

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ
ของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่

นางสาวลดาวัลย์ ชีรสุขพิมล 5436568033

นางสาวพิชชาทร เอกอนันท์กุล 5436556433

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โครงการปริญญาโทนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต
สาขาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Chemical constituents and bioactivities of *Paphiopedilum exul*

Miss Ladawan Teerasukpimol 5436568033

Miss Pattatorn Aekantakul 5436556433



A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Bachelor of Science Degree in Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

2015

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงการปริญญาโท	องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ รองเท้านารีเหลืองกระบี่
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวดาววัลย์ ชีรสุขพิมล นางสาวพัทธพร เอกอนันท์กุล
สาขาวิชา/ภาควิชา	การค้นพบและพัฒนาายา/เภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท	รศ. ภก. ดร. รุทธ์ สุทธิศรี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ. ร.ต.อ.หญิง ภญ. ดร. สุชาดา สุขหรั่ง

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาโทฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

.....คณบดี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. รุ่งเพชร สกุลบำรุงศิลป์)

.....ประธานสาขาการค้นพบและพัฒนาายา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร สุรพงษ์ เก็งทอง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร. รุทธ์ สุทธิศรี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ร.ต.อ.หญิง เภสัชกรหญิง ดร. สุชาดา สุขหรั่ง)

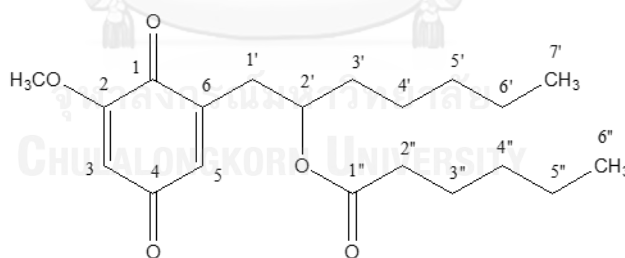
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทคัดย่อปริญญาานิพนธ์

ชื่อโครงการ	: องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่	
หัวหน้าโครงการ	: นางสาวดาวัลย์ อีรสุมพิมล	5436568033
ผู้ร่วมโครงการ	: นางสาวพัทธาทิ เอกอนันท์กุล	5436556433
อาจารย์ที่ปรึกษา	: รศ. ภก. ดร.รุทธิ สุทธิศรี, รศ. ร.ต.อ.หญิง ภญ. ดร.สุชาดา สุขหรั่ง	
สาขา/ภาควิชา	: การค้นพบและพัฒนา ยา/เภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์	

ในประเทศไทยเราสามารถพบกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* ได้หลายชนิด แต่ยังมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้สกุลนี้น้อยมาก โดยในปี พ.ศ. 2557 ได้มีการศึกษาพบสารกลุ่มสติลบิน (stilbenes) และ กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หลายชนิดในรากของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองตรัง (*Paphiopedilum godefroyae*) ซึ่งบางชนิดมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะทำการศึกษาร่องเท้าของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่อีกชนิดหนึ่งคือ รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*P. exul*) ซึ่งเป็นพืชที่ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน โดยทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดด้วยเมทานอลด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี สามารถแยกสารได้ 7 ชนิด ได้แก่ สารกลุ่มควิโนน 1 ชนิด คือ exulquinone ซึ่งพบว่าเป็นสารธรรมชาติชนิดใหม่ สารกลุ่มสติลบิน 2 ชนิด คือ 5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene และ 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ 1 ชนิด คือ isokaempferide สารผสมของไฟโตสเตอรอล 2 ชนิด คือ β -sitosterol และ stigmasterol (อัตราส่วน 1:2) และ สารผสมของกรดไขมัน



exulquinone

คณะเภสัชศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

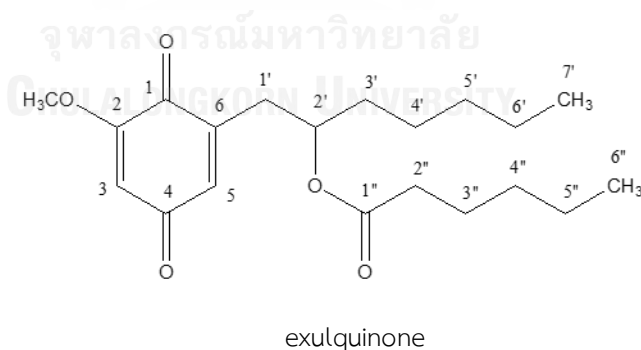
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Abstract

Senior project title : Chemical constituents and bioactivities of *Paphiopedilum exul*
Student's name : Miss Ladawan Teerasukpimol 5436568033
 : Miss Pattatorn Aekanantakul 5436556433
Advisor/Co-advisor : Assoc. Prof. Rutt Suttisri Ph.D./ Assoc. Prof. Suchada Sukrong Ph.D.
Field/Department : Drug Discovery and Development/
 Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

In Thailand, there are several species of *Paphiopedilum*, a genus of lady's slipper orchids. However, very few studies on the chemical constituents and bioactivities of these orchids have been performed. Previously in 2014, a research on *Paphiopedilum godefroyae* roots reported the presence of several stilbenes and flavonoids, some of which exhibited cytotoxicity to cancer cell lines. Therefore, our group has selected another previously uninvestigated *Paphiopedilum* orchid, *P. exul*, to study the constituents of its leaves and their bioactivities. Column chromatography of the methanol extract from the leaves of this orchid yielded seven compounds i.e. a new benzoquinone named exulquinone, two stilbenes (5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene and 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene), a flavonoid (isokaempferide), a 1:2 phytosterol mixture of β -sitosterol and stigmasterol and a mixture of fatty acids.



Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University

Student's signature
Advisor's signature

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

คำนำ

โครงการปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อันมีวัตถุประสงค์ให้นิสิตเภสัชศาสตร์ได้นำความรู้ที่ได้รับจากการเรียนการสอนตามหลักสูตรมาประยุกต์ใช้ในการทำงานวิจัย ฝึกฝนกระบวนการคิดวิเคราะห์และแก้ปัญหาได้อย่างเป็นระบบ มีการพัฒนาทักษะเฉพาะทาง สามารถวางแผนการดำเนินงาน และมีการสร้างสรรค์งานทางด้านเภสัชศาสตร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

รายงานโครงการปริญญานิพนธ์นี้จัดทำขึ้นเพื่อนำเสนอผลการวิจัยในหัวข้อเรื่อง องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่ โดยเนื้อหาของรายงานโครงการปริญญานิพนธ์นี้ประกอบด้วยรายละเอียดเกี่ยวกับขั้นตอนและกระบวนการทำวิจัย ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ รวมถึงเนื้อหาเกี่ยวกับสารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเทคนิคที่ใช้ในการทำวิจัย พร้อมทั้งรายละเอียดเรื่องผลการวิจัย การวิเคราะห์ การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

คณะผู้จัดทำได้รวบรวมรายละเอียดต่างๆ ของโครงการปริญญานิพนธ์นี้ขึ้นเป็นรายงานอย่างตั้งใจ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจกล้วยไม้รองเท้านารี อันเป็นพืชไม้ประดับที่อาจมีคุณประโยชน์ทางยา และหากมีข้อบกพร่องประการใด ทางคณะผู้จัดทำใคร่ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

คณะผู้จัดทำ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทนี้ คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ. ภก. ดร. รุทธ์ สุทธิศรี อาจารย์ที่ปรึกษา และ รศ. ร.ต.อ.หญิง ภญ. ดร. สุชาดา สุขห่อง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณ นายนทเลิศ เลิศนิติกุล นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ สำหรับความช่วยเหลือในการจัดหาถ้วยไม้รองเท้าหนี้อะไหล่ประจำปีที่คุณผู้วิจัยนำมาศึกษาวิจัย และ ภญ. นภัสวรรณ ภูริจารุโรจน์ นิสิตปริญญาโท ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ สำหรับความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ NMR spectrometry สำหรับวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่สกัดแยกได้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ สำหรับความช่วยเหลือและการอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาวิจัยจนกระทั่งโครงการปริญญาโทนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
คำนำ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 วิธีการดำเนินงานโดยย่อ.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
2. ปรัชศน์วรรณกรรม.....	4
2.1 กล้วยไม้.....	4
2.2 กล้วยไม้รองเท้านารี (Lady's slipper orchids).....	4
2.3 กล้วยไม้รองเท้านารีในประเทศไทย.....	7
3. วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	15
3.1 พิษสมุนไพรร สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ.....	15
3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบเพื่อใช้ในการสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมี.....	17
3.3 การสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่.....	17
4. ผลการวิจัย.....	23
4.1 โครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดแยกได้จากใบของรองเท้านารีเหลืองกระบี่.....	23
5. อภิปรายและสรุปผลการวิจัย.....	33
รายการอ้างอิง.....	34
ภาคผนวก.....	36

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดง fractions ที่แยกได้จากสารสกัดหยาบ.....	17
ตารางที่ 2 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2.....	18
ตารางที่ 3 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-22.....	18
ตารางที่ 4 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-222.....	19
ตารางที่ 5 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2221.....	19
ตารางที่ 6 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2222.....	20
ตารางที่ 7 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-23.....	20
ตารางที่ 8 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-232.....	21
ตารางที่ 9 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-5.....	21
ตารางที่ 10 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-6.....	22
ตารางที่ 11 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-62.....	22
ตารางที่ 12 แสดงข้อมูล ¹ H NMR (300MHz) และ ¹³ C NMR (75MHz) ของสาร Exulquinone (P-1) และ สาร Cornudentanone ใน CDCl ₃	24
ตารางที่ 13 แสดงข้อมูล ¹ H NMR (300MHz) และ ¹³ C NMR (75MHz) ของสาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>cis</i> -stilbene (P-2) และ สาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>trans</i> -stilbene (P-3) ใน CDCl ₃	28
ตารางที่ 14 แสดงข้อมูล ¹ H NMR (300MHz) และ ¹³ C NMR (75MHz) ของสาร Isokaempferide (P-4) ใน DMSO	30
ตารางที่ 15 แสดงข้อมูล ¹ H NMR (300MHz) และ ¹³ C NMR (75MHz) ของสารผสม Stigmasterol (P-5) และ β-sitosterol (P-6) ใน CDCl ₃	31

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 <i>Cypripedium reginae</i>	5
รูปที่ 2 <i>Cypripedium calceolus</i>	5
รูปที่ 3 <i>Mexipedium xerophyticum</i>	5
รูปที่ 4 <i>Phragmipedium warscewiczianum</i>	6
รูปที่ 5 <i>Selenipedium silvestre</i>	6
รูปที่ 6 <i>Paphiopedilum hookerii</i>	7
รูปที่ 7 <i>Paphiopedilum niveum</i>	7
รูปที่ 8 รองเท้านารีเหลืองปราจีน (<i>Paphiopedilum concolor</i>).....	8
รูปที่ 9 รองเท้านารีเหลืองตรัง (<i>Paphiopedilum godefroyae</i>).....	8
รูปที่ 10 รองเท้านารีขาวสตูล (<i>Paphiopedilum niveum</i>).....	8
รูปที่ 11 รองเท้านารีฝ้ายหอม (<i>Paphiopedilum bellatulum</i>).....	9
รูปที่ 12 รองเท้านารีขาวพังงา (<i>Paphiopedilum thaianum</i>).....	9
รูปที่ 13 รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (<i>Paphiopedilum parishii</i>).....	9
รูปที่ 14 รองเท้านารีเชียงดาว (<i>Paphiopedilum dianthum</i>).....	10
รูปที่ 15 รองเท้านารีอินชิกเน่ (<i>Paphiopedilum insigne</i>).....	10
รูปที่ 16 รองเท้านารีอินทนนท์ (<i>Paphiopedilum villosum</i>).....	10
รูปที่ 17 รองเท้านารีดอยตุง (<i>Paphiopedilum charlesworthii</i>).....	11
รูปที่ 18 รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (<i>Paphiopedilum vejvarutianum</i>).....	11
รูปที่ 19 รองเท้านารีเหลืองเลย (<i>Paphiopedilum hirsutissimum</i>)	11
รูปที่ 20 รองเท้านารีคางกบคอแดง (<i>Paphiopedilum appletonianum</i>).....	12
รูปที่ 21 รองเท้านารีคางกบ (<i>Paphiopedilum callosum</i>).....	12

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รูปที่ 22 รongเท้านารีเกาะช้าง (<i>Paphiopedilum x siamensis</i>).....	12
รูปที่ 23 รongเท้านารีปีกแมลงปอ (<i>Paphiopedilum sukhakulii</i>)	13
รูปที่ 24 รongเท้านารีเหลืองกระบี่ (<i>Paphiopedilum exul</i>).....	14
รูป A1 แผนภาพแสดงการแยกสารด้วยวิธี column chromatography.....	37
รูป A2 แสดง ¹ H-NMR spectrum ของสาร Exulquinone (P-1).....	38
รูป A3 แสดง ¹³ C-NMR spectrum ของสาร Exulquinone (P-1).....	39
รูป A4 แสดง COSY spectrum ของสาร Exulquinone (P-1).....	40
รูป A5 แสดง HSQC spectrum ของสาร Exulquinone (P-1).....	41
รูป A6 แสดง HMBC spectrum ของสาร Exulquinone (P-1).....	42
รูป A7 แสดง ¹ H-NMR spectrum ของสาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>cis</i> -stilbene (P-2).....	43
รูป A8 แสดง ¹³ C-NMR spectrum ของสาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>cis</i> -stilbene (P-2).....	44
รูป A9 แสดง ¹ H-NMR spectrum ของสาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>trans</i> -stilbene (P-3).....	45
รูป A10 แสดง ¹³ C-NMR spectrum ของสาร 5-Hydroxy-3-methoxy- <i>trans</i> -stilbene (P-3).....	46
รูป A11 แสดง ¹ H-NMR spectrum ของสาร Isokaempferide (P-4).....	47
รูป A12 แสดง ¹³ C-NMR spectrum ของสาร Isokaempferide (P-4).....	48
รูป A13 แสดง ¹ H-NMR spectrum ของสาร Stigmasterol (P-5) และ β -Sitosterol (P-6).....	49
รูป A14 แสดง ¹³ C-NMR spectrum ของสาร Stigmasterol (P-5) และ β -Sitosterol (P-6).....	50

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

กล้วยไม้จัดเป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นพืชดอกที่มีความหลากหลายมากเป็นอันดับ 2 ของโลก ข้อมูลในอดีตชี้ให้เห็นว่าจีนเป็นประเทศแรกที่มีการนำกล้วยไม้มาใช้ประโยชน์ทางการรักษา นอกจากนี้ ในตำรายาแผนโบราณของประเทศอินเดียก็ได้มีการนำกล้วยไม้มาใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านการบำบัดรักษาโรค และเป็นยากระตุ้นกำหนด¹ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบจากกล้วยไม้มาแล้วไม่ต่ำกว่า 20 ปี โดยส่วนมากจะพบองค์ประกอบเคมีของกล้วยไม้เป็นสารในกลุ่ม alkaloids, bibenzyls, flavonoids, phenanthrenes และ terpenoids ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ต้านชัก และฤทธิ์อื่นๆที่น่าสนใจอีกมากมาย²

ในด้านฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่าสารสกัดจากกล้วยไม้มีฤทธิ์ต่างๆที่มีประโยชน์ทางการรักษา เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (anticancer/antitumor) พบว่าสารสกัดจากกล้วยไม้สกุลว่านงศ์ (Anoectochilus) ชนิดหนึ่ง คือ *A. formosanus* มีฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) นอกจากนี้ ยังพบว่ากล้วยไม้หลายชนิดในสกุลหวายหรือเอื้อง (*Dendrobium*) มีองค์ประกอบเคมีหลายชนิดซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งด้วยกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป ในด้านฤทธิ์ต้านอักเสบ (anti-inflammatory) พบว่าสารสกัดจากเหง้าของกล้วยไม้สกุลเอื้องกลีบติด (*Gastrodia*) ได้แก่ *G. elata* มีฤทธิ์ต้านอักเสบ โดยสารที่มีฤทธิ์มากที่สุด คือ 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde นอกจากนี้ งานวิจัยเกี่ยวกับกล้วยไม้ในสกุลเอื้องลำต่อ (*Pholidota*) ชนิดหนึ่ง คือ *P. chinensis* ยังพบสาร pholidotols A และ B ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอักเสบได้เช่นกัน สำหรับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ก็ได้มีการศึกษากันอยู่มากพอสมควร เช่น พบว่ามีสารสำคัญหลายชนิดใน *G. elata* ที่สามารถใช้ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สาร vanillin, hydroxybenzaldehyde, vanillyl alcohol และ hydroxybenzyl alcohol โดยที่สารแต่ละชนิดมีความแรงในการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป นอกจากนี้ ยังได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัส (antiviral) ของสารสกัดจากกล้วยไม้ *Cymbidium hybrid*, *Epipactis helleborine* และ *Listera ovata* พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) และ type 2 (HIV-2) และยังมีฤทธิ์ต้าน cytomegalovirus (CMV), respiratory syncytial virus (RSV) และ influenza A virus อีกด้วย²

ถึงแม้ว่าในประเทศไทยจะนิยมใช้กล้วยไม้สำหรับประดับตกแต่งเพื่อให้เกิดความสวยงาม แต่ก็ได้มีการนำกล้วยไม้บางชนิดที่พบได้ในประเทศไทยมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น นำต้นกล้วยไม้สิงโตโคมไฟ

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

(*Bulbophyllum odoratissimum*) ทำเป็นยาขงสำหรับบำบัดวัณโรค และต้านอักเสบ หรือใช้กล้วยไม้สกุล กะเรกะร่อน (*Cymbidium*) ได้แก่ *C. goeringii* โดยนำทั้งต้นทำเป็นยาต้มหรือยาขงสำหรับ ขับปัสสาวะและลดความดันโลหิต²

สำหรับกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* พบว่ามีงานวิจัยที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2557 โดยคณะผู้วิจัยจากคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัยได้ศึกษาวิจัยรองเท้านารีเหลืองตรัง (*P. godefroyae*) พบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และกลุ่มสติลบิน (stilbenes) โดยพบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อ small cell lung cancer (NCI-H187) ของสาร หลายชนิดในกลุ่มสติลบิน โดยสารที่มีฤทธิ์ดีที่สุดมีลักษณะโครงสร้างแบบ 2-phenylbenzofuran³

กล้วยไม้รองเท้านารีอีกชนิดหนึ่งในสกุล *Paphiopedilum* ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษาองค์ประกอบ ทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพมาก่อน คือ รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*P. exul*) ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะนำ กล้วยไม้รองเท้านารีชนิดนี้มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาใช้ ประโยชน์ทางยาต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากรองเท้านารีเหลืองกระบี่ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี
2. เพื่อศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้

1.3 วิธีการดำเนินงานโดยย่อ

1. จัดซื้อกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่จากตลาดต้นไม้จตุจักร
2. แยกส่วนรากและใบของรองเท้านารีเหลืองกระบี่ออกจากกัน นำส่วนใบมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบแห้งก่อนแช่สกัดด้วย methanol แล้วจึงกรองและนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วย เครื่อง rotary evaporator ได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract)
3. นำสารสกัดหยาบมาเติมน้ำแล้ว partition ด้วย ethyl acetate นำสารสกัดชั้น ethyl acetate มาสกัด แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีจนได้สารบริสุทธิ์
4. ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้
5. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพสารบริสุทธิ์ที่ทราบสูตรโครงสร้าง โดยส่งทดสอบที่ห้องปฏิบัติการตรวจหาสาร ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบในใบของรองเท้านารีเหลืองกระบี่
2. ผลการศึกษาวิจัยที่ได้ สามารถใช้เป็นความรู้พื้นฐานสำหรับการศึกษากัญยไม้รองเท้านารีที่พบในประเทศไทย และอาจพบสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางการรักษาที่น่าสนใจและสามารถพัฒนาเป็นยาต่อไปในอนาคตได้ในอนาคต



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรม

2.1 กล้วยไม้

กล้วยไม้จัดเป็นพืชมีดอกในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่มีความหลากหลายมากเป็นอันดับ 2 ของโลก ประกอบด้วยพืชชนิดต่างๆ มากกว่า 25,000 ชนิดจาก 750 – 800 สกุล¹ โดยสามารถแบ่งได้เป็น 5 วงศ์ย่อย ได้แก่ Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae และ Epidendroideae⁴ หากจำแนกตามสภาพที่อยู่อาศัยและการดำรงชีวิตของกล้วยไม้ แบ่งได้เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยประมาณ 70% กล้วยไม้ดินประมาณ 20% กล้วยไม้ที่ขึ้นตามหินประมาณ 3% และกล้วยไม้กินซากประมาณ 1% พบว่ากล้วยไม้อิงอาศัยจะขึ้นกระจายพันธุ์อยู่มากในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณเขตร้อนของทวีปเอเชีย อเมริกาใต้ และแอฟริกา ซึ่งถือเป็นแหล่งกล้วยไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์และหลากหลายที่สุด ในประเทศไทยพบกล้วยไม้ชนิดต่างๆ มากถึง 1,157 ชนิดจาก 176 สกุล⁵

2.2 กล้วยไม้รองเท้านารี (Lady's slipper orchids)

รองเท้านารีเป็นกล้วยไม้ในวงศ์ย่อย Cyripedioideae ซึ่งแบ่งได้เป็น 5 สกุล ได้แก่ สกุล *Cyripedium*, *Mexipedium*, *Paphiopedilum*, *Phragmipedium* และ *Selenipedium*⁶ โดยทั่วไปรองเท้านารีมีลักษณะเป็นกล้วยไม้ดินหรือกล้วยไม้อิงอาศัย เจริญทางด้านข้าง ไม่มีลำลูกกล้วย (pseudobulb) ลำต้นขนาดเล็ก ปกคลุมด้วยกาบใบ ใบมีจำนวนมาก เรียงสลับ แผ่นใบอาจมีลายคล้ายหินอ่อน ใบอ่อนพับตามแนวยาว มีอายุหลายฤดูก่อนหลุดร่วงที่ข้อต่อ ดอกเป็นเดี่ยวหรือดอกช่อออกที่ยอด ใบประดับไม่หลุดร่วง ก้านช่อ ก้านดอก และรังไข่มีขนปกคลุม กลีบเลี้ยงคู่ข้างเชื่อมเป็นกลีบเดียวกัน กลีบดอกแยกเป็นอิสระ กลีบปาก (labellum) เป็นตุ่มคล้ายรองเท้านารี ไม่มีฝาครอบกลุ่มเรณู แต่มีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมันมีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายโล่ ด้านข้างมีอับเรณู 2 อัน⁷

2.2.1 *Cyripedium*⁸

มีใบลักษณะเป็นแบบพับจีบ (plicate) การเรียงของกลีบเลี้ยงเป็นแบบ perforate ภายในรังไข่ของเกสรตัวเมียมีช่องเดียว (unilocular) มีออวูล (ovule) เรียงตัวติดกับผนังรังไข่ที่ด้านข้างตามแนวตะเข็บ (parietal placentation) ส่วนมากจะพบการกระจายพันธุ์ของรองเท้านารีสกุลนี้ในแถบซีกโลกเหนือ บริเวณทวีปอเมริกาเหนือ จนถึงยุโรปและเขตอบอุ่นแถบเอเชีย ตัวอย่างพืช เช่น *Cyripedium reginae* (รูปที่ 1), *C. calceolus* (รูปที่ 2)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รูปที่ 1 *Cypripedium reginae*รูปที่ 2 *Cypripedium calceolus*

2.2.2 *Mexipedium*⁸

มีการเรียงของกลีบเลี้ยงลักษณะแบบ valvate เกสรตัวเมียมีรังไข่ที่ภายในมีช่องเดียว(unilocular) มีการติดของอวุลกับผนังรังไข่ที่ด้านข้างตามแนวตะเข็บ (parietal placentation) สามารถพบการกระจายพันธุ์ของรองเท้านารีสกุลนี้ได้เฉพาะทางตอนใต้ของประเทศเม็กซิโกเท่านั้น ตัวอย่างพืช เช่น *Mexipedium xerophyticum* (รูปที่ 3)

รูปที่ 3 *Mexipedium xerophyticum*

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

2.2.3 *Phragmipedium*⁸

มีใบลักษณะเรียงพับซ้อนกัน (conduplicate) กลีบเลี้ยงเรียงเป็นแบบ valvate ภายในรังไข่ของเกสรตัวเมียมี 3 ช่อง (trilocular) โดยมีการติดของออวุลบนแกนกลางของรังไข่ที่มีผนังกัน (axile placentation) สามารถพบการกระจายพันธุ์ของสกุลนี้ได้ ในบริเวณเขตร้อนชื้นของทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้ ตัวอย่างพืช เช่น *Phragmipedium warscewiczianum* (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 *Phragmipedium warscewiczianum*

2.2.4 *Selenipedium*⁸

ลักษณะของใบเป็นแบบพับจีบ (plicate) การเรียงของกลีบเลี้ยงเป็นแบบ perforate ภายในรังไข่มีผนังกันแบ่งเป็น 3 ช่อง (trilocular) โดยออวุลติดบนแกนกลาง (axile placentation) สามารถพบการกระจายพันธุ์ของรองเท้านารีสกุลนี้ได้ ในบริเวณเขตร้อนชื้นของทวีปอเมริกาใต้ ตัวอย่างพืช เช่น *Selenipedium silvestre* (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 *Selenipedium silvestre*

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

2.2.5 *Paphiopedilum*⁸

เป็นสกุลที่ใหญ่ที่สุดใน 5 สกุลของวงศ์ย่อย Cyripedioideae ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 72 ชนิด มีทั้งที่เป็นกล้วยไม้ดิน กล้วยไม้อิงอาศัย และกล้วยไม้อาศัยบนหิน โดยส่วนมากจะมีเหง้าขนาดสั้น ใบเป็นลักษณะเรียงพับซ้อนกัน (conduplicate) กลีบเลี้ยงเรียงแบบ imbricate ภายในรังไข่มีช่องเดียว (unilocular) โดยมีออวุลติดกับผนังรังไข่ที่ด้านข้างตามแนวตะเข็บ (parietal placentation) มีถิ่นกระจายพันธุ์ในบริเวณเขตร้อนชื้นของทวีปเอเชีย ตัวอย่างพืช เช่น *Paphiopedilum hookerii* (รูปที่ 6), *P. niveum* (รองเท้านารีขาวสตูล, รูปที่ 7)



รูปที่ 6 *Paphiopedilum hookerii*



รูปที่ 7 *Paphiopedilum niveum*

2.3 กล้วยไม้รองเท้านารีในประเทศไทย

ในประเทศไทยพบกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) ประมาณ 17 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*P. concolor*), รองเท้านารีเหลืองตรัง (*P. godefroyae*), รองเท้านารีขาวสตูล (*P. niveum*), รองเท้านารีฝ้ายหอย (*P. bellatulum*), รองเท้านารีขาวพังงา (*P. thaianum*), รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (*P. parishii*), รองเท้านารีเชียงดาว (*P. dianthum*), รองเท้านารีอินชิกเน่ (*P. insigne*), รองเท้านารีอินทนนท์ (*P. villosum*), รองเท้านารีดอยตุง (*P. charlesworthii*), รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์ (*P. vejvarutianum*), รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*P. exul*), รองเท้านารีเหลืองเลย (*P. hirsutissimum*), รองเท้านารีคางคกคอดแดง (*P. appletonianum*), รองเท้านารีคางคก (*P. callosum*), รองเท้านารีเกาะช้าง (*P. siamensis*) และรองเท้านารีปึกแมลงปอ (*P. sukakulii*) ซึ่งทุกชนิดถูกประกาศให้เป็นพืชอนุรักษ์ในบัญชีที่ 1 ของ CITES⁹

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

1. รองเท้านารีเหลืองปราจีน^{10, 11}



รูปที่ 8 *Paphiopedilum concolor*

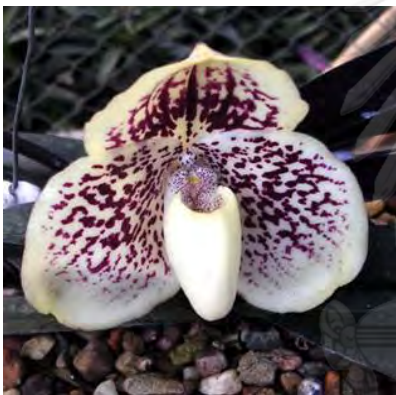
ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum concolor (Lindl. ex Bateman) Pfitzer

แหล่งที่พบ :

มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณอำเภอรัฐประเศ จังหวัดปราจีนบุรี

2. รองเท้านารีเหลืองตรัง^{10, 11}



รูปที่ 9 *Paphiopedilum godefroyae*

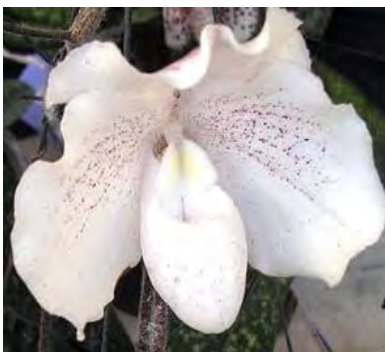
ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum godefroyae (God.-Leb.) Stein

ชื่ออื่น : เอื้องฝาหอย

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณเกาะรัง จังหวัดชุมพร

3. รองเท้านารีขาวสตูล^{10, 11}



รูปที่ 10 *Paphiopedilum niveum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum niveum (Rchb. f.) Stein

ชื่ออื่น : รองเท้านารีกระบี่, รองเท้านารีช่องอ่างทอง,
รองเท้านารีดอกขาว

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่ตามเกาะแถบภาคใต้ของ
ประเทศไทย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4. รองเท้านารีฝาหอย^{10, 11}รูปที่ 11 *Paphiopedilum bellatulum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum bellatulum (Rchb. f.) Stein

ชื่ออื่น : เอื้องอั้ง

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่ตามหุบเขาในเขตพม่าต่อชายแดนไทย ตอนเหนือพบบริเวณจังหวัดลำพูน และเขตอำเภอเชียงดาว ภาคใต้พบบริเวณหมู่เกาะอ่างทอง และเกาะช้างในจังหวัดพังงา

5. รองเท้านารีขาวพังงา^{10, 13}รูปที่ 12 *Paphiopedilum thaianum*ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Paphiopedilum thaianum* lamwir.

ชื่ออื่น : รองเท้านารีศรีเมืองไทย

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่จังหวัดพังงา

6. รองเท้านารีเมืองกาญจน์^{10, 11}รูปที่ 13 *Paphiopedilum parishii*

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum parishii (Rchb. f.) Stein

ชื่ออื่น : รองเท้านารีหนวดพราหมณ์

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณจังหวัดกาญจนบุรีและกำแพงเพชร

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

7. รองเท้านารีเซียงดาว^{11, 12}รูปที่ 14 *Paphiopedilum dianthum*ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Paphiopedilum dianthum*แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่บนดอยเซียงดาว จังหวัด
เชียงใหม่8. รองเท้านารีอินชิกเน¹²รูปที่ 15 *Paphiopedilum insigne*

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum insigne (Wallich ex Lindley) Pfitzer9. รองเท้านารีอินทนนท์^{10, 11}รูปที่ 16 *Paphiopedilum villosum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum villosum (Lindl.) Stein

ชื่ออื่น : เอื้องไขไก่, เอื้องคางกบ, เอื้องแมงกู่, เอื้องอินทนนท์

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณภูเขาสูงที่มีอากาศชื้น
และอุณหภูมิต่ำ เช่น ดอยอินทนนท์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

10. รองเท้านารีดอยตุง¹⁰⁻¹²

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum charlesworthii (Rolfe) Pfitzer

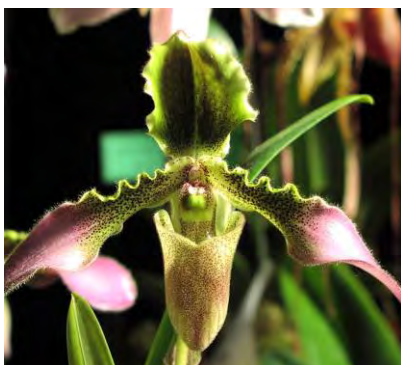
ชื่ออื่น : รองเท้านางงาม

แหล่งที่พบ : พบขึ้นบนเขาหินปูน เขตพม่าต่อชายแดน
ไทยทางภาคเหนือที่ระดับความสูง 1,200-1,700 เมตรรูปที่ 17 *Paphiopedilum charlesworthii*11. รองเท้านารีดอยตุงกาญจน์^{10, 14}

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum vejvarutianum O. Gruss & Roellke

ชื่ออื่น : รองเท้านารีเวศย์วรุฒม์

แหล่งที่พบ : พบบริเวณเขื่อนวชิราลงกรณ์ (เขื่อนเขาแหลม)
จังหวัดกาญจนบุรีรูปที่ 18 *Paphiopedilum vejvarutianum*12. รองเท้านารีเหลืองเลย¹⁰

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum hirsutissimum (Lindl. ex Hook.) Stein

ชื่ออื่น : รองเท้านารีคอกขาว

แหล่งที่พบ : พบในป่าดิบเขาทางภาคเหนือ และภาค
ตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ระดับความสูง 1,200-1,800 เมตรรูปที่ 19 *Paphiopedilum hirsutissimum*

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

13. รองเท้านารีคางคกแดง^{10, 12}

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum appletonianum (Gower) Rolfeรูปที่ 20 *Paphiopedilum appletonianum*14. รองเท้านารีคางคก^{10,11}

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum callosum (Rchb. f.) Stein

ชื่ออื่น : แมงกู่, รองเท้านาง, เอื้องคางคก, เอื้องคางคก

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณภาคเหนือและภาคใต้ เช่น ดอยสุเทพ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน และเกาะต่างๆบริเวณอ่าวไทย

รูปที่ 21 *Paphiopedilum callosum*15. รองเท้านารีเกาะช้าง¹⁵

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum x siamensis (Rolfe) Rolfeรูปที่ 22 *Paphiopedilum x siamensis*

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

16. รองเท้านารีปีกแมลงปอ¹⁰⁻¹²

ชื่อวิทยาศาสตร์ :

Paphiopedilum sukhakulii Schoser & Senghas

ชื่ออื่น : รองเท้านารีสุชะกุล

แหล่งที่พบ : มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบจังหวัดเลย บนยอดภูหลวง

รูปที่ 23 *Paphiopedilum sukhakulii*



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

17. รองเท้านารีเหลืองกระบี่^{10, 13} (กล้วยไม้ที่นำมาใช้ในงานวิจัย)



รูปที่ 24 *Paphiopedilum exul*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Paphiopedilum exul* (Ridl.) Rolfe

ชื่อพ้อง : *Cordula exul* [Ridl.] Rolfe
Cypripedium insigne Wall. ex Lindl. var. *exul* Ridl.
Cypripedium exul [Ridl.] Rolfe
Cypripedium exul (Ridl.) Rolfe var. *aureum* Rolfe

ลักษณะทั่วไป : เป็นกล้วยไม้ดินที่มีลำต้นสั้นและแตกกอ ใบรูปขอบขนาน กว้าง 1.8-3 ซม. ยาว 25-30 ซม. ดอกเดี่ยว ก้านดอกยาว 15-20 ซม. มีขนสั้นนุ่ม ดอกบานเต็มที่กว้าง 6 ซม. กลีบบนแผ่กว้าง ขอบกลีบสีขาว ตอนบนหยักเว้าเป็นติ่งแหลม กลางกลีบเป็นแถบสีเขียว และมีประสีม่วงแดงเข้ม กลีบเลี้ยงล่างสีเขียวอมขาว กลีบดอกสีน้ำตาลเหลือง ขอบกลีบบิดเป็นคลื่น โคนกลีบมีประสีม่วงแดง กลีบกระเปาะสีน้ำตาลอมเหลือง

การกระจายพันธุ์ : เป็นพืชถิ่นเดียวที่พบขึ้นตามซอกหินหรือหน้าผา ใกล้ชายฝั่งทะเลทางภาคใต้ตอนล่าง
 แหล่งที่พบ : พบบริเวณเกาะตาปูน ทางด้านตะวันออกของอ่าวจังหวัดภูเก็ตและกระบี่

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
 เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
 are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชสมุนไพร สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

พืชสมุนไพร

กล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum exul*) ซึ่งจากร้านค้าในตลาดต้นไม้จตุจักร เมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 พิสูจน์เอกลักษณ์พืชโดยเทียบรูปจากสำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พร้อมทั้งจัดทำตัวอย่างพืช (voucher specimen) ซึ่งได้นำไปเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์สมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี

- Hexane
- Dichloromethane
- Ethyl acetate
- Acetone
- Methanol
- Purified water
- Anisaldehyde spraying agent
- Deuterated chloroform (CDCl₃)
- Deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-d₆)

อุปกรณ์

- ขวดโหลสำหรับแช่พืชแห้ง
- บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- กระบอกตวง ขนาด 10, 25 และ 100 มิลลิลิตร
- Erlenmeyer flask ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- Flask ก้นกลม ขนาด 500 มิลลิลิตร
- หลอดทดลอง
- Separatory funnel
- Evaporating dish
- Spatula

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- Glass column
- แผ่น silica gel 60 F₂₅₄ thin layer chromatography (TLC) สำเร็จรูป
- TLC tank
- กระดาษกรอง
- ขวดแก้วสำหรับรับ fraction
- Capillary tube
- Eppendorf tube
- หลอดหยด (dropper)
- แท่งแก้วคน
- กรวยแก้ว
- จุกยาง
- คีมคีบ
- Aluminum foil
- สำลี
- Silica gel (40-60 mesh)
- Sephadex LH-20
- NMR tube

เครื่องมือ

- เครื่องกลั่นตัวทำละลาย
- water bath
- เครื่องชั่งตวงวัด 2 และ 4 ตำแหน่ง
- เครื่อง rotary evaporator
- ภาชนะดูดความชื้น (desiccator)
- เครื่องฉายแสง UV (254 และ 365 nm)
- NMR spectrometer (300 MHz)
- Hot plate
- Tray dryer
- กล้องถ่ายรูป

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบเพื่อใช้ในการสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมี

- นำใบรองเท้านารีเหลืองกระบี่ น้ำหนักสด 193 กรัม มาล้างให้สะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักแห้ง 28 กรัม

- นำใบรองเท้านารีเหลืองกระบี่แห้งมาสกัดด้วยวิธีการแช่ขุ่น (maceration) โดยเติมเมทานอล (ปริมาตร 1 ลิตร) ให้ท่วมพืช ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน และคนให้เกิดการหมุนเวียนของตัวทำละลายเป็นระยะๆ

- กรองสิ่งสกัดที่ได้ผ่านสำลีที่บรรจุในกรวยกรอง แล้วนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นทำการแช่ขุ่นซ้ำอีก 4 ครั้ง แล้วรวมสิ่งสกัดที่ได้จากทั้ง 5 ครั้งเข้าด้วยกันเป็นสารสกัดหยาบ

- นำสารสกัดหยาบมาละลายด้วย aqueous methanol แล้วทำ partition กับ ethyl acetate ใน separatory funnel

- นำสารสกัดชั้น ethyl acetate ไประเหยแห้ง ได้น้ำหนักทั้งหมด 18.67 กรัม นำไปสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

3.3 การสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีของใบรองเท้านารีเหลืองกระบี่

การสกัดแยกสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate

นำสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate หนัก 18.67 กรัมมาแยกด้วยคอลัมน์ silica gel หนัก 400 กรัม (58 x 4.5 ซม.) เก็บ fraction ละ 50 มล. ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ dichloromethane เก็บ 40 fractions จากนั้นเปลี่ยนเป็นใช้ระบบตัวทำละลาย dichloromethane-ethyl acetate (9:1) เก็บอีก 67 fractions แล้วจึงเปลี่ยนระบบตัวทำละลายเป็น dichloromethane-ethyl acetate (4:1) เก็บ 70 fractions หลังจากตรวจสอบแต่ละ fraction ด้วย TLC จะสามารถรวม fraction ที่มีองค์ประกอบเดียวกันได้ 7 fractions ใหญ่ (PE-1 ถึง PE-7) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-8) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง fractions ที่แยกได้จากสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (กรัม)
PE-1	1-23	0.82
PE-2	24-43	0.52
PE-3	44-60	0.51
PE-4	61-68	0.27
PE-5	69-102	0.60

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (กรัม)
PE-6	103-123	0.21
PE-7	124-177	1.36
PE-8	ชะ MeOH	12.82

การสกัดแยก fraction PE-2

นำ fraction PE-2 น้ำหนัก 515 มก. มาแยกต่อด้วยวิธี gel filtration โดยใช้คอลัมน์ Sephadex LH-20 (55 x 3.5 ซม.) ชะด้วยระบบตัวทำละลาย dichloromethane-methanol (1:1) เก็บ fraction ละ 20 มล. ทั้งหมด 50 fractions ตรวจสอบด้วย TLC ก่อนจะรวมกันเป็น 3 fractions ใหญ่ (PE-21 ถึง PE-23) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (กรัม)
PE-21	1-21	0.29
PE-22	22-40	0.27
PE-23	41-50	0.12

การสกัดแยก fraction PE-22

นำ fraction PE-22 น้ำหนัก 0.27 กรัมมาแยกต่อด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel 20 กรัม (20 x 1.5 ซม.) ใช้ dichloromethane เป็นตัวชะ เก็บ fraction ละ 3 มล. ทั้งสิ้น 21 fractions ตรวจสอบ TLC ก่อนจะรวมกันได้ 3 fractions ใหญ่ (PE-221 ถึง PE-223) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-224) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 3 เมื่อนำ fraction PE-223 มาระเหยแห้ง ได้สารผสมของ P-5 และ P-6 น้ำหนัก 50.5 มก.

ตารางที่ 3 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-22

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-221	1-4	9.7
PE-222	5-13	84.8
PE-223	14-21	50.5
PE-224	ชะ MeOH	2.3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การสกัดแยก fraction PE-222

นำ fraction PE-222 หนัก 84.8 มก. มาแยกต่อด้วยคอลัมน์ silica gel (8 กรัม, 9 x 1 ซม.) ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ hexane-acetone (4:1) เก็บ fraction ละ 1 มล. ทั้งหมด 12 fractions จากนั้นเพิ่มความเข้มข้นโดยเปลี่ยนเป็นระบบตัวทำละลาย hexane-acetone (3:2) เก็บ fraction อีก 10 fractions ตรวจสอบ TLC ของ fraction ที่เก็บทั้งหมดก่อนจะรวมกันได้ 2 fractions ใหญ่ (PE-2221 ถึง PE-2222) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-2223) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-222

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-2221	1-7	44.8
PE-2222	8-22	22.5
PE-2223	ชะ MeOH	10.4

การสกัดแยก fraction PE-2221

นำ fraction PE-2221 หนัก 44.8 มก. แยกต่อด้วยคอลัมน์ silica gel (10 กรัม, 10 x 1.5 ซม.) ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ dichloromethane-acetone (50:1) เก็บ fraction ละ 2 มล. ทั้งหมด 30 fractions ตรวจสอบ TLC ก่อนจะรวมกันได้ 3 fractions ใหญ่ (PE-22211 ถึง PE-22213) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-22214) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 5 เมื่อระเหยแห้ง fraction PE-22213 ได้สารผสมของ P-5 และ P-6 หนัก 6.1 มก.

ตารางที่ 5 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2221

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-22211	1-11	14.8
PE-22212	12-17	9.7
PE-22213	18-30	6.1
PE-22214	ชะ MeOH	14.2

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การสกัดแยก fraction PE-2222

นำ fraction PE-2222 หนัก 22.5 มก. มาแยกต่อด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel 20 กรัม (11 x 2 ซม.) ใช้ hexane-acetone (4:1) เป็นระบบตัวทำละลายสำหรับชะ เก็บ fraction ละ 2 มล. ได้ทั้งสิ้น 22 fractions ตรวจสอบ TLC ก่อนจะรวมกันเป็น 3 fractions ใหญ่ (PE-22221 ถึง PE-22223) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-22224) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 6 เมื่อระเหยแห้ง fraction PE-22223 ได้สาร P-1 หนัก 5.5 มก.

ตารางที่ 6 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-2222

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-22221	1-7	6.3
PE-22222	8-15	2.3
PE-22223	16-22	5.5
PE-22224	ชะ MeOH	10.0

การสกัดแยก fraction PE-23

นำ fraction PE-23 หนัก 0.12 กรัม มาแยกต่อด้วยคอลัมน์ silica gel (10 กรัม, 11 x 1 ซม.) ใช้ dichloromethane เป็นตัวชะ เก็บ fraction ละ 5 มล. ทั้งหมด 7 fractions ก่อนเปลี่ยนตัวชะเป็นระบบตัวทำละลาย dichloromethane-acetone (9:1) เก็บอีก 6 fractions ตรวจสอบ TLC ก่อนจะรวมกันได้ 2 fractions ใหญ่ (PE-231 ถึง PE-232) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-233) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-23

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-231	1-7	2.4
PE-232	8-13	25.6
PE-233	ชะ MeOH	21.6

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การสกัดแยก fraction PE-232

นำ fraction PE-232 หนัก 25.6 มก. แยกต่อด้วยคอลัมน์ silica gel (20 กรัม, 11.5 x 2 ซม.) ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ hexane-ethyl acetate (4:1) เก็บ fraction ละ 1 มล. ทั้งหมด 73 fractions ตรวจสอบ TLC ก่อนจะรวมกันได้ 3 fractions ใหญ่ (PE-2321 ถึง PE-2323) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-2324) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 8 จากนั้นเมื่อระเหยแห้ง fractions PE-2321 และ PE-2323 ได้สาร P-2 หนัก 9.3 มก. และสาร P-3 หนัก 23.4 มก. ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-232

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-2321	1-58	9.3
PE-2322	59-65	1.2
PE-2323	66-73	23.4
PE-2324	ชะ MeOH	13.5

การสกัดแยก fraction PE-5

นำ fraction PE-5 หนัก 0.60 กรัม แยกต่อด้วยคอลัมน์ silica gel (30 กรัม, 16.5 x 2 ซม.) ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ dichloromethane-acetone (30:1) เก็บ fraction ละ 3 มล. ทั้งหมด 50 fractions จากนั้นเปลี่ยนระบบตัวทำละลายเป็น dichloromethane-acetone (10:1) เก็บอีก 33 fractions ตรวจสอบแต่ละ fraction ด้วย TLC จนสามารถรวม fraction ที่มีองค์ประกอบคล้ายกันได้ 5 fractions ใหญ่ (PE-51 ถึง PE-55) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-56) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 9 เมื่อระเหยแห้ง fraction PE-52 ได้สาร P-7 หนัก 77.0 มก.

ตารางที่ 9 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-5

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-51	1-18	25.5
PE-52	19-30	77.0
PE-53	31-50	116.6
PE-54	51-64	37.5
PE-55	65-83	58.5
PE-56	ชะ MeOH	149.9

บทคัดย่อและเต็มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

การสกัดแยก fraction PE-6

นำ fraction PE-6 หนัก 0.21 กรัม มาแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel 16 กรัม (15 x 1.5 ซม.) เป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ dichloromethane-acetone (20:1) เก็บ fraction ละ 2 มล. จำนวน 30 fractions จากนั้นเพิ่ม polarity ของระบบตัวทำละลายเป็น dichloromethane-acetone (5:1) อีก 14 fractions ตรวจสอบแต่ละ fraction ด้วย TLC แล้วรวม fraction ที่มีองค์ประกอบคล้ายกันเป็น 2 fractions ใหญ่ (PE-61 ถึง PE-62) แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล (PE-63) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-6

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-61	1-36	30.5
PE-62	37-44	154.4
PE-63	ชะ MeOH	24.7

การสกัดแยก fraction PE-62

นำ fraction PE-62 หนัก 0.15 กรัม แยกต่อด้วยวิธี gel filtration โดยใช้คอลัมน์ Sephadex LH-20 (55 x 3.5 ซม.) ชะด้วยระบบตัวทำละลาย dichloromethane-methanol (1:1) เก็บ fraction ละ 5 มล. จำนวน 51 fractions ตรวจสอบแต่ละ fraction ด้วย TLC แล้วรวม fraction ได้เป็น 3 fractions ใหญ่ (PE-621 ถึง PE-623) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 11 จากนั้นเมื่อระเหยแห้ง fraction PE-622 ได้สาร P-4 หนัก 5.7 มก.

ตารางที่ 11 แสดง fractions ที่แยกได้จาก PE-62

Fraction	จาก fraction ย่อย	น้ำหนัก (มก.)
PE-621	1-36	126.4
PE-622	37-41	5.7
PE-623	42-51	2.7

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

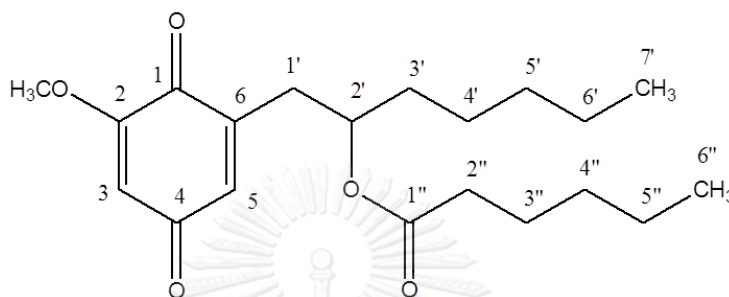
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 โครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดแยกได้จากใบของรองเท้านารีเหลืองกระบี่

4.1.1. สาร exulquinone (P-1)



สาร P-1 มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอมเหลือง ปริมาณทั้งหมดที่สกัดแยกได้ คือ 5.5 มก. (คิดเป็น yield = 0.02 % ของน้ำหนักพืชแห้ง) สารชนิดนี้จัดเป็นสารในกลุ่ม benzoquinone ซึ่งพิจารณาได้จากข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR (ตารางที่ 12) ซึ่งใน carbon spectrum พบ peaks ของ 19 คาร์บอนอะตอม โดยเป็นหมู่ keto carbonyl 2 หมู่ในส่วนที่เป็นวงแหวน 1,4-benzoquinone ปรากฏที่ δ_{C} 181.6 (C-1) และ 187.2 ppm (C-4), หมู่ ester carbonyl ที่ δ_{C} 173.6 (C-1''), methine carbon ซึ่งต่อกับออกซิเจนอะตอมที่ δ_{C} 71.9 (C-2') และหมู่ methoxy 1 หมู่ที่ δ_{C} 56.3 ppm (2-OCH₃) ซึ่งตำแหน่งเดียวกันนี้ใน proton spectrum ปรากฏเป็น proton singlet ที่ δ_{H} 3.79 ppm นอกจากนี้ ใน ^1H NMR spectrum ยังพบ doublets ของ H-3 กับ H-5 ของวงแหวน quinone ซึ่ง couple กันด้วยค่า $J = 2.3$ Hz ที่ δ_{H} 5.84 และ 6.44 ppm ตามลำดับ กับ peaks ของ methylene protons ตำแหน่ง 1' ซึ่งปรากฏเป็นลักษณะ doublet of doublets (dd) ที่ δ_{H} 2.39 ppm และ doublet of doublet of doublets (ddd) ที่ δ_{H} 2.85 ppm รวมทั้ง triplets ของหมู่ methyl 2 หมู่ซึ่งอยู่ที่ปลายสายโซ่ aliphatic hydrocarbon ที่ δ_{H} 0.85 (H-7'') และ 0.86 ppm (H-6'') ข้อมูลเหล่านี้ โดยเฉพาะในส่วนของวงแหวน benzoquinone และหมู่แทนที่ มีความคล้ายคลึงใกล้เคียงกับข้อมูลของสาร cornudentanone¹⁶ ที่ถูกค้นพบเมื่อปี ค.ศ. 1987 จากต้น *Ardisia cornudentata* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรจีนชนิดหนึ่ง ความแตกต่างที่สำคัญ คือ ในส่วนของหมู่ ester ซึ่งสำหรับสาร cornudentanone เป็น acetyl ester จึงปรากฏเป็น methyl singlet ที่ δ_{H} 1.95 ppm แต่หมู่ ester ของสาร P-1 เป็นสายโซ่ aliphatic ซึ่งยาว 6 carbons โดยมี HMBC correlations ระหว่างสัญญาณโปรตอนและคาร์บอนดังแสดงในตารางที่ 12 ซึ่งเมื่อหักลบจำนวนคาร์บอนของสายโซ่ ester นี้และส่วนวงแหวน benzoquinone ออกจากจำนวนคาร์บอน

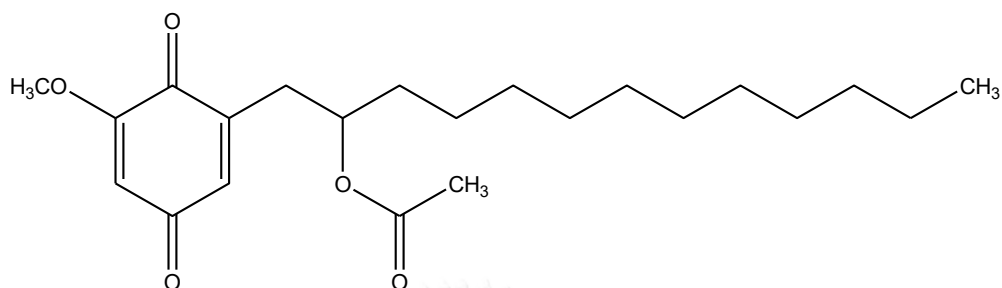
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ทั้งหมดของสาร P-1 ทำให้ทราบความยาวของสายโซ่ aliphatic hydrocarbon อีกสายหนึ่งได้ ทำให้ทราบว่า โครงสร้างของสาร P-1 จัดเป็นโครงสร้างของสารใหม่ในธรรมชาติที่ไม่เคยมีการรายงานมาก่อน ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ ให้ชื่อสารนี้ว่า exulquinone แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเหล่านี้ยังต้องการข้อมูลทางสเปคโตรสโกปีอื่นๆ เช่น mass spectroscopy เพื่อยืนยันอีกครั้งหนึ่ง



cornudentanone

ตารางที่ 12 ข้อมูล ^1H (300 MHz) และ ^{13}C NMR (75 MHz) ของ exulquinone (P-1) และ cornudentanone ใน CDCl_3

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	-	181.6	-
2	-	158.9	-
3	5.84	107.2	C-1, C-2, C-5
4	-	187.2	-
5	6.44	134.4	C-1, C-3
6	-	143.5	-
1'	2.39 (dd, $J = 13.8, 9.3$ Hz), 2.85 (ddd, $J = 13.8, 3.0, 1.2$ Hz)	34.4	C-1, C-5, C-6, C-2', C-3'
2'	4.98 (m)	71.9	-
3'	1.57 (m)	34.5	-
4'	1.27 (m)	25.0	C-5'
5'	1.22 (m)	31.3*	-
6'	1.27 (m)	22.3**	C-5'
7'	0.85 (t, $J = 7.2$ Hz)	13.9	C-5', C-6'

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตำแหน่ง	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1"	-	173.6	-
2"	2.19 (td, $J = 7.5, 3.0$ Hz)	34.4	C-1", C-3", C-4"
3"	1.51 (m)	24.7	C-1", C-2", C-4", C-5"
4"	1.22 (m)	31.4*	C-5"
5"	1.27 (m)	22.5**	C-4"
6"	0.86 (t, $J = 7.2$ Hz)	13.9	C-4", C-5"

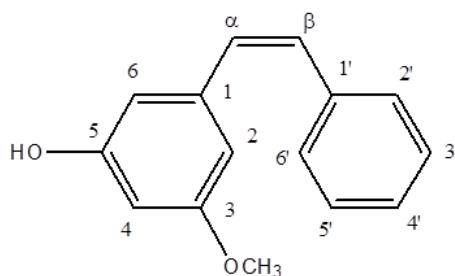
*, ** หมายถึง อาจสลับกันได้



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.1.2. สาร 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene (P-2)

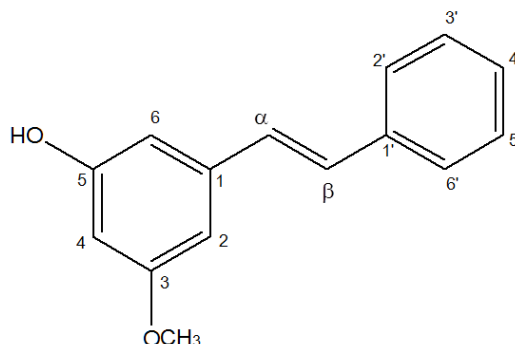


สาร P-2 ลักษณะเป็นผงสีเหลืองอมน้ำตาล สกัดแยกได้ในปริมาณ 9.3 มก. (คิดเป็น yield = 0.03% ของน้ำหนักพืชแห้ง) ซึ่งจากข้อมูล ^{13}C NMR พบ carbon peak ทั้งหมด 15 peaks (รวม peak ที่มีความสูงมากกว่า peak อื่นๆ ประมาณ 2 เท่า ซึ่งแสดงถึง carbon 2 คู่ที่สมมาตรกัน จึงปรากฏเป็น peak ที่เดียวกัน) แสดงว่าสารมี 15 carbon atoms โดย 14 peaks เป็นของวงแหวน aromatic 2 วง เชื่อมต่อกันผ่าน 1 พันธะคู่ ซึ่งแสดงว่าเป็นโครงสร้างหลักของสารนี้เป็น stilbene อันเป็นกลุ่มสารที่มักพบในกล้วยไม้ และอีก 1 carbon peak ที่ δ_{C} 55.2 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ methoxy ที่อยู่ในตำแหน่ง 3 บนวงแหวน aromatic วงหนึ่ง ในขณะที่มีหมู่ hydroxy ในลักษณะ *meta* กันที่ตำแหน่ง 5 ส่วนอีกวงแหวน aromatic ไม่มีหมู่แทนที่ จึงมี carbon ที่สมมาตรกัน 2 คู่ ปรากฏเป็น peak ที่สูงกว่า peak อื่นๆ 2 เท่า ที่ δ_{C} 128.2 (C ที่ตำแหน่ง 3' กับ 5') และ 128.9 ppm (C ที่ตำแหน่ง 2' กับ 6') ส่วนพันธะคู่ระหว่างวงแหวนทั้งสองและให้ peaks ที่ δ_{H} 6.47 และ 6.58 ppm ซึ่งเป็นของตำแหน่ง α และ β ตามลำดับ โดยมีค่า $J = 12.3$ Hz แสดงว่าเป็นพันธะคู่ลักษณะ *cis* เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR กับสารชนิดเดียวกันที่เคยมีการรายงานมาก่อนจาก *Alpinia katsumadai*¹⁷ (ตารางที่ 13) ทำให้สามารถสรุปได้ว่า สาร P-2 คือสาร 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.1.3. สาร 5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene (P-3)



สาร P-3 ลักษณะเป็นผงสีเหลืองอมน้ำตาล ปริมาณ 23.4 มก. (yield = 0.08 % ของน้ำหนักพืชแห้ง) สารชนิดนี้เป็น stilbene ซึ่งเป็น isomer ของสาร P-2 โดยมีข้อมูล NMR ใกล้เคียงกันได้แก่ มี carbon peaks โดยรวม 15 peaks โดย 1 peak ที่ δ_c 55.4 ppm เป็นของหมู่ methoxy ที่ตำแหน่ง 3 ของวงแหวน aromatic วงหนึ่ง อีก 14 peaks เป็นของวงแหวน aromatic 2 วง กับอีก 1 พันธะคู่ วงแหวน aromatic วงหนึ่งมีความสมมาตรเนื่องจากไม่มีหมู่แทนที่ ส่วนอีกวงหนึ่งแทนที่ด้วยหมู่ methoxy และ hydroxyl ที่ตำแหน่ง 3 และ 5 ตามลำดับ ความแตกต่างที่สำคัญของข้อมูล NMR ของสารนี้กับสาร P-2 คือ ค่า coupling constant ระหว่างโปรตอนตำแหน่ง α กับ β ของพันธะคู่ซึ่งเท่ากับ 16.3 Hz แสดงว่าเป็น conformation แบบ *trans* นอกจากนี้ยังพบว่าค่า carbon chemical shift ของตำแหน่ง α และ β ของสารนี้จะ upfield กว่า *cis*-isomer ราว 1.5 ppm และของตำแหน่ง 2, 6, 2' และ 6' จะ upfield กว่าประมาณ 2-2.5 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR กับสารชนิดเดียวกันที่เคยมีการรายงานมาก่อนจาก *Alpinia katsumadai*¹⁷ (ตารางที่ 13) จึงสรุปได้ว่า สาร P-3 คือสาร 5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

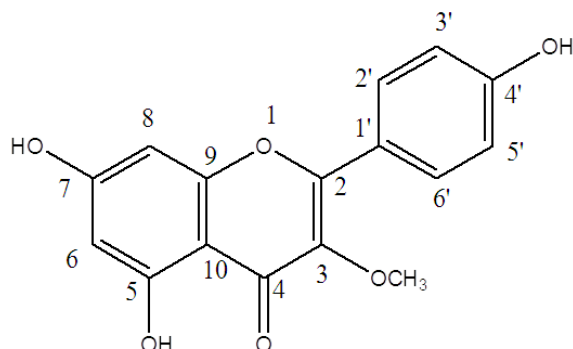
ตารางที่ 13 ข้อมูล ^1H (300 MHz) และ ^{13}C NMR (75 MHz) ของ 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene (P-2) และ 5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene (P-3) ใน CDCl_3

ตำแหน่ง	P-2		Reference	P-3		Reference
	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1	-	139.3	139.5	-	139.7	139.6
2	6.35 (br s)	106.7	106.7	6.63 (br s)	104.9	104.7
3	-	160.7	160.5	-	161.1	160.9
4	6.25 (br s)	100.7	100.8	6.32 (t, $J = 2.1$ Hz)	101.0	101.2
5	-	156.5	156.0	-	156.9	157.3
6	6.28 (br s)	108.3	108.4	6.63 (br s)	105.9	106.3
α	6.47 (d, $J = 12.3$ Hz)	129.9	129.8	6.97 (d, $J = 16.3$ Hz)	128.3	128.4
β	6.58 (d, $J = 12.3$ Hz)	130.8	130.8	7.05 (d, $J = 16.3$ Hz)	129.4	129.2
1'	-	137.1	136.5	-	137.0	137.1
2'	7.17-7.26 (m)	128.9	129.0	7.48 (d, $J = 7.5$ Hz)	126.6	126.6
3'	7.17-7.26 (m)	128.2	128.2	7.35 (d, $J = 7.5$ Hz)	128.7	128.6
4'	7.17-7.26 (m)	127.2	127.2	7.25 (t, $J = 7.2$ Hz)	127.8	127.7
5'	7.17-7.26 (m)	128.2	128.2	7.35 (d, $J = 7.5$ Hz)	128.7	128.6
6'	7.17-7.26 (m)	128.9	129.0	7.48 (d, $J = 7.5$ Hz)	126.6	126.6
3-OCH ₃	3.62 (s)	55.2	55.2	3.80 (s)	55.4	55.3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.1.4. สาร isokaempferide (P-4)



สาร P-4 ลักษณะเป็นผงสีเหลือง สกัดแยกได้ปริมาณ 5.7 มก. (yield = 0.02 % ของน้ำหนักพืชแห้ง) ซึ่งจากข้อมูล ^{13}C NMR พบ carbon peaks ของ flavonol 14 peaks กับของหมู่แทนที่ซึ่งเป็นหมู่ methoxy อีก 1 peak และข้อมูล ^1H NMR พบ peak ที่ δ_{H} 12.68 ppm ลักษณะเป็น broad singlet เกิดจากหมู่ hydroxy ซึ่งแทนที่ในตำแหน่ง 5 และเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ carbonyl ในตำแหน่ง 4 และพบ doublet 2 peaks (แต่ละ peak มีค่า integration เท่ากับ 1) ที่ *meta*-coupled กัน ($J = 1.8$ Hz) ที่ δ_{H} 6.19 (H-6) และ δ_{H} 6.43 ppm (H-8) แสดงว่า ring A ของสารนี้มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง 5 และ 7 ส่วน ring B มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง 4' ซึ่งสังเกตได้จาก doublet 2 peaks (แต่ละ peak มีค่า integration เท่ากับ 2) ที่ δ_{H} 6.93 (H-3' กับ H-5') และ 7.93 ppm (H-2' กับ H-6') *ortho*-coupled กันด้วยค่า $J = 8.9$ Hz และเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของ flavonoid ที่เคยมีการรายงานมาก่อน¹⁸ (ตารางที่ 14) พบว่าสาร P-4 เป็น flavonoid ในกลุ่มย่อย flavonol คือสาร isokaempferide

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

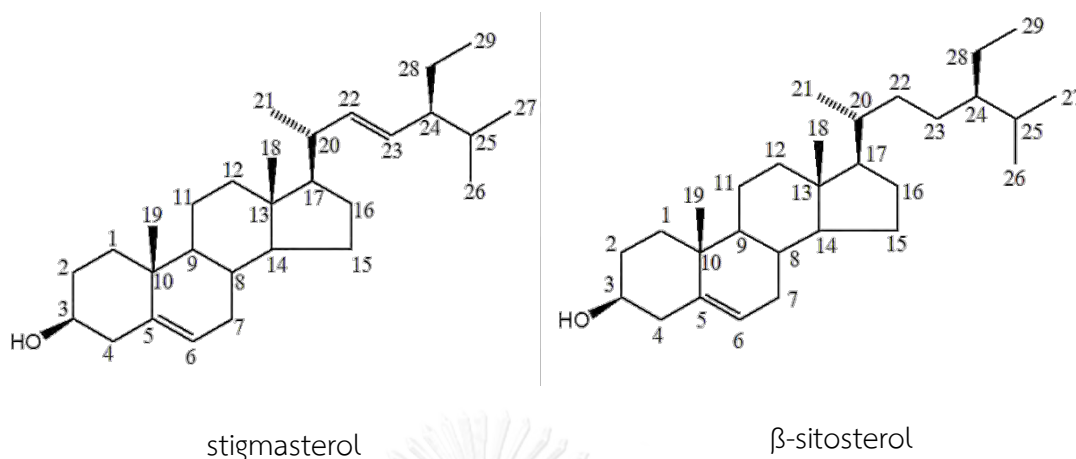
ตารางที่ 14 ข้อมูล ^1H (300 MHz) และ ^{13}C NMR (75 MHz) ของ isokaempferide (P-4) ใน $\text{DMSO-}d_6$

ตำแหน่ง	P-4		Isokaempferide ¹⁸	
	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
2	-	155.7	-	156.8
3	-	139.0	-	139.1
4	-	178.0	-	179.5
5	-	161.3	-	163.2
6	6.19 (d, $J = 1.8$ Hz)	98.6	6.25 (d, $J = 1.9$ Hz)	99.4
7	-	164.2	-	164.9
8	6.43 (d, $J = 1.8$ Hz)	93.8	6.49 (d, $J = 1.9$ Hz)	94.4
9	-	156.4	-	157.8
10	-	104.3	-	105.8
1'	-	120.6	-	122.6
2'	7.93 (d, $J = 8.9$ Hz)	130.2	8.01 (d, $J = 8.8$ Hz)	131.2
3'	6.93 (d, $J = 8.9$ Hz)	116.4	7.00 (d, $J = 8.8$ Hz)	116.4
4'	-	160.2	-	160.9
5'	6.93 (d, $J = 8.9$ Hz)	116.4	7.00 (d, $J = 8.8$ Hz)	116.4
6'	7.93 (d, $J = 8.9$ Hz)	130.2	8.01 (d, $J = 8.8$ Hz)	131.2
3-OCH ₃	3.77 (s)	59.8	3.85 (s)	60.2
5-OH	12.68 (br s)	-	12.78 (s)	-

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

4.1.5 สารผสมของ stigmasterol (P-5) กับ β -sitosterol (P-6)



สาร P-5 และ P-6 ถูกสกัดแยกได้ในลักษณะสารผสมซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มใส ปริมาณ 56.6 มิลลิกรัม (yield = 0.2% ของน้ำหนักพืชแห้ง) เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR (ตารางที่ 15) กับสารที่เคยมีการรายงานมาก่อน พบว่าเป็นสารในกลุ่ม phytosterol ชื่อ stigmasterol และ β -sitosterol ซึ่งเป็น plant sterols ที่พบได้ทั่วไปในพืช นอกจากนี้ ข้อมูลจาก ^1H NMR ยังแสดงให้เห็นอัตราส่วนของสารผสม โดยเมื่อเทียบจากค่า integration ระหว่าง peaks ของ proton ตำแหน่งที่ 6 ของสารทั้งสองชนิด กับของ protons ตำแหน่งที่ 22 และ 23 ของสาร stigmasterol พบว่าอัตราส่วนของ stigmasterol ต่อ β -sitosterol เป็น 2:1

ตารางที่ 15 ข้อมูล ^1H (300 MHz) และ ^{13}C NMR (75 MHz) ของสาร stigmasterol (P-5) และ β -sitosterol (P-6) ใน CDCl_3

ตำแหน่ง	Chemical shift (δ_c) ppm			
	Stigmasterol ¹⁹	P-5	β -sitosterol ²⁰	P-6
1	37.6	37.2	37.6	37.2
2	31.9	31.9	32.0	31.9
3	72.0	71.8	72.2	71.8
4	42.5	42.3	42.7	42.3
5	140.8	140.7	141.1	140.7

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตำแหน่ง	Chemical shift (δ_c) ppm			
	Stigmasterol ¹⁹	P-5	β -sitosterol ²⁰	P-6
6	121.8	121.7	122.1	121.7
7	32.1	31.7	32.3	31.7
8	32.2	31.7	32.3	31.7
9	50.5	50.1	50.5	50.1
10	36.5	36.5	36.9	36.5
11	21.2	21.1	21.5	21.1
12	40.0	39.8	40.1	39.8
13	42.2	42.2	42.7	42.3
14	57.1	56.9	57.2	56.9
15	24.5	24.4	24.7	24.4
16	28.9	28.9	28.6	28.9
17	56.3	56.0	56.4	56.0
18	12.2	12.2	12.2	12.2
19	19.5	19.4	19.8	19.4
20	40.4	40.5	36.5	36.5
21	21.4	21.2	18.6	18.8
22	138.3	138.3	34.1	34.0
23	129.7	129.3	26.7	26.1
24	51.5	51.2	46.2	51.2
25	32.2	31.9	29.6	29.1
26	21.2	21.2	19.3	19.0
27	19.2	18.8	19.4	19.4
28	25.4	25.4	23.4	23.1
29	12.2	12.0	12.4	12.2

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เมื่อนำสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate ของใบรองเท้านารีเหลืองกระบี่มาสกัดแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารได้ 5 กลุ่ม โดยส่วนใหญ่เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืช คือ เป็นสารผสมของสารกลุ่มไฟโตสเตอรอล 2 ชนิด คือ stigmasterol (P-5) และ β -sitosterol (P-6) และสารผสมของกรดไขมัน (P-7) สารที่พบมากในอันดับรองลงมา คือ สารกลุ่มสติลบิน ซึ่งมีเคยมีรายงานว่าพบได้ในกล้วยไม้หลายสกุล รวมทั้งในสกุลเดียวกับรองเท้านารีเหลืองกระบี่ โดยในงานวิจัยนี้พบสติลบิน 2 ชนิดซึ่งเป็น *cis-trans* isomer กัน ได้แก่ 5-hydroxy-3-methoxy-*cis*-stilbene (P-2) และ 5-hydroxy-3-methoxy-*trans*-stilbene (P-3) โดยพบ *trans*-isomer ในปริมาณมากกว่า พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ 1 ชนิด ได้แก่ isokaempferide (P-4) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มย่อย flavonol และสารกลุ่มควิโนน 1 ชนิดในกลุ่มย่อย benzoquinone ได้แก่ exulquinone (P-1) ซึ่งคาดว่าเป็นสารชนิดใหม่จากธรรมชาติ แต่ต้องรวบรวมข้อมูลอื่นๆ ทางกายภาพและทางด้านสเปกโทรสโกปีเพื่อสนับสนุนโครงสร้างทางเคมีที่นำเสนอไว้ต่อไป นอกจากนี้จากข้อจำกัดเกี่ยวกับช่วงเวลาของโครงการ ทำให้ไม่สามารถดำเนินการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดแยกได้ทันตามกำหนด คณะผู้วิจัยจะได้พยายามรวบรวมข้อมูลเหล่านี้ต่อไปในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รายการอ้างอิง

1. Hossain MM. Therapeutic orchids: Traditional uses and recent advances – An overview. *Fitoterapia* 2010; 82: 102-140.
2. Gutierrez RMP. Orchid: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010; 4: 529-638.
3. Lertnitikul N, Jittham P, Khankhampoch L, Pattamadilok C, Sukrong S, Suttisri R. Cytotoxic stilbenes from the roots of *Paphiopedilum godefroyae*. *Journal of Asian Natural Product Research* 2016 (in process).
4. Chase MW, Cameron KM, Freudenstein JV, Pridgeon AM, Salazar G, Van den Berg C, Schuiteman A. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2015; 177: 151-174.
5. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กล้ายไม้ไทย 1. วนิดาการพิมพ์. 2551: 14-22.
6. Pemberton RW. Pollination of slipper orchids (Cypripedioideae): A review. *Lankesteriana* 2013; 13: 65-73.
7. สลิล สิทธิสังธรรม. กล้ายไม้ป่าเมืองไทย 1. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. 2549.
8. Araya C. Phylogenetics, genome size evolution and population genetics of slipper orchids in the subfamily Cypripedioideae (Orchidaceae). PhD thesis, Birkbeck, University of London 2014.
9. กล้ายไม้รองเท้านารีในประเทศไทย. [Online]. 2016; [cited 2016 March]. Available from: http://thaipaphioclub.com/main/index.php?route=information/info&info_id=4
10. สำนักงานหอพรรณไม้. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์. [Online]. 2549; [cited 2016 March]. Available from: <http://www.dnp.go.th/Botany/mplant/genus.aspx?keyword=paphiopedilum>
11. กล้ายไม้สกุลรองเท้านารี (Lady's Slipper). [Online]. 2016; [cited 2016 March]. Available from: <http://student.nu.ac.th/samunprithai/thailandorchid/6.html>
12. Paphiopedilum Species Photo Gallery. [Online]. 2016; [cited 2016 March]. Available from: <http://slipperorchids.info/paphspecies/index.html>
13. Rankou H. *Paphiopedilum thaianum*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. 2015.

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

14. Gruss O, Rollke L. *Paphiopedilum vejvarutianum*, eine neue Art aus Thailand: schon seit langem unbeachtet in Kultur. *Orchidee* 2003; 54: 56-59.
15. *Paphiopedilum x siamensis* (Rolfe) Rolfe 1896. [Online]. 2016; [cited 2016 March]. Available from: <http://www.orchidspecies.com/paphsiamense.htm>
16. Tian Z, Chang MN, Sandrino M, Huang L, Pan JX, Arison B, Smith J, Lam YKT. Quinones from *Ardisia cornudentata*. *Phytochemistry* 1987; 26: 2361-2362.
17. Ngo KS, Brown GD. Stilbene, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from *Alpinia katsumadai*. *Phytochemistry* 1997; 97: 1117-1121.
18. Gohari AR, Saeidnia S, Matsuo K, Uchiyama N, Yagura T, Ito M, Kiuchi F, Honda G. Flavonoid constituents of *Dracocephalum kotschy* growing in Iran and their trypanocidal activity. *Natural Medicines* 2003; 57: 250-252.
19. Forgoa P. Gradient enhanced selective experiments in the ¹H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. *Steroids*. 2004; 69(1): 43-50.
20. Saeidnia S, Manayi A, Gohari AR, Abdollahi M. The Story of Beta-sitosterol- A Review. *European Journal of Medicinal Plants*. 2014; 4(5): 590-609.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY