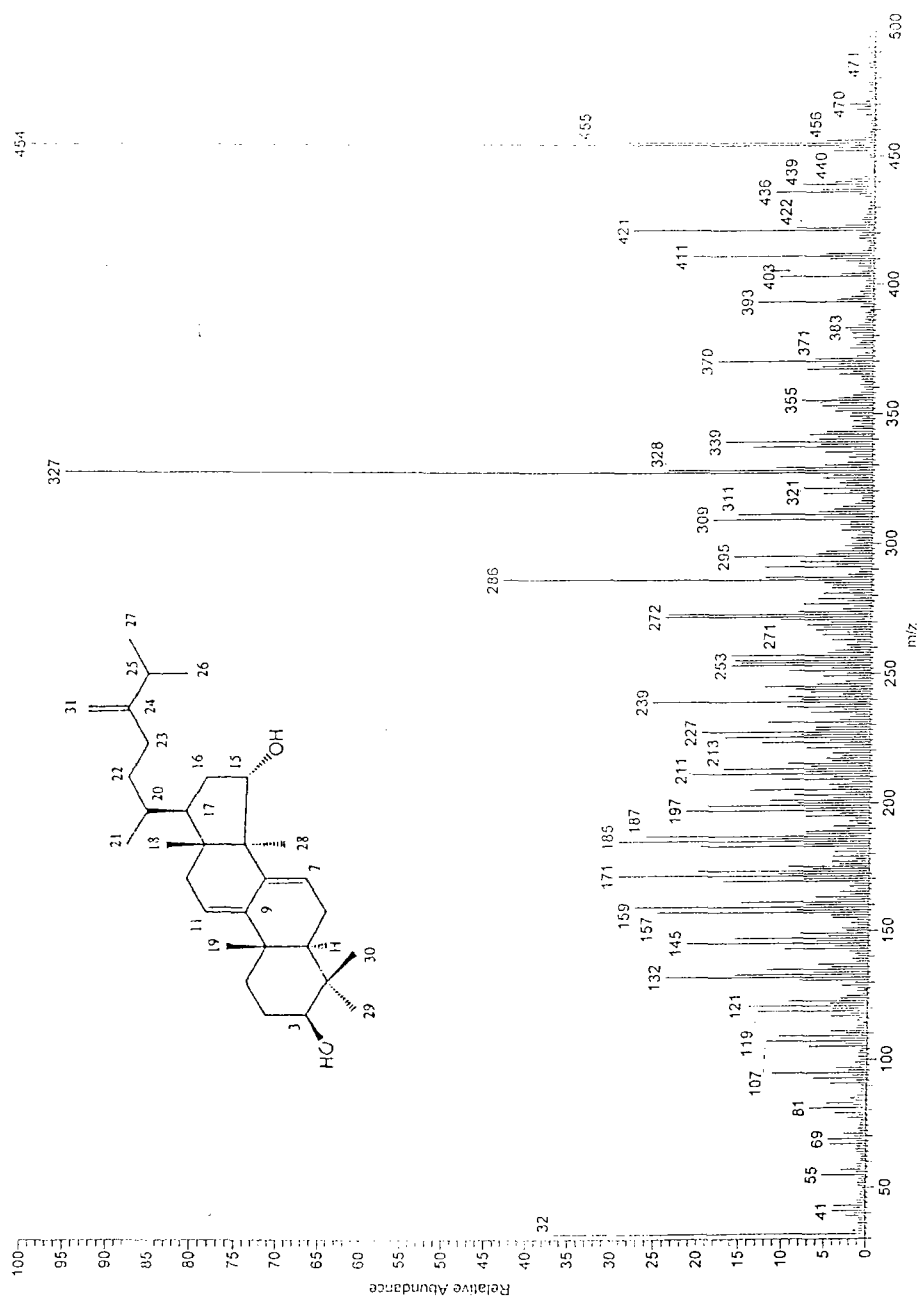
DEPT135



DEPT90



ภาพประกอบ 69 DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารประกอบ D



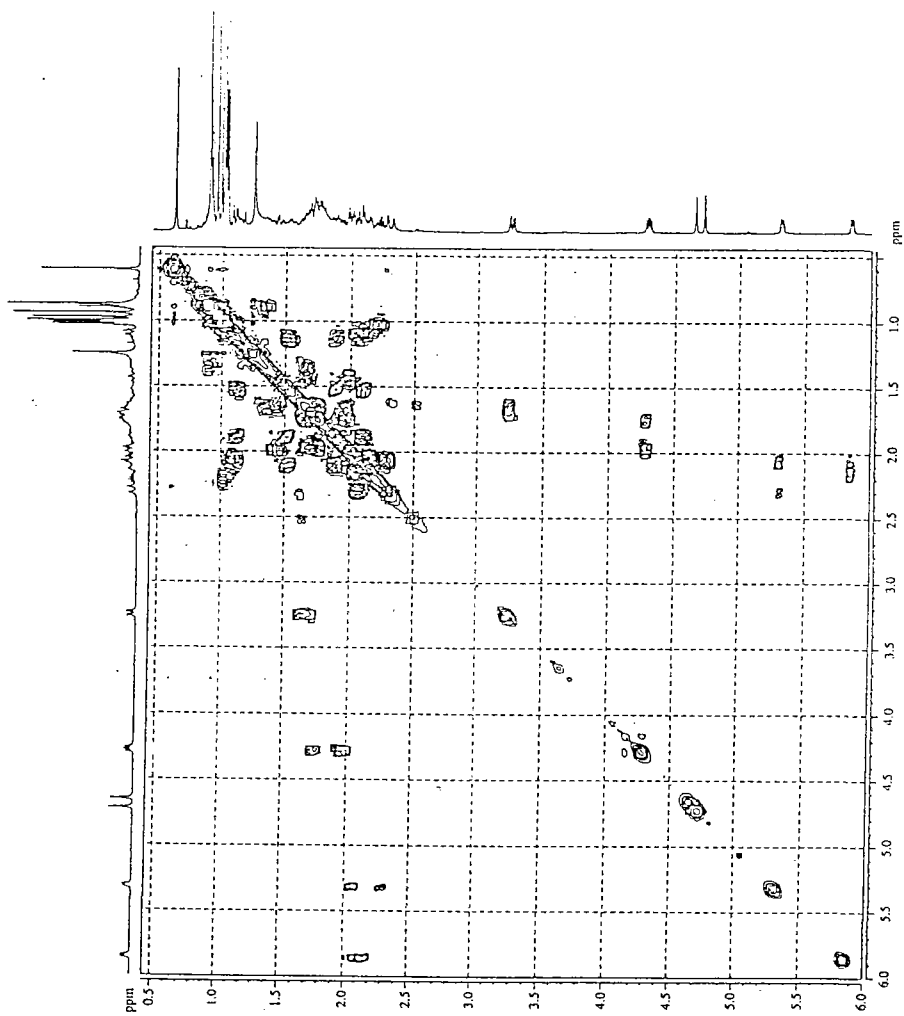
ภาพประกอบ 70 Mass spectrum ของสารประกอบ D

Cme6-4#517-544 RT: 4.95-5.21 AV: 28
 T: + c Full ms [30.00-650.00]
 m/z= 30.00-500.00

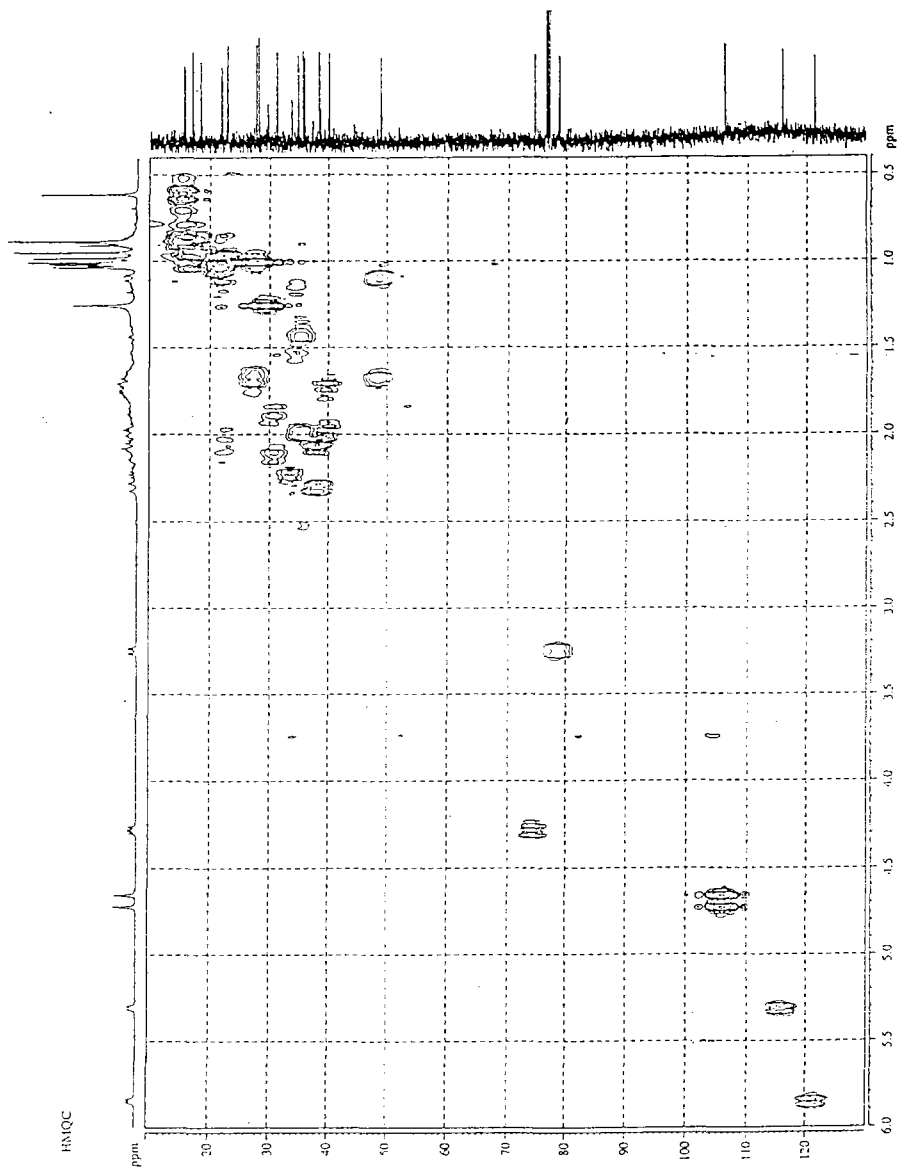
m/z	Intensity	Relative
31.96	115326.9	36.59
107.07	37368.4	11.86
119.09	40707.7	12.91
121.10	45032.3	14.29
132.07	75029.4	23.80
133.10	49804.5	15.80
135.11	37744.1	11.97
145.11	67651.8	21.46
147.12	49714.1	15.77
157.10	78122.4	24.79
159.13	86560.8	27.46
161.12	47294.4	15.00
169.12	54213.8	17.20
171.12	93048.4	29.52
173.13	63983.6	20.30
183.13	62871.7	19.95
185.12	92921.6	29.48
186.12	38163.2	12.11
187.12	82867.3	26.29
197.14	68086.9	21.60
199.14	59995.3	19.03
201.13	37029.7	11.75
205.12	44600.0	14.15
211.14	66003.3	20.94
213.13	54138.6	17.18
223.16	39879.5	12.65
225.14	53790.3	17.07
227.15	62432.4	19.81
231.12	37862.5	12.01
239.12	80269.1	25.47
245.11	39366.4	12.49
253.15	51680.5	16.40
254.16	47947.2	15.21
255.17	50199.0	15.93
257.09	51626.3	16.38
272.09	76172.0	24.17
273.13	75268.7	23.88
286.10	136874.8	43.43
287.14	39576.6	12.56
291.16	40210.4	12.76
295.15	51054.6	16.20
309.15	58976.9	18.71
311.17	49639.3	15.75
327.11	301494.9	95.65
328.13	75791.6	24.05
337.16	44268.4	14.04
339.16	54401.4	17.26
370.15	57451.2	18.23
393.18	42686.0	13.54
411.20	67158.7	21.31
421.20	88614.6	28.11
454.13	315196.9	100.00
455.15	103193.7	32.74

ภาพประกอบ 71 molecular ion ของสารประกอบ D

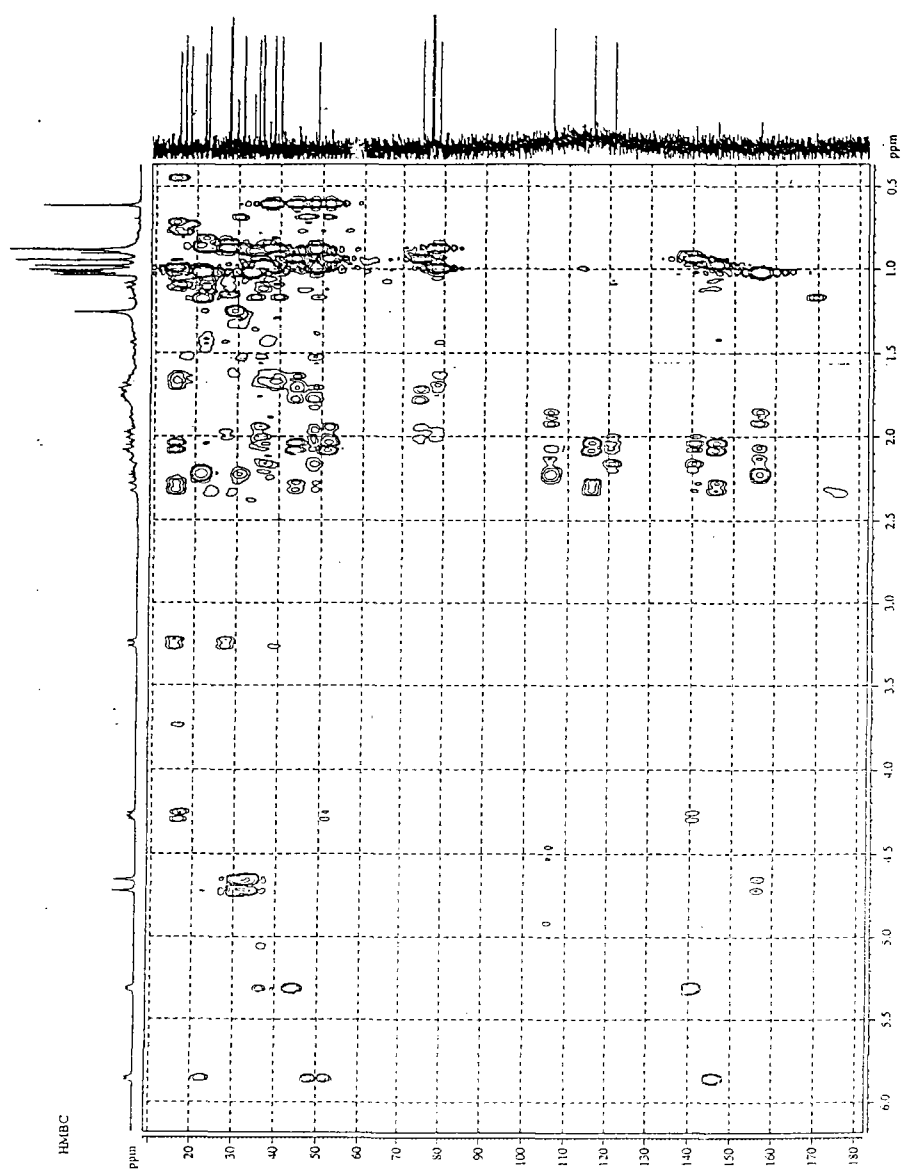
COSY



ภาพประกอบ 72 COSY spectrum ของสารประกอบ D



ภาพประกอบ 73 HMQC spectrum ของสารประกอบ D



ภาพประกอบ 74 HMBC spectrum ของสารประกอบ D

การเตรียม Reagent

Ammonia T.S

น้ำ Ammonium hydroxide 28% 35.7 mL เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 mL

Dragendorff's Reagent

ละลาย Bismuth nitrate 8 g ลงใน Nitric acid (30% w/v) 12 mL นำ Potassium iodide ละลายในน้ำ 50 mL เทสารละลาย Potassium iodide ลงใน Bismuth nitrate เติมน้ำจนมีปริมาตรครบ 100 mL

FeCl₃ reagent หรือ Killer – Kiline's reagent

น้ำ Ferric Chloride 10% w/w 0.3 mL ผสมกัน จำนวน 50 mL

Kedde's reagent

น้ำ 3, 5 – dinitrobenzoic acid 2 g มาละลายใน methanol 100 mL

Mayer's reagent

ละลาย Mercuric chloride 1.36 g ในน้ำ 60 mL ละลาย Potassium iodide 5 g ในน้ำ 10 mL จากนั้นเทสาร Mercuric Chloride ลงในสารละลาย Potassium iodide เติมน้ำให้มีปริมาตรครบ 100 mL

Tannic acid

น้ำ Tannic acid 5 g มาละลายในน้ำกลั่น 100 mL

Wagner's reagent

ละลาย Potassium iodide 2 g ในน้ำ 20 mL แล้วค่อยๆ เติม iodine crystal 1.27 g ลงไปจนละลายหมด เติมน้ำจนมีปริมาตรครบ 100 mL

อภิธานศัพท์

อภิธานศัพท์

s	singlet
d	doublet
dd	doublet of doublet
m	multiplet
br s	broad singlet
<i>J</i>	coupling constant
ppm	part per million
cm ⁻¹	wave number
°C	degree celcius
mL	millilitre
L	litre
μg	microgram
Kg	Kilogram
g	gram
CDCl ₃	deuterochloroform
UV	ultraviolet
FTIR	Fourier Transform Infared Spectra
¹ H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
¹³ C NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
EIMS	Electron Impact Mass Spectra
M ⁺	molecular ion
m/z	mass to charge ratio
Hz	Hertz
MHz	Mega Hertz
¹ H- ¹ H COSY	H-relayed correlated spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
HMQC	¹ H-detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
CC	Column Chromatography
PLC	Preparative Thin Layer Chromatography
TLC	Thin Layer Chromatography
CHCl_3	Chloroform
CH_2Cl_2	Methylene Chloride
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
Me_2CO	acetone
MeOH	methanol
HCl	Hydrochloric acid
H_2SO_4	Sulphuric acid
NH_4OH	Ammonium hydroxide
ED ₅₀	A concentration of a compound which show 50 % killing effect on cell when compared to that of a control
IC ₅₀	50% inhibitory concentration

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวเกศแก้ว บุตรวงศ์
วันเดือนปีเกิด	28 พฤศจิกายน 2512
สถานที่เกิด	อำเภอ ด่านซ้าย จังหวัดเลย
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	82 หมู่ 2 ต.หนองบัว อ.เมือง จ.อุดรธานี
ตำแหน่งหน้าที่การงานในปัจจุบัน	อาจารย์ 1 ระดับ 4 โรงเรียนถ่อนวิทยา
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนถ่อนวิทยา อำเภอท่าบ่อ จังหวัดหนองคาย 43110

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2528	มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนสตรีราชินูทิศ จังหวัดอุดรธานี
พ.ศ. 2531	มัธยมศึกษาปีที่ 6 (แผนกวิทยาศาสตร์) โรงเรียนสตรีราชินูทิศ จังหวัดอุดรธานี
พ.ศ. 2536	คบ.(ครุศาสตร์บัณฑิต) (วิทยาศาสตร์ทั่วไป) วิทยาลัยครู อุดรธานี
พ.ศ. 2545	วท.ม.(เคมีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร