

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เงินอุดหนุนงบประมาณแผ่นดิน

รายงานผลการวิจัย



สารกันเสียจากพืชสมุนไพรบางชนิด  
(Antimicrobial Agents from some Medicinal Plants)

โดย

ผู้วิจัย นายสันติ ทิพยวงศ์  
ผู้ร่วมวิจัย นางสาวภาคย์

วันที่ 16 เมษายน 2542

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มี  
ส่วนช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี จุฬาลง  
-กรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย สารกันเสียจากพืชสมุนไพร

ชื่อผู้วิจัย นายสันติ ทิพยางค์ และ นางสิริพร สอนเสาวภาคย์

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ เมษายน 2542

## บทคัดย่อ

ในการเสาะหาสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากพืชสมุนไพรไทย โดยนำดอกสารภีและรากกระชายเหลืองแห้งบดละเอียด มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต, เอทานอล และบิวทานอล สิ่งสกัดเฮกเซนของดอกสารภี แสดงฤทธิ์ที่น่าสนใจในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* และ flat sour spoilage จึงแยกสิ่งสกัดของเฮกเซนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา สามารถแยกสารได้ 3 ชนิด คือ 6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin (1) และสารใหม่ 2 ชนิด คือ 5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin (2) และ 5-hydroxy-6-pentyl-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin (3) สารทั้งสามชนิดไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนและเอทานอลของรากกระชายเหลือง แยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา สามารถแยกสารได้ 4 ชนิด คือ pinostrobin (4), panduratin A (5), pinocembrin (6) และ alpinetin (7). สารทั้งหมดที่แยกได้พิสูจน์สูตรโครงสร้างโดยวิธีทางสเปคโตรสโกปี จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสาร 4 และสาร 5 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, และ *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อดิสก์ ส่วนสาร 5 ยังมีผลยับยั้งต่อเชื้อ *Klebsilla pneumoniae* และ flat sour spoilage. นอกจากนี้ยังพบว่า สาร 6 มีผลยับยั้งต่อเชื้อ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella derby* และ *Yersinia enterocolitica*.

Project Title **Antimicrobial Agents from some Medicinal Plants**

Name of the Investigators **Santi Tip-pyang and Siriporn Stonasaovapak**

Year **1999**

### **Abstract**

A searching for antimicrobial agents from Thai medicinal plants, dried flowers of *Mammea siamensis* Kostorm and dried yellow rhizomes of *Boesenbergia pandurata* were extracted with organic solvents such as hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol and butanol. The crude hexane extract of *M.siamensis* showed antibacteria activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and flat sour spoilage bacteria. Fractionation of this crude extract by column chromatography led to isolate three compounds. They were 6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin (**1**) along with two new compounds: 5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin (**2**) and 5-hydroxy-6-pentyryl-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxylisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin (**3**). These three compounds showed no antibacterial activity.

The crude dichloromethane and ethanolic extracts of *B.pandurata* were separated by column chromatography to afford four compounds. They were pinostrobin (**4**), panduratin A (**5**), pinocembrin (**6**) and alpinetin (**7**). All of isolated compounds were elucidated based on spectroscopic method. The bioassay results indicated that compound **4** and **5** showed significant antibacterial activity against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* at dose level 300  $\mu$ g/disc. Compound **5** also showed activity against *Klebsilla pneumoniae* and flat sour spoilage bacteria. In addition, compound **6** was found to be active against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella derby* and *Yersinia enterocolitica*.

## รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดเอทานอลของสมุนไพร .....	16
2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดต่างๆ จากดอกสารภี .....	20
2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดต่างๆ จากรากกระชายเหลือง .....	20
2.4 แสดงผลการแยกสิ่งสกัดเฮกเซนของดอกสารภี โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี แบบธรรมดา .....	21
2.5 แสดงผลการแยกสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนของรากกระชายเหลือง โดยคอลัมน์ โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา .....	22
2.6 แสดงผลการแยกสิ่งสกัดเอทานอลของรากกระชายเหลือง โดยคอลัมน์ โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา .....	23
3.1 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 1 .....	27
3.2 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 1 กับ 6-butyryl-5-hydroxy-4- phenylseselin <sup>6</sup> .....	29
3.3 การเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของสาร 1 กับ 6-butyryl-5-hydroxy-4- phenylseselin <sup>5</sup> .....	29
3.4 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 1 .....	30
3.5 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 2 .....	32
3.6 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3 .....	35
3.7 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 4 .....	36
3.8 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 4 กับ pinostrobin <sup>9</sup> .....	37
3.9 การเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของสาร 4 กับ pinostrobin <sup>9</sup> .....	38
3.10 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 5 .....	39
3.11 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 5 .....	40
3.12 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 5 กับ panduratin A <sup>11</sup> .....	41
3.13 การเปรียบเทียบสัญญาณคาร์บอนของสาร 5 กับ panduratin A <sup>11</sup> .....	42
3.14 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 6 .....	44
3.15 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 6 กับ pinocembrin <sup>9</sup> .....	45
3.16 การเปรียบเทียบสัญญาณคาร์บอนของสาร 6 กับ pinocembrin <sup>9</sup> .....	46

## รายการตารางประกอบ (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.17 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7 .....	47
3.18 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 7 .....	48
4.1 แสดงน้ำหนักสาร และ เปอร์เซนต์สารที่แยกได้ต่อน้ำหนักดอกกระชายแห้ง .....	51
4.2 แสดงน้ำหนักสาร และ เปอร์เซนต์สารที่แยกได้ต่อน้ำหนักรากกระชายแห้ง .....	53
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากดอกสารภี .....	55
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากรากกระชายแห้ง .....	56

เลขหมู่ กท  
 ๑๗ 15  
 เลขทะเบียน 009882  
 วัน,เดือน,ปี ๒1 มี.ค. 43

## รายการภาพประกอบ

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงส่วนต่างๆ ของสารภี .....	4
1.2 แสดงส่วนต่างๆ ของรากกระชายเหลือง .....	5
1.3 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในดอกสารภี .....	6
1.4 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในกิ่งของสารภี .....	7
1.5 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในใบของสารภี .....	8
1.6 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในกระชาย .....	10
3.1 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 1 .....	31
3.2 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 2 .....	32
3.3 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 3 .....	34
3.4 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 4 .....	38
3.5 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 5 .....	43
3.6 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 6 .....	46
3.7 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 7 .....	49

## รายการแผนภาพประกอบ

แผนภาพที่	หน้า
1. ขั้นตอนการสกัดดอกสารภีแห้งด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ.....	17
2. ขั้นตอนการสกัดรากกระชายเหลืองด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ.....	19



## รายการภาคผนวก

รูปที่	หน้า
1. อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 1.....	62
2. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 1.....	63
3. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 1 (ภาพขยาย).....	64
4. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 1 .....	65
5. DEPT และ DEPT, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 1 .....	66
6. แมสสเปกตรัมของสาร 1.....	67
7. HPLC โครมาโทแกรมของส่วนที่ 18-21 ที่แยกด้วย HPLC .....	68
8. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 2 .....	69
9. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 2 (ภาพขยาย) .....	70
10. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 2 (ภาพขยาย) .....	71
11. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 2 .....	72
12. DEPT 90 และ DEPT 135, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 2 ....	73
13. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 3 .....	74
14. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 3 (ภาพขยาย) .....	75
15. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 3 (ภาพขยาย) .....	76
16. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 3 .....	77
17. DEPT 90 และ DEPT 135, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 3 ...	78
18. อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 4 .....	79
19. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 4 .....	80
20. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 4 (ภาพขยาย) .....	81
21. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 4 .....	82
22. DEPT 90 และ DEPT 135, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 4.....	83
23. แมสสเปกตรัมของสาร 4 .....	84
24. อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 5 .....	85
25. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 5 .....	86
26. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 5 (ภาพขยาย) .....	87
27. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 5 .....	88

## รายการภาคผนวก (ต่อ)

รูปที่	หน้า
28. DEPT 90 และ DEPT 135, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 5 ...	89
29. แมสสเปกตรัมของสาร 5 .....	90
30. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 6 .....	91
31. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 6 (ภาพขยาย) .....	92
32. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 6 .....	93
33. DEPT 90 และ DEPT 135, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 6 ....	94
34. อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7 .....	95
35. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 7 .....	96
36. โพรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 7 (ภาพขยาย) .....	97
37. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 7 .....	98
38. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ของสาร 7 (ภาพขยาย) .....	99
39. แมสสเปกตรัมของสาร 7 .....	100

## รายการสัญลักษณ์ และ คำย่อ

TLC	Thin-Layer Chromatography
$R_f$	Retention factor
IR	Infrared
$\text{cm}^{-1}$	unit of wave number
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
ppm	part per million
s	singlet
d	doublet
t	triplet
m	multiplet
$J$	Coupling Constant
$\text{H}_z$	Hertz
$\delta$	chemical shift
DEPT	Distortionless Enhancement of NMR signal by Polarization Transfer
GC	Gas Chromatography
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
MS	Mass spectrometer

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	ii
บทคัดย่อภาษาไทย .....	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	iv
รายการตารางประกอบ .....	v
รายการภาพประกอบ .....	vii
รายการแผนภาพประกอบ .....	viii
รายการภาคผนวก .....	ix
รายการสัญลักษณ์ และ คำย่อ .....	xi
บทที่ 1 บทนำ .....	1
บทที่ 2 การทดลองและผลการทดลอง	
2.1 พีชตัวอย่าง .....	12
2.2 เครื่องมือ .....	12
2.3 สารเคมี .....	13
2.4 ขั้นตอนการทดลอง .....	13
2.5 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการทดลอง .....	13
2.6 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (antimicrobial) .....	15
2.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น .....	15
2.8 การเตรียมวัตถุดิบและการสกัด .....	16
2.9 การแยกสาร .....	20
2.10 การทำสารให้บริสุทธิ์และการตรวจลักษณะของสารจากดอกสารภี ....	24
2.11 การทำสารให้บริสุทธิ์และการตรวจลักษณะของสารจาก รากกระชายเหลือง .....	25
บทที่ 3 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างและผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์	
3.1 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 1 .....	27
3.2 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 2 .....	31
3.3 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 3 .....	33
3.4 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 4 .....	36
3.5 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 5 .....	38
3.6 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 6 .....	43
3.7 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 7 .....	47

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	
4.1 สรุปผลการทดลองจากดอกสารภี .....	50
4.2 สรุปผลการทดลองจากรากกระชายเหลือง .....	52
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากดอกสารภี .....	55
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จาก รากกระชายเหลือง .....	56
เอกสารอ้างอิง .....	58
ประวัติผู้เขียน .....	60
ภาคผนวก .....	61

## บทที่ 1



### บทนำ

ปัจจุบันความพยายามที่จะสกัดสารที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพรเพื่อใช้เป็นสารกันเสียจากธรรมชาติ (natural preservatives) ในผลิตภัณฑ์ทางอาหารและเภสัชกรรมได้รับความสนใจอย่างมากถึงแม้ว่าจะมีราคาแพงกว่าการสังเคราะห์ทางเคมี ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการถนอมอาหารอีกด้วย การสกัดสารบริสุทธิ์จากพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อให้เกิดโรคเนื่องจากการติดเชื้อในอาหาร เพื่อใช้ป้องกันการเน่าเสียจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการใช้สารสกัดจากธรรมชาติตัวใหม่ๆ แทนสารกันเสียจากการสังเคราะห์ทางเคมี

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของพืชสมุนไพรกว่า 10 ชนิด พบว่าสารสกัดจากดอกสารภี และ รากกระชายเหลือง มีผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Salmonella derby*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* และ flat sour spoilage bacteria ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากการติดเชื้อในอาหารและทำให้อาหารเน่าเสีย นอกจากนี้ได้มีผู้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในวงศ์ Guttiferae ได้พบสารประเภท Phenyl coumarin ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HIV-1 Reverse Transcriptase (HIV-RT)<sup>1</sup> ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนยีนของเชื้อไวรัส HIV ที่เป็นสาเหตุของโรคเอดส์ได้ และพืชในวงศ์ Zingiberaceae ก็ได้รับความสนใจ โดยมีการวิจัยทางด้านพิษวิทยาเคมีอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากพืชในวงศ์นี้มีสมบัติเป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่สำคัญ โดยเฉพาะกระชายถูกนำมาใช้ในการประกอบอาหารหลายๆอย่าง เช่นขนมจีนน้ำยาแกงชนิดต่างๆ เป็นต้น เพื่อปรุงแต่งรสและกลิ่นของอาหารให้น่ารับประทาน และยังมีสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคต่างๆ จากการที่ได้มีผู้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระชายพบว่า เป็นแหล่งของฟลาโวนอยด์ (flavonoid) หลายชนิด เช่น ฟลาวาโนน (flavanone), ชาลโคน (chalcone) และ ฟลาโวน (flavone) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติทั้งทางเภสัชวิทยาและทางการแพทย์ การศึกษาทางผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของดอกสารภี และรากกระชายเหลือง โดยการสกัดแยกหาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้นี้จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มข้อมูลทางพิษวิทยาเคมีและนำสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แยกได้จากดอกสารภี และรากกระชายเหลืองไปใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหารหรือทางการแพทย์ต่อไปได้

สารภีมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mammea siamensis* และมีชื่อพ้องว่า *Ochrocapus siamensis* เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Guttiferae สกุล *Mammea*<sup>2</sup>

สารภียังมีชื่อเรียกตามถิ่นต่างๆ อีก เช่น สร้อยพี (ภาคใต้), สารภีแนน (เชียงใหม่) ทรพี (จันทบุรี)

สารภีเป็นไม้ยืนต้นมีขนาดกลางไปจนถึงขนาดใหญ่ เป็นไม้ผลัดใบมีใบแน่นเป็นพุ่มหนา ขนาดต้นสูงประมาณ 10-15 เมตร เปลือกมีสีเทาปนดำแตกลอนเป็นสะเก็ดมียางขาวและจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สารภีมีใบเป็นใบเดี่ยวออกตรงข้าม ลักษณะของใบจะเรียบเกลี้ยงทรงใบรูปไข่ขอบขนานกว้าง 4-6.5 เซนติเมตร ปลายใบมนกว้างๆ บางทีอาจมีกึ่งสั้นๆ หรือหยักเว้าตื้นๆ โคนใบเรียว เนื้อใบหนาเส้นใบย่อยสานกันเป็นร่างแหเห็นชัดทั้งสองด้าน ดอกมีสีขาวออกเดี่ยวๆ หรือเป็นกระจุก ตามกิ่งขนาดดอกกว้างประมาณ 2 เซนติเมตรมีกลิ่นหอมมาก ผลของสารภีมีลักษณะเป็นรูปกระสวยยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตรเมื่อสุกจะเป็นสีเหลืองจำปา

สารภีมักขึ้นอยู่ตามป่าดงดิบ และป่าเบญจพรรณเกือบทั่วทุกภาคในประเทศไทย ขยายพันธุ์ได้ด้วยวิธีเพาะเมล็ดหรือตอน

เนื้อไม้ใช้ประกอบกิจกรรมในทางก่อสร้างได้หลายอย่าง และยังมีการใช้ละอองเรณูเป็นส่วนประกอบของการทำเครื่องสำอางบางชนิดด้วย

สรรพคุณทางยาของสารภี คือ ดอกใช้รักษาอาการโลหิตพิการ, แก้ไข้มีพิษร้อน, ช่วยเจริญอาหาร, บำรุงหัวใจ, ชูกำลัง เกสรช่วยบำรุงครรภ์แก้ไข้<sup>3,4</sup>

กระชายมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia pandurata* และมีชื่อพ้องว่า *Kaempferia pandurata* เป็นพืชที่อยู่ใน family Zingiberaceae จัดอยู่ใน genus Boesenbergia

กระชายยังมีชื่อที่เรียกตามถิ่นต่างๆ อีกเช่น กะแอน ระแอน (ภาคเหนือ), ชิงทราย ชิงแดง ชิงกระชาย (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ), ว่านพระอาทิตย์ (กรุงเทพฯ) เป็นต้น

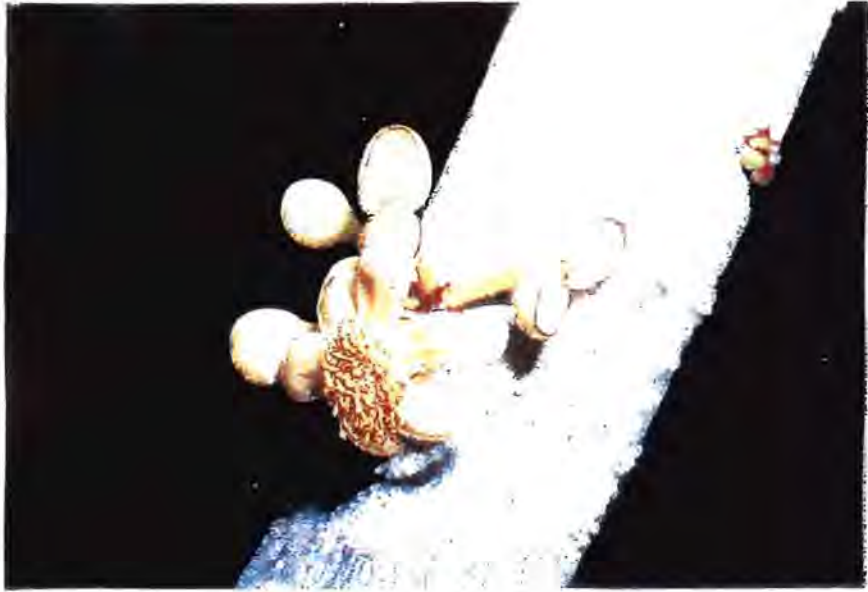
กระชายเป็นพรรณไม้ล้มลุก ชอบดินปนทราย ปลูกได้ทั่วไป ลำต้นสูงประมาณ 90 เซนติเมตร ส่วนกลางลำต้นมีแกนแข็ง มีกาบหรือโคนใบหุ้ม มีลำต้นอยู่ใต้ดินเรียกว่าเหง้า มีรากติดเป็นกระจุกเป็นที่สะสมอาหารยาว 6-10 เซนติเมตร ทรงกระบอกปลายเรียวแหลม ผิวสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีเหลืองมีกลิ่นหอม ส่วนที่อยู่เหนือพื้นดินประกอบด้วยโคนก้านใบที่เป็นกาบหุ้มซ้อนกันสูง 30-50 เซนติเมตร กาบใบยาว 12-25 เซนติเมตร สีแดงเรื่อๆ แผ่นใบรูปรี ปลายแหลม โคนแหลมหรือมนขอบเรียบ มีขนาดกว้าง 5-10 เซนติเมตร ยาว 10-30 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อที่ยอด ช่อดอกมีใบประดับเรียงทะแยงกัน ดอกที่อยู่ปลายช่อจะบานก่อน ปลายใบประดับเรียบ กลีบดอกสีขาวหรือขาวอมชมพูมีลักษณะเป็นถุงแยกเป็น 2 กลีบ เห็นไม่ชัด ขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนที่เป็นเหง้าหรือหัวในดิน

กระชายมีทั้งหมด 4 ชนิดคือ กระชายดำ, กระชายแดง, กระชายเหลือง และกระชายขาว ซึ่งแตกต่างกันที่สีของเนื้อใน สำหรับกระชายที่ใช้ในการปรุงอาหาร คือกระชายเหลือง

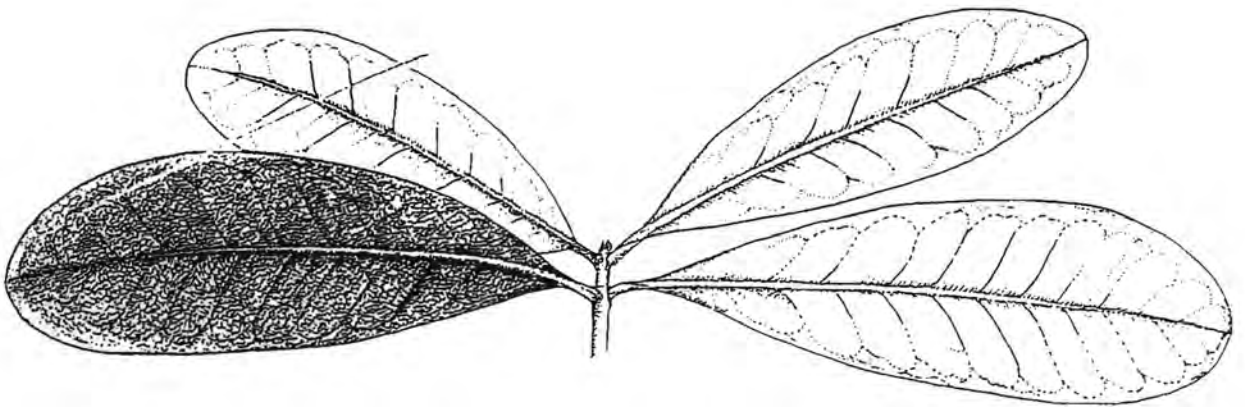
กระชายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ หลายด้านเช่น ส่วนรากนำไปใช้ในการประกอบอาหาร และส่วนต่างๆ ของกระชายนำไปใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคต่างๆ ได้มากมายได้แก่เหง้า มีสรรพคุณแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้ปวดมวนในท้อง ขับปัสสาวะ

แก้แผลในปาก แก้ฝี บำรุงกำลังกระตุ้นหัวใจให้เต้นสม่ำเสมอ เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ลม, ใบบำรุงธาตุ แก้โรคในปากคอ แก้โลหิตเป็นพิษ ถอนพิษต่างๆ นอกจากใช้เดี่ยวๆ แล้ว ยังใช้ผสมในตำรับยาร่วมกับสมุนไพรอื่นๆ รักษาโรคต่างๆ ได้อีกมากมาย<sup>4, 5</sup>





1. ดอก



2. ใบ

รูปที่ 1.1 แสดงส่วนต่างๆ ของสารภี



1. ดอก



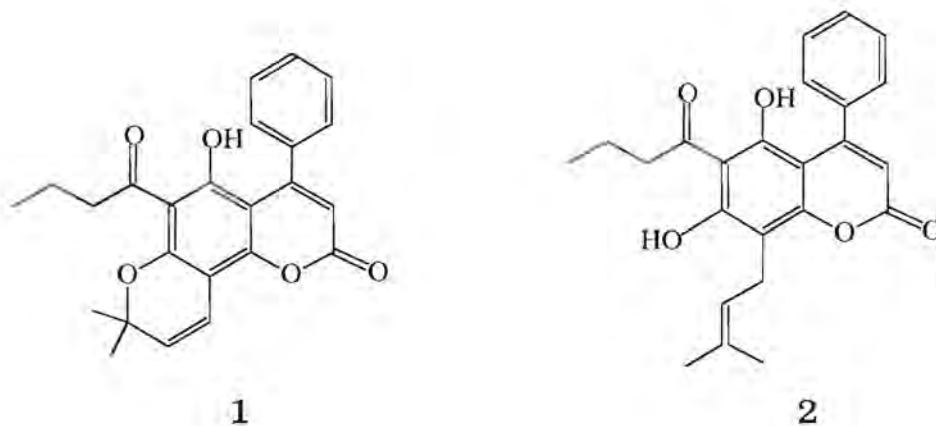
2. ราก

รูปที่ 1.2 แสดงส่วนต่างๆ ของกระชาย

### การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารภี (*Mammes siamensis*)

จากการค้นเอกสารวิจัยพบว่า มีผู้ทำการวิจัยเกี่ยวกับส่วนต่างๆ ของสารภี พบว่ามีสารเคมีที่น่าสนใจหลายชนิดดังนี้

ในส่วนของดอกมีการพบ 4-phenylcoumarins ชนิดใหม่ 2 ชนิด คือ 6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin (**1**) กับ 6-butyryl-5,7-dihydroxy-8-(3,3-dimethylallyl)-4-phenylcoumarin (**2**) ในส่วนของสิ่งสกัด light petroleum โดยมีสูตรโครงสร้าง ดังรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในดอกสารภี

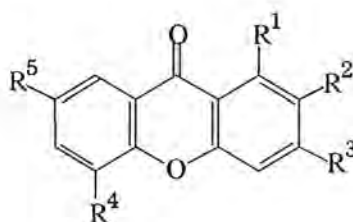
ในส่วนของกิ่งมีการพบสารพวก Xanthone<sup>7</sup> ได้แก่ 1,2-dimethoxy-5-hydroxyxanthone (5) ซึ่งเป็น Xanthone ชนิดใหม่ และยังพบ Xanthone ที่เคยพบแล้วอีก 6 ชนิด คือ

5-hydroxy-1-methoxyxanthone (3)                      1,3-dimethoxy-5-hydroxyxanthone (4)

1,7-dihydroxyxanthone (6)                                2,5-dihydroxy-1-methoxyxanthone (7)

1,3,7-trihydroxyxanthone (8)                      และ 3,5-dihydroxy-1-methoxyxanthone (9)

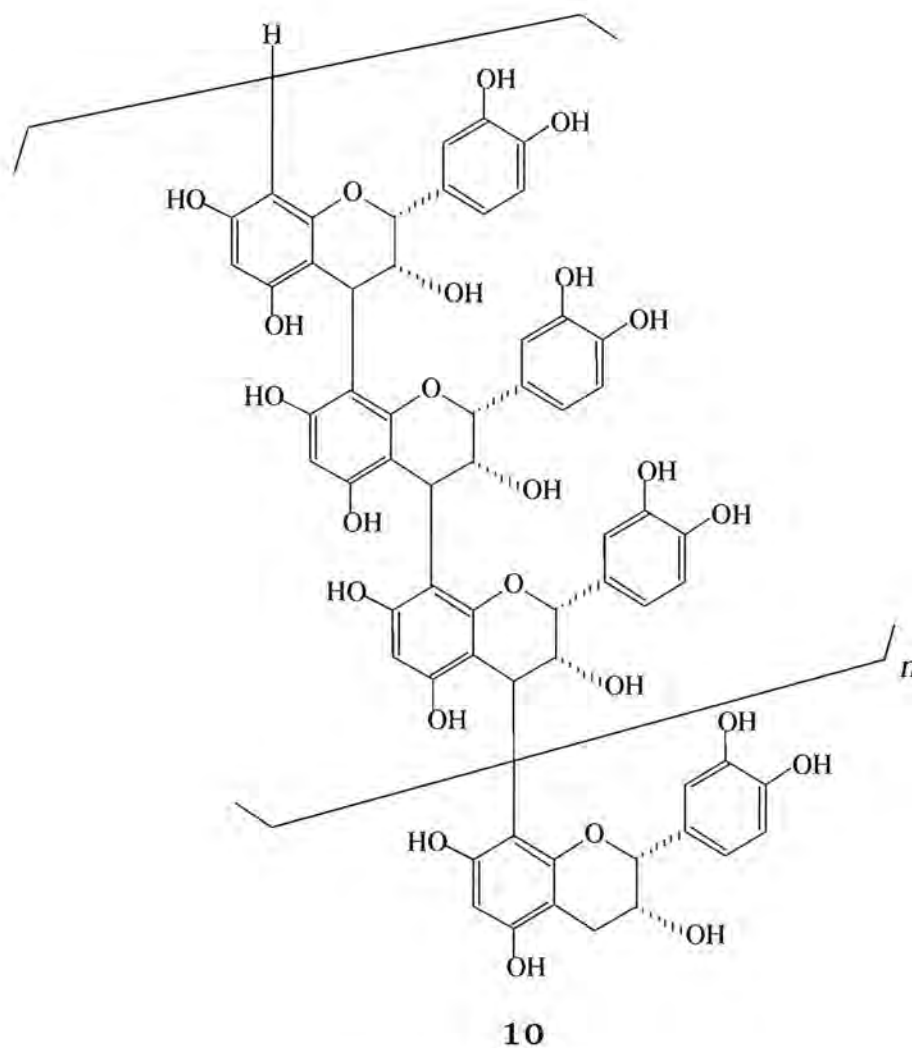
แสดงสูตรโครงสร้างดังรูป 1.4



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
3	OCH <sub>3</sub>	H	H	OH	H
4	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
5	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H
6	OH	H	H	H	OH
7	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	H
8	OH	H	OH	H	OH
9	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	H

รูปที่ 14 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในกิ่งของสารภี

นอกจากนี้ยังพบสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าปลาและหอยทาก คือ proanthocyanidin (10) ในส่วนใบของสารภี ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.5



รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในใบของสารภี

### การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระชาย (*Boesenbergia pandurata*)

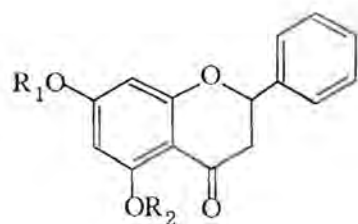
จากการค้นเอกสารวิจัยพบว่า มีผู้ทำการวิจัยเกี่ยวกับกระชายชนิดต่างๆ ไว้มากมาย และพบว่ามีสารเคมีที่น่าสนใจหลายชนิด ดังนี้

1. กระชายเหลือง พบ pinostrobin (11) กับ alpinetin (12) ในส่วนของสิ่งสกัดอีเทอร์ และพบสารเพิ่มเติมในส่วนของสิ่งสกัดคลอโรฟอร์ม คือ pinocembrin (13), 2,6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone (14), cardamonin (15), boesenbergin A (16) และ boesenbergin B (17)<sup>9,10</sup>

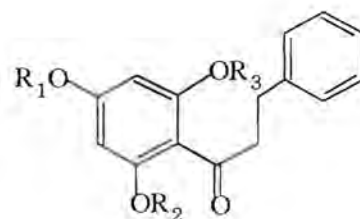
2. กระชายแดง พบ pinostrobin (11), boesenbergin A (16), rubranin (18), panduratin A (19), panduratin B<sub>1</sub>, (20) และ panduratin B<sub>2</sub> (21) ในส่วนของสิ่งสกัดเฮกเซน<sup>11, 12</sup>

3. กระชายขาว พบ isopimaric acid, crotepoxide, boesenboxide (22), zeylenol (23) และ 2'-hydroxy-4,4',6'-trimethoxychalcone ในส่วนของสิ่งสกัดคลอโรฟอร์ม<sup>13</sup>

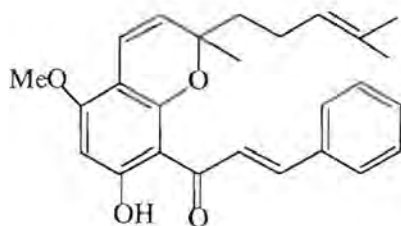
4. กระชายดำ พบ pinostrobin (11), 5,7-dione flavanone, alpinetin, 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, 5,7-dimethoxyflavone, 5,7,4'-trimethoxyflavone, 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, 3,5,7-trimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone ในส่วนของสิ่งสกัดเฮกเซน และ 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone (24), 2'-hydroxy-4,4',6'-trimethoxychalcone (25), 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone (26), 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone (27) และ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (28) ในส่วนของสิ่งสกัดคลอโรฟอร์ม<sup>14, 15</sup>



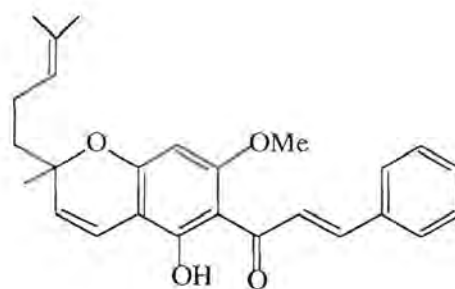
	$R_1$	$R_2$
11	Me	H
12	H	Me
13	H	H



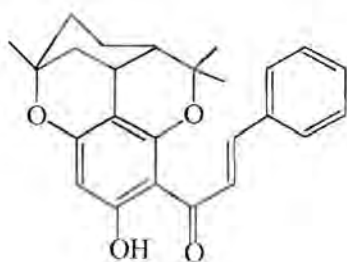
	$R_1$	$R_2$	$R_3$
14	Me	H	H
15	H	H	Me



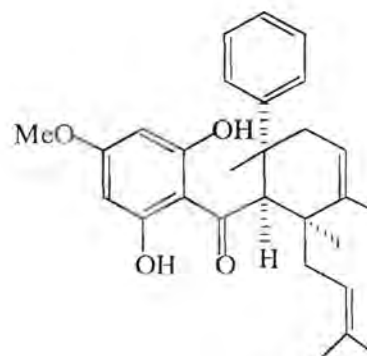
16



17

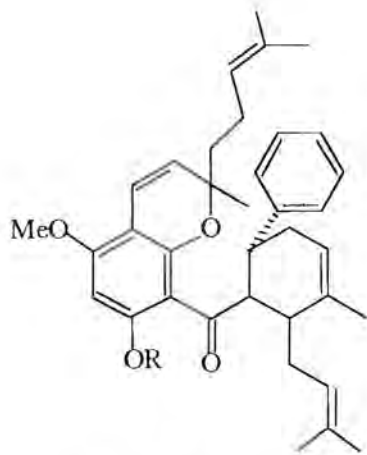


18



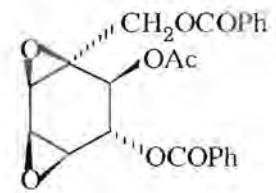
19

รูปที่ 1.6 สูตรโครงสร้างของสารที่พบในกระชาย

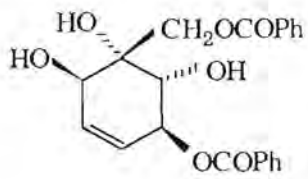


20 R = H

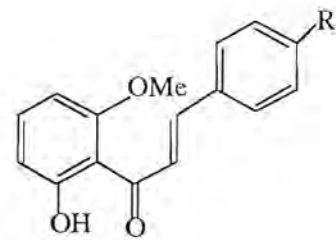
21 R = Me



22

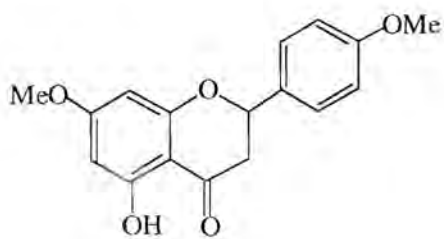


23

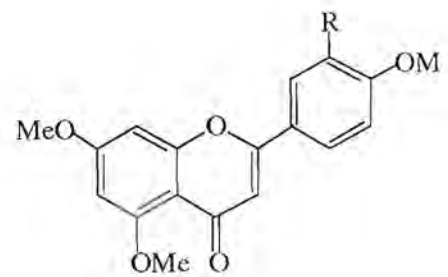


24 R = H

25 R = OMe



26



27 R = H

28 R = OMe

รูปที่ 1.6 (ต่อ)



## บทที่ 2

### การทดลองและผลการทดลอง

#### 2.1 พืชตัวอย่าง

เก็บพืชสมุนไพรทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ กระชาย เสลดพังพอน ฟ้าทะลายโจน ทองพันชั่ง ชุมเห็ดไทย ข่า กะทือ ดอกสารภี ขมิ้นชัน ขิง จากนั้นทำให้แห้ง จึงนำมาบดให้ขนาดเล็กลง ก่อนนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

#### 2.2 เครื่องมือ

นอกจากเครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการเคมีโดยทั่วไปแล้ว ยังใช้เครื่องมือดังต่อไปนี้

2.2.1 เครื่องกลั่นธรรมดา

2.2.2 เครื่องดูดอากาศ (suction pump)

2.2.3 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporator) ของบริษัท Buchi ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.2.4 เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Fisher-Johns melting point apparatus) ของบริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.5 เครื่องอ่างน้ำ (water bath)

2.2.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า

2.2.7 Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Fourier Transform) รุ่น JNM-A500 ของบริษัท Jeol ประเทศญี่ปุ่น

2.2.8 Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR) รุ่น Impact 410 ของบริษัท Nicolet ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.9 Mass Spectrometer รุ่น Trio 2000 ของบริษัท Fisons ประเทศอังกฤษ

2.2.10 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) รุ่น 303 ของบริษัท Gilson ประเทศฝรั่งเศส

2.2.11 HPLC Column ชนิด Lichrisorp Si ของบริษัท Gilson ประเทศฝรั่งเศส

2.2.12 โครมาโททรอน (Chromatotron) รุ่น 7924T ของบริษัท Harrison Research ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.13 UV lamp ใช้ตรวจสอบสารที่ดูดกลืนแสงในช่วง UV บนแผ่น TLC

## 2.3 สารเคมี

2.3.1 ตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ใช้เป็นชนิดคอมเมอร์เชียลเกรด ซึ่งได้กลั่นก่อนนำมาใช้ทุกครั้ง ได้แก่ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต, เมทานอล, เอทานอล, บิวทานอล และอะซีโตน

### 2.3.2 ตัวดูดซับ

- ซิลิกาเจลชนิด 60G Art. 7734 สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี และ 60 PF<sub>254</sub> (7749) สำหรับโครมาโทรอน, preparative TLC ของบริษัท E. Merck, Darmstadt  
- แผ่น Thin-Layer Chromatography (TLC) สำเร็จรูป ซิลิกาเจลชนิด 60 F<sub>254</sub> ของบริษัท E. Merck, Darmstadt

## 2.4 ขั้นตอนการทดลอง

แบ่งเป็นขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. การเตรียมสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต, เมทานอล
2. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นในการยับยั้งแบคทีเรีย
3. การแยกสารโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี
4. การรวมสารที่เหมือนกันจากคอลัมน์โครมาโทกราฟีเข้าด้วยกัน โดยใช้ TLC ตรวจสอบ
5. การนำสารที่รวมได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีมาทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยการ Recolumn, โครมาโทรอน, preparative TLC, PHLC และตกผลึก
6. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยเทคนิคทางสเปคโทรสโคปี คือ IR, NMR, GC-MS และ MS
7. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของสารที่แยกได้
8. สรุปผลการทดลอง

## 2.5 เทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

### 2.5.1 การกลั่น (distillation)

การกลั่นคือการแยกตัวทำละลายที่มากเกินไปออกจากสารละลายโดยให้ไอของตัวทำละลายผ่านเครื่องควบแน่น และตัวทำละลายที่ควบแน่นนี้สามารถนำกลับมาให้ได้อีก การกลั่นที่ใช้มี 2 วิธี คือ

- ก. การกลั่นแบบธรรมดา ใช้กลั่นตัวทำละลายชนิดคอมเมอร์เชียลเกรดก่อนนำมาใช้
- ข. การกลั่นแบบลดความดัน ใช้ในขั้นตอนการเก็บ crude การกลั่นวิธีนี้จะทำให้ตัวทำละลายเป็นไอก่อนถึงจุดเดือดซึ่งจะช่วยป้องกันการสลายตัวของสารที่สกัดได้ โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporator)

### 2.5.2 คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

ใช้คอลัมน์แก้วขนาดเหมาะสมกับปริมาณสารที่แยก อัตราส่วนของตัวดูดซับต่อสารที่ต้องการแยกประมาณ 20 ต่อ 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) บรรจุคอลัมน์โดยวิธีเปียก (wet packing)<sup>17</sup> ปล่อยให้ตัวทำละลายลดลงจนเกือบถึงระดับของซิลิกาเจลปิดคอลัมน์แล้วค่อยๆ บรรจุสารที่ต้องการแยกลงไป โดยสารที่ต้องการแยกควรระเหยตัวทำละลายให้แห้ง แล้วนำมาผสมกับซิลิกาเจลชนิด 60G An. 7734 โดยใช้ปริมาณซิลิกาเจลด้อยที่สุดที่ทำให้ของผสมเป็นผงละเอียด แล้วใส่ในคอลัมน์ ใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกับที่ใช้ pack column ล้างผิวภายในคอลัมน์ ปล่อยให้ ระดับของตัวทำละลายลดลงจนเกือบแห้งอีกครั้งหนึ่ง ทำซ้ำจนผิวภายในคอลัมน์สะอาด คลุมผิวหน้าของสารด้วยกระดาษกรองตัดแจกเพื่อรักษาผิวหน้าให้เรียบ แล้วชะ (elute) คอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อไป ตลอดการทดลองต้องระมัดระวังไม่ให้ตัวทำละลายแห้งไปจากผิวหน้าของซิลิกาเจล

### 2.5.3 อิน-แลร์โครมาโทกราฟี (Thin-Layer Chromatography)

ก. การเตรียมภาชนะสำหรับ develop ใช้ขวดแก้วทรงกระบอกปากกว้างที่สะอาดมีฝาปิด ขนาดพอที่จะใส่แผ่น TLC ได้สะดวก ใส่กระดาษกรองที่มีความสูงและความกว้างพอดีกับขนาดของภาชนะให้แนบติดกับผิวด้านใน เทตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไปให้สูงจากก้นภาชนะประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะให้ตัวทำละลายซึมเปียกกระดาษกรองทั้งแผ่นเพื่อให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย

ข. การแต้มสาร นำแผ่น TLC มาขีดระดับสูงสุดที่ต้องการให้ตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นไปและขีดระดับที่จะแต้มสาร ใช้ capillary tube จุ่มลงในสารละลายที่จะทดสอบ แต้มสารนั้นบนแผ่น TLC ที่ระดับเริ่มต้นให้เป็นจุดกลมที่มีจุดศูนย์กลางไม่เกิน 2 มิลลิเมตร หลังจากจุดที่แต้มสารแห้งสนิทจึงนำไป develop ต่อไป

ค. การ develop นำแผ่น TLC ที่แต้มสารเรียบร้อยแล้วจุ่มในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสมและอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย ให้จุดของสารอยู่เหนือตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดฝาภาชนะปล่อยให้ตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นมาจนถึงขีดสูงสุดที่ขีดไว้ นำแผ่น TLC ออกจากภาชนะ ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแผ่น TLC แห้ง

ง. การตรวจหาตำแหน่งของสาร นำแผ่น TLC ที่ผ่านการ develop แล้ว มาส่อง UV ดูการดูดกลืนแสง UV ของสาร หรือนำไปส่องในภาชนะที่บรรจุเกลือไอโอดีนปิดฝาของภาชนะให้สนิททิ้งไว้ให้ไอโอดีนเกิดปฏิกิริยา reversible weak complex กับสารจนปรากฏจุดสีน้ำตาลส้มหรือเหลือง บันทึกตำแหน่งของจุดนั้นๆ

### 2.5.4 โครมาโททรอน (Chromatotron)<sup>18</sup>

เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกของผสมหรือทำสารให้บริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatography) ร่วมกับแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifugal force) โดยแผ่นแก้วทรงกลม (rotor) จะถูกเคลื่อนด้วยตัวดูดซับที่ด้านบนของแผ่น และถูกทำให้หมุนด้วยมอเตอร์

ไฟฟ้าด้วยความเร็วคงที่ สารที่ต้องการแยกจะไหลไปตรงกลางแผ่นแก้วทรงกลม จากนั้นจะชะ (elute) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลาย (eluent) จะเคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับด้วยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง และตัวทำละลายจะทำให้สารแยกออกจากกันเป็นแถบ (band) อยู่บนแผ่นแก้วทรงกลม แต่ละแถบจะเคลื่อนที่ไปที่ขอบของผิวแก้ว จากนั้นแยกเก็บแต่ละแถบออกจากกัน ซึ่งสามารถตรวจสอบสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค Thin-Layer Chromatography (TLC)

## 2.6 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (antimicrobial)

- ซึ่งสิ่งสกัดจากสมุนไพรร้อยละ 0.01 กรัม ในตัวทำละลาย (เอทานอล) 1 มิลลิลิตร
- เชื้อที่ใช้ทดสอบ : เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* *Salmonella derby*, *Escherichai coli*, *Listeria monoceylogenes* และกลุ่มเชื้อที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (Flat sour spoilage)
- การเลี้ยงเชื้อ : stock ของเชื้อเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar (TSA) slant เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อทุกเดือน
- เมื่อต้องการทดสอบ : ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงบน Tryptic Soy Broth (TSB) ออบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วป้ายเชื้อให้เต็มผิวหน้าของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ STA ด้วยไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมบน Agar ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร หยอดสิ่งสกัดจากสมุนไพรร้อยละ 30 ไมโครลิตรต่อหลุม เลี้ยงเชื้อ STA ที่ได้ป้ายเชื้อที่จะทดสอบลงไป ออบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง วัด clear zone ที่เกิดขึ้น (ผล positive จะต้องมีการวัด clear zone มากกว่า 4 มิลลิเมตร)

## 2.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น

นำพืชสมุนไพรรวม 10 ชนิดไปแช่ในเอทานอลประมาณ 3 วัน กรองสารละลายที่สกัดได้แล้วระเหยออกโดยใช้เครื่องสุญญากาศแบบหมุน นำเอทานอลที่ได้ไปแช่สมุนไพรรวมต่อไปอีก ทำซ้ำเช่นนี้ทั้งหมด 2 ครั้ง หลังจากไล่เอทานอลออกหมดแล้ว จะได้สิ่งสกัดเอทานอล (crude ethanol extract) จากนั้นจึงนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

## ผลการทดสอบ

ตารางที่ 2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดเอทานอลของสมุนไพร

สมุนไพร	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. derby</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. momo</i>	FS.
รากกระชายเหลือง	++	++	+	++	++	++
เสลดพังพอน	+	++	-	-	+	-
ฟ้าทะลายโจน	-	+	-	-	+	+
ทองพันชั่ง	++	+	++	-	++	++
ชุมเห็ดไทย	+	-	-	-	-	-
ข่า	++	+	-	-	+	+
กระเทียม	++	+	-	-	+	+
ดอกสารภี	++	++	+	+	++	++
ขมิ้นชัน	-	-	-	-	-	-
ขิง	+	+	-	+	++	++

หมายเหตุ สัญลักษณ์ - หมายถึง not inhibited

+ หมายถึง weakly inhibited (6-10 mm in diameter)

++ หมายถึง highly inhibited (> 10 mm in diameter)

## 2.8 การเตรียมวัตถุดิบและการสกัด

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นพบว่าดอกสารภีและรากกระชายเหลืองให้ฤทธิ์ที่ดี จึงนำดอกสารภีและรากกระชายเหลืองมาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

### ก. การเตรียมวัตถุดิบและการสกัดดอกสารภี

#### 2.8.1 การสกัดด้วยเฮกเซน

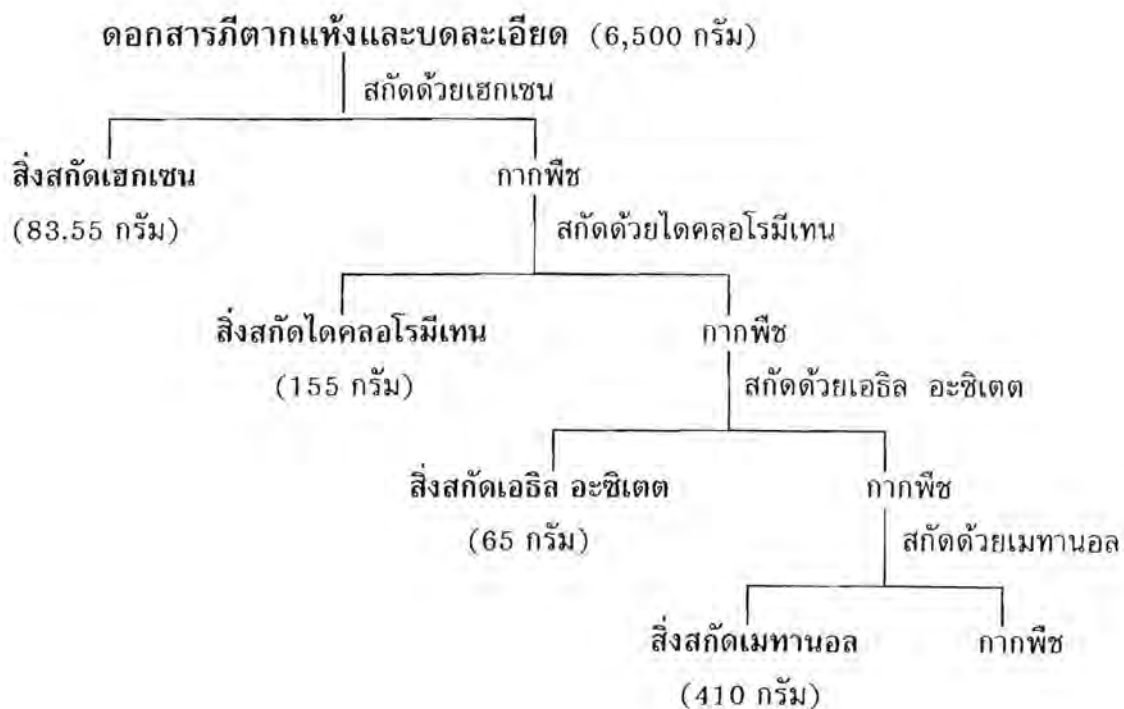
แช่ดอกสารภีตากแห้งที่บดละเอียดหนัก 6.500 กรัม ลงในเฮกเซนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 3 วัน แล้วนำสารละลายที่ได้มากรองและนำไปกลั่นแยกเฮกเซนออก นำเฮกเซนที่กลั่นได้ไปแช่ดอกสารภีอีกครั้ง ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่เฮกเซนหมดแล้วจะได้สิ่งสกัดเฮกเซน (crude hexane extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลหนัก 83.55 กรัม ซึ่งจะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป

ที่กลั่นได้มาแช่ดอกสารภีต่อไปอีก ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่ไดคลอโรมีเทนหมดแล้วจะได้สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (crude dichlorometane extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลหนัก 155 กรัม ซึ่งจะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป

2.8.3 การสกัดด้วยเอธิล อะซิเตต นำกากของดอกสารภีที่เหลือหลังจากสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนไปแล้วไปแช่ในเอธิล อะซิเตตประมาณ 3 วัน กรองสารละลายที่สกัดได้แล้วกลั่นแยกเอธิล อะซิเตตออก นำเอธิล อะซิเตตที่กลั่นได้มาแช่ดอกสารภีต่อไปอีก ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่เอธิล อะซิเตตแล้วจะได้สิ่งสกัดเอธิล อะซิเตต (crude ethyl acetate extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้มหนัก 65 กรัม ซึ่งจะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป

#### 2.8.4 การสกัดด้วยเมทานอล

นำกากของดอกสารภีที่เหลือหลังจากสกัดด้วยเอธิล อะซิเตตไปแล้วไปแช่ในเมทานอลประมาณ 3 วัน กรองสารละลายที่สกัดได้แล้วกลั่นแยกเมทานอลออก นำเมทานอลที่กลั่นได้มาแช่ดอกสารภีต่อไปอีก ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่เมทานอลหมดแล้วจะได้สิ่งสกัดเมทานอล (crude methanol extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้มหนัก 410 กรัม ซึ่งจะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป



แผนภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการสกัดดอกสารภีด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

## ข. การเตรียมวัตถุดิบและการสกัดจากรากกระชายเหลือง

### 2.8.5 การสกัดด้วยเฮกเซน

นำรากกระชายเหลืองตากแห้งบดละเอียดหนัก 1,385 กรัม ในเฮกเซนที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 วัน แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มากรองแล้วกลั่นแยกเฮกเซนออก นำเฮกเซนที่กลั่นได้มาแช่รากกระชายเหลืองอีก ทำซ้ำเช่นนี้ทั้งหมด 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่เฮกเซนหมดแล้วจะได้สิ่งสกัดเฮกเซน (crude hexane extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีส้ม หนัก 20.66 กรัม

### 2.8.6 การสกัดด้วยเอทานอล

นำรากกระชายเหลืองหลังจากสกัดด้วยเฮกเซน แล้วไปแช่ในเอทานอลประมาณ 3 วัน กรองสารละลายที่สกัดได้แล้วระเหยเอทานอลออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน นำเอทานอลที่ระเหยได้มาแช่รากกระชายเหลืองต่อไปอีก ทำซ้ำเช่นนี้ทั้งหมด 2 ครั้ง หลังจากกลั่นไล่เอทานอลออกหมดแล้วจะได้ส่วนที่ละลายในเมทานอลจึงนำส่วนนี้ไป partition ระหว่างน้ำกับไดคลอโรมีเทนเป็นเวลา 1 สัปดาห์จะได้สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (crude dichloro-methane extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีส้มหนัก 49.82 กรัม

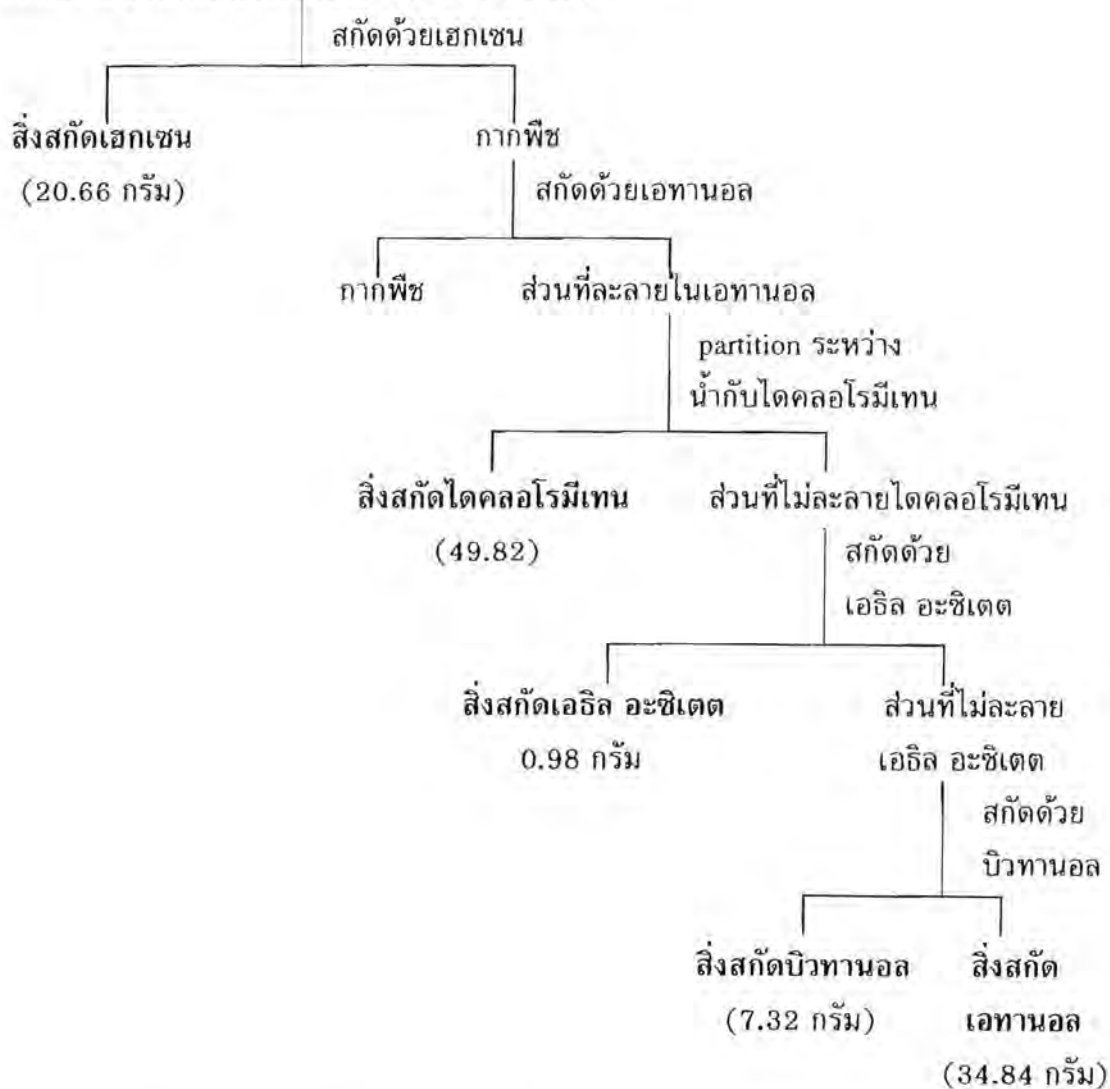
### 2.8.7 การสกัดด้วยเอซิล อะซิเตต

นำส่วนที่ไม่ละลายในไดคลอโรมีเทนมาสกัดด้วยเอซิล อะซิเตต โดยใช้กรวยแยกทำการสกัดหลาย ๆ ครั้งจนไม่มีส่วนที่ละลายในเอซิล อะซิเตตเหลืออยู่ในส่วนที่ละลายในเมทานอล จึงนำส่วนที่ละลายในเอซิล อะซิเตตทั้งหมดไประเหยเอาเอซิล อะซิเตตออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนเอซิล อะซิเตตออกหมดจะได้สิ่งสกัดเอซิล อะซิเตต (crude ethyl acetate extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีส้มแดง หนัก 0.98 กรัม

### 2.8.8 การสกัดด้วยบิวทานอล

นำส่วนที่เหลือจากการสกัดด้วยเอซิล อะซิเตตมาสกัดด้วยบิวทานอลโดยใช้กรวยแยกทำการสกัดหลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งไม่มีส่วนที่ละลายในบิวทานอลเหลืออยู่ในส่วนที่ละลายในเมทานอล จึงนำส่วนที่ละลายในบิวทานอลและเมทานอลไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนตัวทำละลายออกหมด จะได้สิ่งสกัดบิวทานอล (crude butanal extract) ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง หนัก 7.32 กรัม และสิ่งสกัดเมทานอล (crude methanol extract) ซึ่งมีลักษณะของเหลวหนืดสีส้มหนัก 34.84 กรัม

รากกระชายเหลืองตากแห้ง (1,385 กรัม)



แผนภาพที่ 2 ขั้นตอนการสกัดรากกระชายเหลืองด้วยตัวทำละลาย



ตารางที่ 2.2 ผลการสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดต่างๆ จากดอกสารภี

สิ่งสกัด	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. derby</i>	<i>E. coll</i>	<i>L. mono</i>	F. S.
เฮกเซน	++	++	-	-	++	++
ไดคลอโรมีเทน	+	+	-	-	++	++
เอธิล อะซิเตต	+	+	-	-	++	+
เมทานอล	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดต่างๆ จากรากกระชายเหลือง

สิ่งสกัด	<i>E coll</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. derby</i>	<i>L. mono</i>
เฮกเซน	-	-	-	-	-
ไดคลอโรมีเทน	+	-	+	-	-
เอธิล อะซิเตต	-	-	+	+	+
บิวทานอล	+	-	+	+	+
เมทานอล	+	-	+	+	-

**หมายเหตุ** สัญลักษณ์ - หมายถึง not inhibited  
 + หมายถึง weakly inhibited (6-10 mm indiameter)  
 ++ หมายถึง highly inhibited (> 10 mm in diameter)

จากตารางที่ 2 พบว่าสิ่งสกัดเฮกเซนมีฤทธิ์ที่ตีที่สุดต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ จึงเลือกสิ่งสกัดเฮกเซนของดอกสารภีมาทำการแยกสารโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี และจากตารางที่ 2.3 จะเห็นว่าสิ่งสกัดเฮกเซนเท่านั้น ที่ไม่มีฤทธิ์เลยต่อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ดังนั้นจึงได้นำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนและเมทานอลมาทำการแยกสารโดยใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี

## 2.9 การแยกสาร

### 2.9.1 การแยกสารจากสิ่งสกัดของดอกสารภี

นำสิ่งสกัดเฮกเซนหนัก 83.55 กรัม มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยใช้ซิลิกาเจลเบอร์ 1734 เป็นตัวดูดซับ แล้วชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงลำดับตามความมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยเริ่มต้นจากสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน, สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเอธิล อะซิเตต, เอธิล อะซิเตต

ตามลำดับ ไซโคลลัมน์ครั้งละ 500 มิลลิลิตร กลั่นสารละลายที่ได้โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporator) จะมีปริมาตรเหลือประมาณ 10-20 มิลลิลิตร จึงถ่ายใส่ขวดรูปกรวยขนาด 50 มิลลิลิตร ต้มไล่ตัวทำละลายบนเครื่องอังไอน้ำจนเกือบแห้ง นำสารละลายแต่ละขวดมาทดสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วย TLC จากนั้นรวมส่วนที่ให้ผลเหมือนกันเข้าด้วยกัน

ตารางที่ 2.4 แสดงผลการแยกสิ่งสกัดเฮกเซนโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ตัวทำละลาย	ขวดลำดับที่	ลักษณะสาร	น้ำหนัก (กรัม)
10% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	1-5	น้ำมันสีเหลือง	2.87
20% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	6-8	ไขสีขาว	1.45
30% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	9-10	ไขสีขาว	0.83
30% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	11-20	ไขสีขาวในน้ำมันสีเหลือง	3.12
50% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	21-33	ของเหลวหนืดสีเหลือง	5.62
80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	34-46	ของเหลวหนืดสีส้ม	9.94
100% ไดคลอโรมีเทน	47-82	ของเหลวสีน้ำตาลอมเหลือง	13.32
30% เอธิล อะซิเตตในไดคลอโรมีเทน	83-96	ของเหลวสีน้ำตาลดำ	17.54
30% เอธิล อะซิเตตในไดคลอโรมีเทน	97-104	ของเหลวหนืดสีเหลือง	1.38
50% เอธิล อะซิเตตในไดคลอโรมีเทน	105-156	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล	8.93
100% เมทานอล	157-158	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล	1.02

### 2.9.2 การแยกสารจากสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนของรากกระชายเหลือง

นำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนหนัก 23 กรัมมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยใช้ซิลิเจลเบอร์ 7734 เป็นตัวดูดซับ แล้วไซโคลลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงลำดับตามความขี้จากน้อยไปหามาก โดยเริ่มจากเฮกเซน, สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, สารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน และเมทานอลตามลำดับ ไซโคลลัมน์ครั้งละ 500-600 ลูกบาศก์เซนติเมตร กลั่นสารละลายที่ชะได้โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนมีปริมาตรเหลือประมาณ 10-20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มไล่ตัวทำละลายบนเครื่องอังไอน้ำจนเกือบแห้ง นำสารละลายแต่ละขวดมาทดสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วย T.L.C. จากนั้นรวมส่วนที่ให้ผลเหมือนกันเข้าด้วยกัน

ตารางที่ 2.5 ผลการแยกสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ตัวทำละลาย	ขวดลำดับที่	ลักษณะสาร	น้ำหนัก (กรัม)
เฮกเซน	1-11	-	0.07
5% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	12-21	-	0.19
10% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	22-31	ของแข็งสีขาวติดกันขวด	0.29
20% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	32-41	ของแข็งสีขาวติดกันขวด	0.37
30% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	42-47	น้ำมันในสีเหลือง	1.98
30-40% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	48-57	ของแข็งสีเหลืองในน้ำมันสีส้ม	5.13
40-60% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	58-69	ของแข็งสีเหลือง (สาร 4)	4.87
60-70% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	70-85	ของเหลวหนืดสีส้ม	2.01
80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	86-93	ของแข็งในของเหลวหนืดสีส้ม (สาร 5)	1.60
90% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	94	ของแข็งสีเหลือง	0.35
90-100% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	95-100	ของแข็งสีเหลือง (สาร 6)	1.13
100% ไดคลอโรมีเทน - 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน	101-117	ของเหลวหนืดสีส้ม	0.40
5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน	118-123	ของเหลวหนืดสีส้ม (สาร 7)	0.31
5-20% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน	124-140	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	0.74
100% เมทานอล	141-142	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	0.11

### 2.9.3 การแยกสารจากสิ่งสกัดเอทานอลของรากกระชายเหลือง

นำสิ่งสกัดเอทานอล หนัก 29.36 กรัม มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยใช้ซิลิกาเจลเบอร์ 7734 เป็นตัวดูดซับ แล้วชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงลำดับตามความมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยเริ่มต้นด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, สารละลายผสมระหว่างเอธิล อะซิเตดกับไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตด, สารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับเอธิล อะซิเตด และเมทานอลตามลำดับ ชะคอลัมน์ครั้งละ 500-600 ลูกบาศก์เซนติเมตร กลั่นสารละลายที่ชะได้โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนมีปริมาตรเหลือประมาณ 50-60 ลูกบาศก์เซนติเมตร จึงถ่ายใส่ขวดรูปกรวยขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ตัวทำละลายบนเครื่องอังไอน้ำจนเกือบแห้ง นำสารละลายขวดมาทดสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วย TLC จากนั้นรวมส่วนที่ให้ผลเหมือนกันเข้าด้วยกัน

### ตารางที่ 2.6 ผลการแยกสิ่งสกัดเอทานอล โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ตัวทำละลาย	ขวดลำดับส่วน	ลักษณะส่วน	น้ำหนัก (กรัม)
60% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	1-7	น้ำมันสีเหลือง	0.58
70% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	8-11	ของแข็งสีเหลือง (สาร 4)	0.71
70% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	12	ของแข็งสีเหลือง	0.24
70-80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	13-16	ของแข็งสีเหลือง (สาร 5)	1.56
80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	17-19	ของเหลวหนืดสีส้ม	0.97
90% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน	20-29	ของเหลวหนืดสีเหลือง	2.19
90% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน 5% เอธิล อะซิเตด ในไดคลอโรมีเทน	30-47	ของเหลวหนืดสีเหลือง	1.54
10-30% เอธิล อะซิเตดในคลอโรมีเทน	48-69	ของแข็งสีเหลือง (สาร 7)	1.83
40-70% เอธิล อะซิเตด ในไดคลอโรมีเทน	70-100	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	1.91
80-100% เอธิล อะซิเตด ในไดคลอโรมีเทน	101-120	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	0.96

ตารางที่ 2.6 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	ขวด ลำดับส่วน	ลักษณะ	น้ำหนัก (กรัม)
100% เอธิล อะซิเตต-5% เมทานอลในเอธิล อะซิเตต	121-136	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	3.75
5-10% เมทานอลในเอธิล อะซิเตต	137-141	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	0.67
10-30% เมทานอลในเอธิล อะซิเตต	142-157	ของแข็งสีส้มในน้ำมันสี-เหลือง	9.45
100% เมทานอล	158	ของแข็งสีส้มติดกันขวด	0.40

## 2.10 การทำสารให้บริสุทธิ์ และการตรวจลักษณะของสารจากดอกสารภี

### 2.10.1 การทำสาร 1 ให้บริสุทธิ์และตรวจสูตรโครงสร้าง

ได้จากลำดับส่วนที่ 36-46 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของ สิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 2.4) ซึ่งถูกชะด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน สารเริ่มแรก มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีส้ม สารที่ได้นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ (recolumn) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับแล้วชะด้วย 5% และ 20% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน ตามลำดับ ได้สารทั้งหมด 31 ส่วน นำส่วนที่ 15-16 ซึ่งเมื่อนำไประเหยตัวทำละลายออกแล้ว พบว่ามีส่วนที่เป็นของแข็ง จึงกรองแยกเอาส่วนที่เป็นของแข็งออกมา นำไปตกผลึกโดยใช้สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน จะได้สาร 1 ซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองหนัก 470 มิลลิกรัม คิดเป็น  $7.23 \times 10^{-3}\%$  มีจุดหลอมเหลว 139-140 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.52 (ซิลิกาเจล : 20% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน) สาร 1 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตตละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซนและเมทานอล

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปีที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารคือ IR, MS,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวก รูปที่ 1-6 เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน

### 2.10.2 การทำสาร 2 และสาร 3 ให้บริสุทธิ์และตรวจสูตรโครงสร้าง

ได้จากลำดับส่วนที่ 36-46 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของ สิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 4) ซึ่งถูกชะด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน สารเริ่มแรกมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีส้ม สารที่ได้นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ (recolumn) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับแล้วจะด้วย 5%, 10% และ 20% เอธิล อะซิเตตใน

เฮกเซนตามลำดับ ได้สารทั้งหมด 31 ส่วน ส่วนที่ 18-21 มาแยก โดยใช้ HPLC ซึ่งมีคอลัมน์เป็นแบบซิลิกาเจล ใช้ flow rate ของ mobile phase (5% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน) เป็น 1.8 ml/min. จากโครมาโทแกรมพบว่า มี 2 peak (ภาคผนวกรูปที่ 7) จึงแยกออกโดยใช้วิธี preparative TLC จะได้สาร 2 เป็นนของเหลวสีเหลืองส้ม หนัก 3.7 มิลลิกรัม คิดเป็น  $5.69 \times 10^{-5}$  % มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.20 (ซิลิกาเจล : 25% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน) ได้สาร 3 ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว หนัก 17 มิลลิกรัม คิดเป็น  $2.62 \times 10^{-4}$  % มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.17 (ซิลิกาเจล : 25% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน) ละลายได้ดีในเอธิล อะซิเตตและไดคลอโรมีเทน ละลายได้เล็กน้อยในเมทานอลและเฮกเซน

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร คือ  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวกรูปที่ 8-17

## 2.11 การทำให้สารบริสุทธิ์และการตรวจลักษณะของสารจากรากกระชายเหลือง

### 2.11.1 การทำสาร 4 ให้บริสุทธิ์และการตรวจสอบโครงสร้าง

สาร 4 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้จากลำดับส่วนที่ 58-69 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 40-60% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และจากลำดับส่วนที่ 8-11 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเอทานอล (ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 70% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซนและเมื่อนำสารมาตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน จะได้ผลึกเป็นแผ่นแวววาวสีขาวหนัก 3.01 กรัม มีจุดหลอมเหลว 101-102 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.51 (ซิลิกาเจล : ไดคลอโรมีเทน) สาร 4 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต และ เมทานอลละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปีที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารคือ IR, MS,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวกรูปที่ 18-22

### 2.11.2 การทำสาร 5 ให้บริสุทธิ์ และการตรวจสูตรโครงสร้าง

สาร 5 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ได้จากลำดับส่วนที่ 13-16 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเอทานอล(ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 70-80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และเมื่อนำสารมาตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน จะได้ผลึกเป็นแผ่นแวววาวสีเหลืองหนัก 0.12 กรัม จุดหลอมเหลว 155-157 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.33 (ซิลิกาเจล : ไดคลอโรมีเทน) สาร 5 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต และเมทานอล ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร คือ IR, MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวก รูปที่ 23-27

#### 2.11.3 การทำสาร 6 ให้บริสุทธิ์ และการตรวจสูตรโครงสร้าง

สาร 6 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้จากลำดับส่วนที่ 95-100 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 90-100% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และเมื่อนำสาร 6 มาตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน จะได้ผลึกรูปเข็มสีขาว หนัก 0.04 กรัม มีจุดหลอมเหลว 203-205 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.53 (ซิลิกาเจล : 10% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน) สาร 6 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต และ เมทานอล ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร คือ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวก รูปที่ 28-30

#### 2.11.4 การทำสาร 7 ให้บริสุทธิ์ และการตรวจสูตรโครงสร้าง

สาร 7 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้จากลำดับส่วนที่ 118-123 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน และจากลำดับส่วนที่ 48-69 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน และจากลำดับส่วนที่ 48-69 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเอทานอล (ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 10-30% เอธิล อะซิเตต ในไดคลอโรมีเทน และเมื่อนำสาร 7 มาตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน จะได้ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.10 กรัม มีจุดหลอมเหลว 224-226 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.41 (ซิลิกาเจล : 10% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน) สาร 7 ละลายได้ดีในเอธิล อะซิเตต และ เมทานอล ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน

เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ที่ใช้ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร คือ IR, MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT 90 และ DEPT 135 ซึ่งสเปกตรัมต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาคผนวก

## บทที่ 3

### การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง และผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์

#### 3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 1

สาร 1 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองหนัก 470 มิลลิกรัม มีจุดหลอมเหลว 139-140 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.52 (ซิลิกาเจล : 20% เอธิล อะซิเตตในเฮกเซน) สาร 1 ได้มาจากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 2.4) ซึ่งถูกชะด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ (recolumn) และนำไปตกผลึกโดยใช้สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน

อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 1 (KBr ภาคผนวก รูปที่ 1) พบแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 1

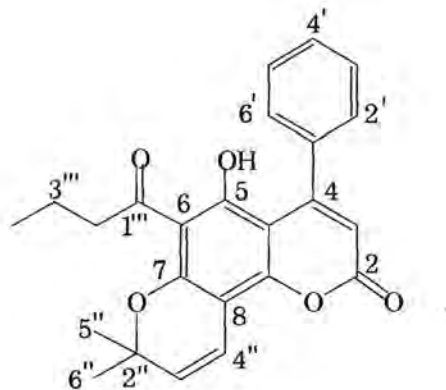
ความถี่ของการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	การแปลความหมาย
2880-2960	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของ $\text{CH}_2$ , $\text{CH}_3$
1740	สูง	C=O สั่นแบบยืดของเอสเทอร์
1630	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืดของแอลคีน
1607	สูง	C=C สั่นแบบยืดของอะโรมาติก
1418	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืดของอะโรมาติก
1112	ปานกลาง	สั่นแบบยืดของ C-O

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 1 (ภาคผนวกรูปที่ 2-3) ปรากฏสัญญาณที่  $\delta(\text{ppm}) = 0.97$  (3H, t,  $J = 7.32, 7.32$ ) และ  $1.58$  (6H, s) เป็นเมทิลโปรตอน ( $-\text{CH}_3$ ),  $1.68$  (2H, m) และ  $3.0$  (2H, t,  $J = 7.3.7.6$ ) เป็นเมทิลีนโปรตอน ( $-\text{CH}_2-$ ),  $5.61$  (1H, d,  $J = 10.1$ )  $5.96$  (1H, s) และ  $6.87$  (1H, d,  $J = 10.1$ ) เป็นโอลิฟินิกโปรตอน ( $-\text{CH}=\text{}$ ),  $7.29$  (2H, m) และ  $7.37$  (3H, m) เป็นอะโรมาติกโปรตอน (ArH),  $14.71$  (1H, s) เป็นไฮดรอกซิลโปรตอน



คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (ภาคผนวกรูปที่ 4) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 24 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวกรูปที่ 5) ทำให้ทราบว่า มีสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ ) จำนวน 3 สัญญาณ ที่ 13.8, 28.3x2 ppm, มีสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 2 สัญญาณ ที่ 18.2, 46.8 ppm. มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{C}$ ) จำนวน 8 สัญญาณที่ 112.7, 115.5, 126.3, 127.1x2, 127.6x2, 128.2 ppm ส่วนสัญญาณที่เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-\text{C}=\text{C}$ ) จำนวน 11 สัญญาณ ที่ 79.8, 101.5, 102.2, 107.0, 139.2, 154.8, 156.4, 158.2, 159.6, 164.4 และ 207.0 ppm

จากการเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 1 กับเอกสารวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ พบว่า สัญญาณดังกล่าวสอดคล้องกับสัญญาณของ 6-butyl-5-hydroxy-4-phenylseselin ดังแสดงในตารางที่ 3.2



6-butyl-5-hydroxy-4-phenylseselin

ตารางที่ 3.2 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 1 กับ 6-buteryl-5-hydroxy-4-phenylseselin<sup>6</sup>

โปรตอนที่ต่อกับคาร์บอน	chemical shift (ppm)	
	สาร 1 (500 MHz)	6-buteryl-5-hydroxy-4-phenylseselin (60 MHz)
4''	0.97 (3H, t, $J=7.32$ )	0.98 (3H, t, $J=7$ )
3''	1.68 (2H, m)	1.43-1.90 (2H, m)
5'', 6''	1.58 (6H, s)	1.65 (6H, s)
2''	3.03 (2H, t, $J=7.3, 7.6$ )	3.98 (2H, t, $J=7$ )
3''	5.61 (1H, d, $J=10.1$ )	5.65 (1H, d, $J=10$ )
4''	6.87 (1H, d, $J=10.1$ )	6.94 (1H, d, $J=10$ )
3	5.96 (1H, s)	6.01 (1H, s)
2', 3', 4', 5', 6'	7.29 (2H, m), 7.37 (3H, m)	7.40 (5H, s)
OH	14.71 (1H, s)	14.73 (1H, s)

แมสสเปกตรัมของสาร 1 (ภาคผนวกรูปที่ 6) ยังช่วยยืนยันโครงสร้างของสารอีกด้วย โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของ 6-buteryl-5-hydroxy-4-phenylseselin ที่ค้นคว้าจากเอกสารวิจัย<sup>6</sup> ได้ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของสาร 1 กับ 6-buteryl-5-hydroxy-4-phenylseselin<sup>5</sup>

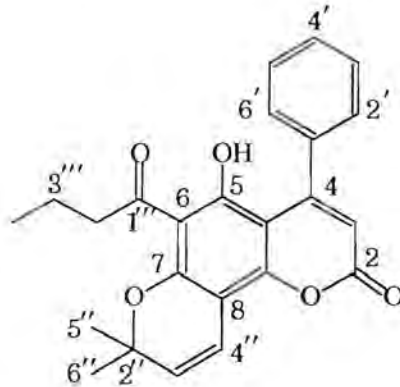
m/s	
สาร 1	6-buteryl-5-hydroxy-4-phenylseselin
390 (85%)	390 (44%)
375 (100%)	375 (100%)
357 (20%)	357 (16%)
347 (14%)	347 (14%)

นอกจากนี้ยังยืนยันสูตรโครงสร้างของสาร 1 ด้วยคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์เป็นครั้งแรกโดยเปรียบเทียบกับสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ที่เคยมีผู้รายงานมาแล้ว<sup>19</sup> ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ของสาร 1

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm) สาร 1 (125 MHz/CDCl <sub>3</sub> )
2	159.6
3	112.7
4	156.4
4 <sub>a</sub>	102.2
5	164.4
6	107.0
7	154.8
8	101.5
8 <sub>a</sub>	158.2
1'	139.2
2', 6'	127.6
3', 5'	127.1
4'	128.2
2''	79.8
3''	126.3
4''	115.5
5'', 6''	28.3
1'''	207.0
2'''	46.8
3'''	18.2
4'''	13.8

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดและจุดหลอมเหลวของสาร 1 จึงสรุปได้ว่าสาร 1 คือ 6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของสาร 1 (6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin)

### 3.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 2

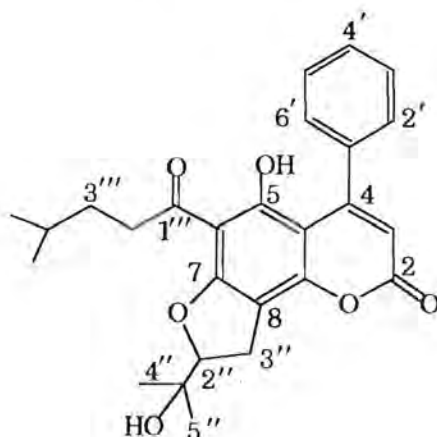
สาร 2 เป็นของเหลวสีเหลืองส้ม มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.20 (ซิลิกาเจล : 25% เอธิลอะซิเตตในเฮกเซน) ได้จากลำดับส่วนที่ 36-46 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 2.4) ซึ่งถูกชะด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ และการทำ preparative TLC

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 2 (ภาคผนวกรูปที่ 8-10) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่  $\delta(\text{ppm}) = 7.38(3\text{H}, \text{m})$  และ  $7.28(2\text{H}, \text{m})$  เป็นอะโรมาติกโปรตอน ( $\text{ArH}$ ),  $14.45(1\text{H}, \text{s})$  และ  $1.13(1\text{H}, \text{m})$  เป็นไฮดรอกซีโปรตอน ( $\text{OH}$ ),  $5.92(1\text{H}, \text{s})$  เป็นโอลิฟินิกโปรตอน ( $-\text{CH}=\text{)$   $4.89(1\text{H}, \text{t}, J=9.15, 8.85)$  และ  $2.18(1\text{H}, \text{m})$  เป็นเมไทด์โปรตอน ( $-\text{CH}-$ ),  $3.29(2\text{H}, \text{d}, J=8.85)$ ,  $2.95(1\text{H}, \text{dd}, J=6.71, 6.71)$ ,  $2.82(1\text{H}, \text{dd}, J=7.02, 7.02)$  และ  $0.87(2\text{H}, \text{m})$  เป็นเมทิลีนโปรตอน ( $-\text{CH}_2-$ ),  $1.41(3\text{H}, \text{s})$   $1.29(3\text{H}, \text{s})$   $1.23(3\text{H}, \text{s})$ ,  $0.95(3\text{H}, \text{m})$  เป็นเมทิลโปรตอน ( $-\text{CH}_3$ )

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (ภาคผนวกรูปที่ 11) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 25 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวกรูปที่ 12) ทำให้ทราบว่า มีสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ ) จำนวน 4 สัญญาณ ที่ 22.6, 22.7, 24.8, 26.2 ppm, มีสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 3 สัญญาณ 26.7, 29.7, 52.0 ppm, มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{)$  จำนวน 6 สัญญาณที่ 112.7, 127.2x2, 127.6x2, 128.2 ppm สัญญาณของ tertiary ( $-\text{CH}-$ ) จำนวน 2 สัญญาณ ที่ 25.2, 72.8 ppm, ส่วน

สัญญาณที่เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-C=$ ) จำนวน 10 สัญญาณ ที่ 71.6, 102.4, 103.1, 105.1, 139.1, 155.6, 159.7, 164.2, 164.3 และ 205.3 ppm

จากข้อมูลข้างต้นเทียบกับสารที่มีสเปกตรัมใกล้เคียงกัน สูตรโครงสร้างของสาร 2 น่าจะเป็นดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 2 (5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -) hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuran)-4-phenylcoumarin)

ตารางที่ 3.5 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ของสาร 2

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm) สาร 2 (125 MHz/ $CDCl_3$ )
2	159.7
3	112.7
4	156.6
4 <sub>a</sub>	103.1
5	164.3
6	105.1
7	155.6
8	102.4
8 <sub>a</sub>	104.2
1'	139.1
2', 6'	127.2

ตารางที่ 3.5 (ต่อ)

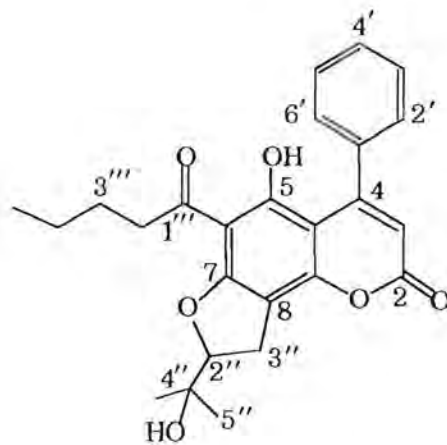
คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm) สาร 2 (125 MHz/CDCl <sub>3</sub> )
3', 5'	127.6
4'	128.2
2''	92.8
3''	26.7
4''	71.6
5''	26.2
6''	24.8
1'''	205.3
2'''	52.0
3'''	29.7
4'''	25.2
5'''	22.6
6'''	22.7

### 3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 3

สาร 3 เป็นของแข็งกิ่งเลวสีเหลือง มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.17 (ซิลิกาเจล : 25% เอธิลอะซิเตตในเฮกเซน) ได้จากลำดับส่วนที่ 36-46 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 2.4) ซึ่งถูกชะด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ และการทำ Preparative TLC

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl<sub>3</sub>) ของสาร 3 (ภาคผนวกรูปที่ 13-15) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่  $\delta$ (ppm)=7.38 (3H, m) และ 7.28 (2H, m) เป็นอะโรมาติกโปรตอน (ArH), 14.35 (1H, s) เป็นไฮดรอกซีโปรตอน (OH), 5.92 (1H, s) เป็นโอลิฟินิกโปรตอน (-CH=), 4.89 (1H, t,  $J=9.16, 8.85$ ) เป็นเมทิลโปรตอน (-CH-), 3.29 (2H, d,  $J=8.85$ ), 2.98 (2H, m), 1.68 (2H, m), 0.85 (2H, m) เป็นเมทิลีนโปรตอน, 1.41 (3H, s), 1.29 (3H, s), 0.96 (3H, t,  $J=7.32, 7.32$ ) เป็นเมทิลโปรตอน และ 1.24 (1H, s) เป็นไฮดรอกซีโปรตอน

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (ภาคผนวกรูปที่ 16) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 24 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวกรูปที่ 17) ทำให้ทราบว่า มีสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ ) จำนวน 3 สัญญาณที่ 13.8, 24.8, 26.2 ppm, มีสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 3 สัญญาณที่ 26.7, 45.2 ppm, มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{C}$ ) จำนวน 6 สัญญาณ ที่ 112.7, 127.2x2, 127.6x2, 128.2 ppm, สัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}-$ ) จำนวน 2 สัญญาณที่ 25.2, 72.8 ppm, ส่วนสัญญาณที่เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-\text{C}=\text{C}$ ) จำนวน 10 สัญญาณที่ 71.6, 102.4, 103.1, 105.1, 139.1, 155.6, 159.7, 164.2, 164.3 และ 205.3 ppm จากข้อมูลข้างต้นเทียบกับสารที่มีสเปกตรัมใกล้เคียงกัน สูตรโครงสร้างของสาร 3 น่าจะเป็น ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 3 (5-hydroxy-6-pentyryl-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuran-yl)-4-phenylcoumarin)

ตารางที่ 3.6 สัญญาณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ของสาร 3

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm) สาร 3 (125 MHz/ $\text{CDCl}_3$ )
2	159.7
3	112.7
4	156.6
4 <sub>a</sub>	103.1
5	164.3
6	105.1
7	155.6
8	102.4
8 <sub>a</sub>	164.2
1'	139.1
2', 6'	127.2
3', 5'	127.6
4'	128.2
2''	92.8
3''	26.7
4''	71.6
5''	26.2
6''	24.8
1'''	205.3
2'''	45.2
3'''	29.7
4'''	17.9
5'''	13.8



### 3.4 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 4

สาร 4 มีลักษณะเป็นแผ่นของแข็งสีขาวแวววาว หนัก 3.01 กรัม จุดหลอมเหลว 101-102 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.51 (ซิลิกาเจล : ไดคลอโรมีเทน) สาร 4 ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 40-60% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซนและจากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดเอทานอล (ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 70% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr, ภาคผนวก รูปที่ 18) พบแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญแสดงดังในตารางที่ 3.7

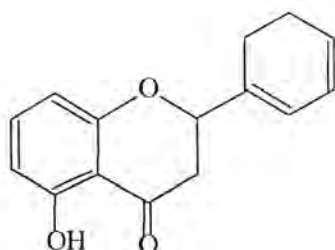
ตารางที่ 3.7 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 4

ความถี่ของการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	การแปลความหมาย
3500-3000	ต่ำ	OH สั่นแบบยืด
2970	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1644	สูง	C=O สั่นแบบยืดของคอนจูเกตคีโตน
1300-1000	สูง	C-O สั่นแบบยืด

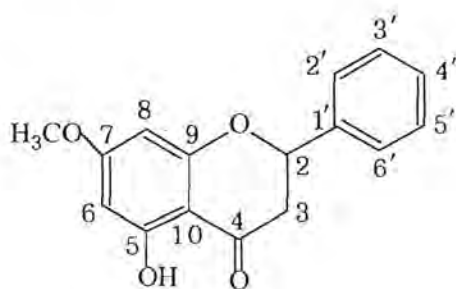
จากข้อมูลดังกล่าว สรุปได้ว่าโมเลกุลของสาร 4 อย่างน้อยจะต้องประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซี, วงอะโรมาติก และ คอนจูเกตคีโตน

จากข้อมูลของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (ภาคผนวก รูปที่ 19-20) คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ (ภาคผนวก รูปที่ 21) และ DEPT คาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ (ภาคผนวก รูปที่ 22) ทำให้ทราบว่า มีคาร์บอน 16 สัญญาณ และโปรตอน 14 สัญญาณ และมีออกซิเจน 2 สัญญาณ จากหมู่ไฮดรอกซี (OH) และเมทอกซี ( $\text{OCH}_3$ ) ดังนั้นจึงได้สูตรโมเลกุลโดยประมาณเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$  จากแมสสเปกตรัม (ภาคผนวก รูปที่ 23) ทำให้ทราบว่าสาร 4 มีมวลโมเลกุล 270 จะเห็นว่ายังขาดออกซิเจนอีก 2 อะตอม คือจากหมู่คาร์บอนิล (C=O) และอีเทอร์ (C-O-C) ดังนั้นสูตรโมเลกุลจริงจึงเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$  และสามารถคำนวณความไม่อิ่มตัวได้เท่ากับ 10

จากโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ สเปกตรัม ที่สัญญาณ 2.82 (1H, d,  $J=17.1$  Hz) และ 3.09 (1H, t,  $J=13.1, 4.3$  Hz) ของเมทิลีนโปรตอน ( $-\text{CH}_2-$ ), 5.41 (1H, dd,  $J=3.1, 3.1$  Hz) ของโปรตอนที่ต่อกับออกซิเจนและวงอะโรมาติก และคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ที่สัญญาณ 195.7 ppm ของหมู่คาร์บอนิก ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นลักษณะเฉพาะของสารประเภทฟลาโวนอน (flavanone) หรือไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone)



ซึ่งมีหมู่แทนที่ 2 หมู่ คือไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง 5 และหมู่เมทอกซีที่ตำแหน่ง 7  
จากการเปรียบเทียบสัญญาณของโปรตอนของสาร **4** กับเอกสารวิจัยที่มีผู้รายงานไว้  
พบว่าสัญญาณดังกล่าวสอดคล้องกับสัญญาณของ pinostrobin ดังแสดงในตารางที่ 3.8



pinostrobin

ตารางที่ 3.8 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร **4** กับ pinostrobin<sup>9</sup>

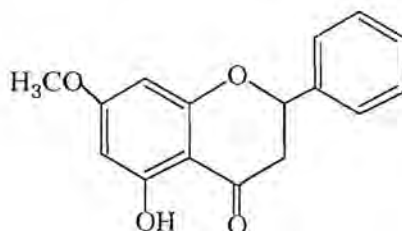
โปรตอนที่ต่อกับคาร์บอน	chemical shift (ppm)	
	สาร <b>4</b> (500 MHz)	pinostrobin (60 MHz)
3 (ax)	2.82 (d, $J = 3.1$ Hz)	2.91 (d, $J = 5.0$ Hz)
3 (eq)	3.09 (t, $J = 13.1, 4.3$ Hz)	2.99 (d, $J = 11.0$ Hz)
7	3.80 (s)	3.78 (s, $-OCH_3$ )
2	5.41 (dd, $J = 3.1, 3.1$ Hz)	5.43 (dd, $J = 5.0$ Hz)
6, 8	6.07 (s, 2xArH)	6.08 (s, 2xArH)
2', 3', 4', 5', 6'	7.46 (m, 5xArH)	7.43 (s, 5xArH)
5	12.02 (s, OH)	9.75 (s, OH)

นอกจากนี้แมสสเปกตรัมของสาร **4** ยังช่วยยืนยันโครงสร้างของสารอีกด้วย โดยเปรียบเทียบ  
เทียบกับข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของ pinostrobin ที่ค้นคว้าจากเอกสารวิจัยได้ดังตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 การเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของสาร 4 กับ pinostrobin<sup>9</sup>

m/z	
สาร 4	pinostrobin
270 (97%)	270 (100%)
269 (62%)	269 (43%)
193 (100%)	193 (69%)
167 (25%)	167 (19%)
166 (77%)	166 (59%)
138 (28%)	138 (26%)
103 (15%)	104 (10%)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดและจุดหลอมเหลวของสาร<sup>9</sup> จึงสรุปได้ว่าสาร 4 คือ pinostrobin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 4 (pinostrobin)

### 3.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 5

สาร 5 มีลักษณะเป็นแผ่นของแข็งสีเหลืองแวววาว หนัก 0.12 กรัม จุดหลอมเหลว 155-157 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.32 (ซิลิกาเจล : ไดคลอโรมีเทน) สาร 5 ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดเอทานอล (ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 70-80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเฮกเซน

อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 5 (ภาคผนวกรูปที่ 24) พบแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญแสดงดังตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 5

ความถี่ของการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	การแปลความหมาย
3500-3000	สูง	O-H สั่นแบบยืด
2970, 2919, 2827	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยืดของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1634, 1593	สูง	C=O สั่นแบบยืด
1214, 1168	สูง	C-O สั่นแบบยืด

จากข้อมูลดังกล่าวสรุปได้ว่าโมเลกุลของสาร 5 อย่างน้อยจะต้องประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซีและคีโตน

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ สเปกตรัมของสาร 5 (ภาคผนวก รูปที่ 25-26) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่  $\delta(\text{ppm}) = 1.52$  (6H, s) เป็นเมทิลโปรตอน ( $-\text{CH}_3$ ) 2 กลุ่ม, 1.78 (3H, s) เป็นเมทิลโปรตอน ( $-\text{CH}_3$ ), 2.07 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.38 (1H, m) และ 2.42 (1H, m) เป็นเมทิลีนโปรตอน ( $-\text{CH}_2-$ ), 2.63 (1H, m) และ 3.43 (1H, m) เป็นโอลิฟินิลโปรตอน ( $-\text{CH}=\text{C}$ ), 3.72 (3H, s) เป็นเมทอกซีโปรตอน ( $-\text{OCH}_3$ ), 4.68 (1H, dd,  $J=4.6, 4.9$  Hz), 4.87 (1H, t,  $J=6.7$  Hz) และ 5.43 (1H, m) เป็นโอลิฟินิกโปรตอน ( $-\text{CH}=\text{C}$ ), 5.87 (2H, s) เป็นอะโรมาติกโปรตอน (ArH), 7.10 (1H, m) เป็นฟีนิลิกโปรตอน (PhH), 7.21 (4H, m) เป็นฟีนิลิกโปรตอน (PhH)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 5 (ภาคผนวก รูปที่ 27) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 24 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวก รูปที่ 28) ทำให้ทราบว่า มีสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ ) จำนวน 4 สัญญาณ ที่ 17.9, 22.7, 25.6 และ 55.3 ppm, มีสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 2 สัญญาณ ที่ 28.8 และ 35.9 ppm, มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{C}$ ) จำนวน 12 สัญญาณ ที่ 37.0, 42.6, 53.8, 94.4 x (2CH), 121.0, 124.1, 125.5, 127.0 x (2CH) และ 128.3 x (2CH) ppm ส่วนสัญญาณที่เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-\text{C}=\text{C}$ ) จำนวน 6 สัญญาณ ที่ 105.7, 131.8, 137.1, 146.9, 165.0 และ 206.5 ppm

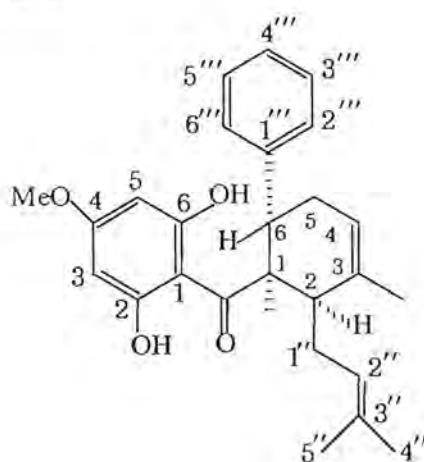
ข้อมูล NMR สเปกตรัมทั้งหมดของสาร ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.11 ดังนี้

ตารางที่ 3.11 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 5

chemical shift (ppm)				ประเภทของC
<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	DEPT 135	DEPT 90	
1.52 (6H, s)	17.9	17.9	-	-CH <sub>3</sub>
1.78 (3H, s)	22.7	22.7	-	-CH <sub>3</sub>
2.07 (1H, m)	25.6	25.6	-	-CH <sub>3</sub>
2.28 (1H, m)	28.8	28.8	-	-CH <sub>2</sub> -
2.38 (1H, m)	35.9	35.9	-	-CH <sub>2</sub> -
2.42 (1H, m)	37.0	-	37.0	-CH=
3.43 (1H, m)	42.6	-	42.6	-CH=
3.72 (3H, s)	53.8	-	53.8	-CH=
4.68 (1H, dd, J=4.6, 4.9 Hz)	55.3	55.3	-	-CH <sub>3</sub>
4.87 (1H, t, J=6.7 Hz)	94.4x2	-	94.4x2	-CH=
5.43 (1H, m)	105.7	-	-	-C <sub>f</sub> =
5.89 (2H, s)	121.0	-	121.0	-CH=
7.10 (1H, m)	124.1	-	124.1	-CH=
7.21 (4H, m)	125.5	-	125.5	-CH=
	127.0x2	-	127.0x2	-CH=
	128.3x2	-	128.3x2	-CH=
	131.8	-	-	-C <sub>f</sub> =
	137.1	-	-	-C <sub>f</sub> =
	146.9	-	-	-C <sub>f</sub> =
	165.0	-	-	-C <sub>f</sub> =
	206.5	-	-	free C=O

จากข้อมูลของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ทำให้ทราบว่า มีคาร์บอน 24 สัญญาณ, โปรตอน 28 สัญญาณ และมีออกซิเจน 2 สัญญาณ จากหมู่เมทอกซีและคีโตน ดังนั้นจึงได้สูตรโมเลกุลโดยประมาณเป็น  $C_{24}H_{28}O_2$  จากอินฟราเรดสเปกตรัมพบว่า มีหมู่ไฮดรอกซี ดังนั้นสูตรโมเลกุลจึงเป็น  $C_{24}H_{29}O_3$  และจากคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ พบว่ามี free C=O ของคีโตน ที่ 206.5 ppm ดังนั้นแสดงว่าไม่ใช่สารประเภทฟลาโวนोन และจากข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของสาร 5 (ภาคผนวก รูปที่ 29) พบว่าสาร 5 มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 406 ดังนั้นสูตรโมเลกุลที่น่าจะเป็นไปได้ของสาร 5 คือ  $C_{26}H_{30}O_4$

จากการเปรียบเทียบสัญญาณของโปรตอนและคาร์บอนของสาร 5 กับเอกสารวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ พบว่าสัญญาณดังกล่าวสอดคล้องกับสัญญาณของ panduratin A ดังแสดงในตารางที่ 3.12 และ 3.13 ตามลำดับ



panduratin A

ตารางที่ 3.12 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 5 กับ panduratin A<sup>11</sup>

โปรตอนที่ต่อกับคาร์บอน	chemical shift (ppm)	
	สาร 5 (500 MHz)	panduratin A (400 MHz)
4'', 5''	1.52 (6H, s)	1.52 (s, 2CH <sub>3</sub> )
-CH <sub>3</sub>	1.78 (3H, s)	1.73 (s, CH <sub>3</sub> )
5' (H <sub>b</sub> )	2.07 (1H, m)	2.05 (ddd. J=3.0, 11.0, 18.0 Hz)
1''	2.28 (1H, m)	2.15 (ddd. J=7.0, 7.5, 15.0 Hz)
1''	2.38 (1H, m)	2.30 (ddd. J=7.0, 7.5, 15.0 Hz)
5' (H <sub>a</sub> )	2.42 (1H, m)	2.40 (ddd. J=5.0, 6.3, 18.0 Hz)

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

โปรตอนที่ต่อกับ คาร์บอน	chemical shift (ppm)	
	สาร 5 (500 MHz)	panduratin A (400 MHz)
2'	2.63 (H, m)	2.67(ddd $J=4.4, 7.5, 7.7$ Hz)
6'	3.43 (1H, m)	3.54(ddd, $J=6.3, 11.0, 11.0$ Hz)
-OCH <sub>3</sub>	3.72 (3H, s)	3.67 (s, OCH <sub>3</sub> )
1'	4.68(1H, dd, $J=4.6, 4.9$ Hz)	4.78 (dd, $J=4.4, 11.0$ Hz)
2''	4.87 (1H, t, $J=6.7$ Hz)	4.89 (t, $J=7.0$ Hz)
4'	5.43 (1H, m)	5.43 (dd, $J=3.0, 5.0$ Hz)
3, 5	5.87 (2H, s)	5.86 (s, 2ArH)
4'''	7.10 (1H, m)	7.09 (m, PhH)
2'', 3'', 5'', 6'''	7.21 (4H, m)	7.21 (m, 4 PhH)

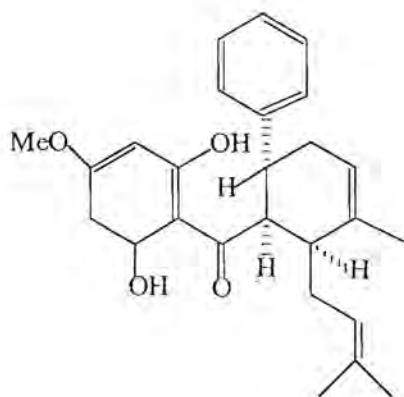
ตารางที่ 3.13 การเปรียบเทียบสัญญาณคาร์บอนของสาร 5 กับ panduratin A<sup>11</sup>

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm)	
	สาร 5 (125 MHz/CDCl <sub>3</sub> )	panduratin A (100 MHz/CDCl <sub>3</sub> )
-CH <sub>3</sub>	17.9	17.9
-CH <sub>3</sub>	22.7	22.8
4''	25.6	25.7
1'	28.8	28.9
5'	35.9	35.9
6'	37.0	37.2
2'	42.6	42.8
1'	53.8	54.1
-OCH <sub>3</sub>	55.3	55.5
3, 5	94.4x2	94.6
1	105.7	106.4
4'	121.0	121.2
2''	124.1	124.4
4'''	125.5	125.7
2'', 6'''	127.0x2	127.8

ตารางที่ 3.13 (ต่อ)

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm)	
	สาร 5 (125 MHz/CDCl <sub>3</sub> )	panduratin A (100 MHz/CDCl <sub>3</sub> )
3''', 5'''	128.3x2	128.0
3''	131.8	132.0
3'	137.1	137.3
1'''	146.9	147.2
2, 6	-	163.0
4	156.0	165.3
C=O	206.5	206.6

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมด และจุดหลอมเหลวของสาร<sup>11</sup> จึงสรุปได้ว่าสาร 5 คือ panduratin A ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูป 3.5



รูปที่ 3.5 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 5 (panduratin A)

### 3.6 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 6

สาร 6 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว หนัก 0.04 กรัม จุดหลอมเหลว 203-205 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.53 (ซิลิกาเจล : 10% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน) สาร 6 ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 90-100% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน



โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 6 ภาคผนวก รูปที่ 30-31 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่  $\delta(\text{ppm})=2.83$  (1H, dd,  $J=3.1, 3.1$  Hz),  $3.09$  (1H, dd,  $J=3.1, 12.8$  Hz) และ  $5.43$  (1H, dd,  $J=3.1, 9.8$  Hz) เป็น  $\text{ArCOCH}_2\text{CHAr}$   $6.00$  (2H, s) เป็นอะโรมาติกโปรตอน ( $\text{ArH}$ ),  $7.38-7.46$  (5H, m) เป็นอะโรมาติกโปรตอน ( $\text{ArH}$ ) และ  $12.01$  (1H, s) เป็นไฮดรอกซีโปรตอน

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 6 (ภาคผนวก รูปที่ 32) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนจำนวน 15 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวก รูปที่ 33) ทำให้ทราบว่าสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 1 สัญญาณ ที่  $43.3$  ppm, มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{}$ ) จำนวน 8 สัญญาณที่  $79.3, 95.5, 96.8, 126.1 \times (2\text{CH})$  และ  $128.9 \times (3\text{CH})$  ppm ส่วนที่เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-\text{C}=\text{}$ ) จำนวน 6 สัญญาณที่  $103.3, 138.3, 163.2, 164.4, 164.5$  และ  $195.8$  ppm ไม่พบสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ )

ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 6 ทั้งหมดแสดงไว้ดังตารางที่ 3.14

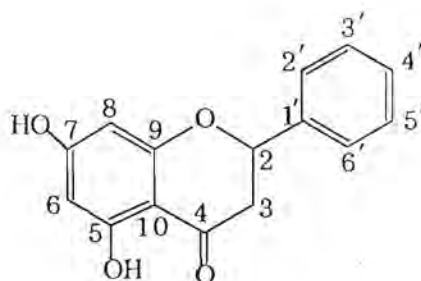
ตารางที่ 3.14 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 6

chemical shift (ppm)				ประเภทของ
$^1\text{H}$ NMR	$^{13}\text{C}$ NMR	DEPT 135	DEPT 90	คาร์บอน
2.83(1H, dd, $J=3.1, 3.1$ Hz)	43.3	43.3	-	$-\text{CH}_2-$
3.09(1H, dd, $J=3.1, 12.8$ Hz)				
5.43(1H, dd, $J=3.1, 9.8$ Hz)	79.3	-	79.3	$-\text{CH}=\text{}$
6.00 (2H, s)	95.5	-	95.5	$-\text{CH}=\text{}$
7.38-7.46 (5H, m)	96.8	-	96.8	$-\text{CH}=\text{}$
12.01 (1H, s)	103.3	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	126.1	-	126.1	$-\text{CH}=\text{}$
	128.9	-	128.9	$-\text{CH}=\text{}$
	138.3	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	163.2	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	164.4	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	164.5	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	195.8	-	-	$\text{C}=\text{O}$

จากข้อมูลของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ และคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ทำให้ทราบว่า มีคาร์บอน 15 สัญญาณ, โปรตอน 11 สัญญาณ และออกซิเจน 2 สัญญาณ จากหมู่ไฮดรอกซีและหมู่คาร์บอนิล ดังนั้นจึงได้สูตรโมเลกุลโดยประมาณเป็น  $C_{15}H_{11}O_2$  จากสัญญาณดังกล่าวเป็นลักษณะเฉพาะของสารประเภทฟลาโวนอน หรือ ไดไฮโดรฟลาโวน (เหมือนสาร 6) ดังนั้นแสดงว่าต้องมีออกซิเจนอีก 1 อะตอม จากหมู่อีเทอร์ จึงได้สูตรโมเลกุลโดยประมาณเป็น  $C_{15}H_{11}O_3$

จากคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ สเปกตรัมที่ 164.5 ppm แสดงถึงหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งที่ 7 ในวง A เนื่องจากไม่ปรากฏสัญญาณของหมู่เมทอกซี ดังนั้นจึงคาดว่าน่าจะเป็นหมู่ไฮดรอกซี ดังนั้นสูตรโมเลกุลที่ควรจะเป็นคือ  $C_{15}H_{12}O_4$

จากการเปรียบเทียบสัญญาณของโปรตอนและคาร์บอนของสาร 6 กับเอกสารวิจัยพบว่าสัญญาณดังกล่าวสอดคล้องกับสัญญาณของ pinocembrin ดังแสดงในตารางที่ 3.15 และ 3.16 ตามลำดับ



pinocembrin

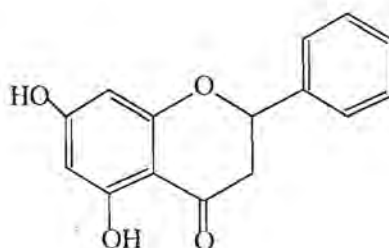
ตารางที่ 3.15 การเปรียบเทียบสัญญาณโปรตอนของสาร 6 กับ pinocembrin<sup>9</sup>

โปรตอนที่ต่อกับ C	Chemical shift (ppm)	
	สาร 6 (500 MHz)	pinocembrin (60 MHz)
3	2.83(1H, dd, $J=3.1, 3.1$ Hz) 3.09(1H, dd, $J=3.1, 12.8$ Hz)	2.70-3.55(m, ArCOCH <sub>2</sub> CHAr)
2	5.43(1H, dd, $J=3.1, 9.8$ Hz)	3.68 (dd, $J=4.0, 12.0$ Hz, ArCOCH <sub>2</sub> CHAr)
6, 8	6.00 (2H, s, 2xArH)	6.12 (s, 2xArH)
2', 3', 4', 5', 6'	7.38-7.46 (5H, m, 5xArH)	7.47-7.75 (m, 5xArH)
5	12.01 (1H, s, OH)	9.77 (s, OH)

ตารางที่ 3.16 การเปรียบเทียบสัญญาณคาร์บอนของสาร 6 กับ pinocembrin<sup>9</sup>

คาร์บอนตำแหน่งที่	chemical shift (ppm)	
	สาร 6 (125 MHz/CDCl <sub>3</sub> )	pinocembrin (100 MHz/CDCl <sub>3</sub> )
3	43.3	42.2
2	79.3	78.4
8	95.5	95.1
6	96.8	96.1
10	101.3	101.9
2', 6'	126.1x2	126.5
3', 4', 5'	128.9x3	128.5
1'	138.3	138.0
9	163.2	162.7
5	164.4	163.6
7	164.5	166.6
4	195.8	195.8

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมด และจุดหลอมเหลวของสาร<sup>9</sup> จึงสรุปได้ว่า สาร 6 คือ pinocembrin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 6 (pinocembrin)

### 3.7 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร 7

สาร 7 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.10 กรัม จุดหลอมเหลว 224–226 องศาเซลเซียส มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.41 (ซิลิกาเจล : 10% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน) ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถูกชะด้วย 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน และจากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดเอทานอล (ตารางที่ 2.6) ซึ่งถูกชะด้วย 10–30% เอธิล อะซิเตตในไดคลอโรมีเทน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยสารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน

อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7 (KBr, ภาคผนวก รูปที่ 3.4) พบแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญดังแสดงในตารางที่ 3.17

ตารางที่ 3.17 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7

ความถี่ของการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	การแปลความหมาย
3518 (sharp)	ปานกลาง	free O-H
3354 (broad)	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยึด
3088	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยึดของอะโรมาติก
1618, 1577	สูง	C=O สั่นแบบยึดของคอนจูเกตคีโตน
1300–1100	สูง	C-O สั่นแบบยึด

จากข้อมูลดังกล่าว สรุปได้ว่าโมเลกุลของสาร 7 อย่างน้อยต้องประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซี, วงอะโรมาติก, คอนจูเกตคีโตนและอีเทอร์

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ สเปกตรัม(ภาคผนวก รูปที่ 35–36) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่  $\delta(\text{ppm})=2.72$  (1H, dd,  $J=3.4, 3.1$  Hz), 2.97 (1H, q,  $J=12.5, 4.3, 12.5$ , Hz) และ 5.41 (1H, dd,  $J=3.1$  Hz) เป็น  $\text{ArCOCH}_2\text{CHAr}$ , 3.82 (3H, s) เป็นเมทอกซีโปรตอน ( $-\text{OCH}_3$ ), 6.08 (2H, dd,  $J=2.1, 2.4$  Hz), 7.34 (1H, m), 7.40 (2H, m) และ 7.47 (2H, m) เป็นอะโรมาติกโปรตอน ( $\text{ArH}$ )

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ สเปกตรัม(ภาคผนวก รูปที่ 37)ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนจำนวน 16 สัญญาณ อาศัย DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาคผนวก รูปที่ 38 ) ทำให้ทราบว่า มีสัญญาณของ primary carbon ( $-\text{CH}_3$ ) จำนวน 1 สัญญาณที่ 56.2 ppm มีสัญญาณของ secondary carbon ( $-\text{CH}_2-$ ) จำนวน 1 สัญญาณ ที่ 46.4 ppm มีสัญญาณของ tertiary carbon ( $-\text{CH}=\text{O}$ ) จำนวน 8 สัญญาณ ที่ 80.1, 94.5, 97.2, 127.2x2 และ 129.6x3 ppm ส่วนที่

เหลือเป็นสัญญาณของ quaternary carbon ( $-\text{C}=\text{}$ ) จำนวน 6 สัญญาณ ที่ 105.9, 140.7m 164.4, 166.6, 167.1 และ 191.8 ppm

ข้อมูล NMR สเปกตรัมทั้งหมดของสาร 7 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.18

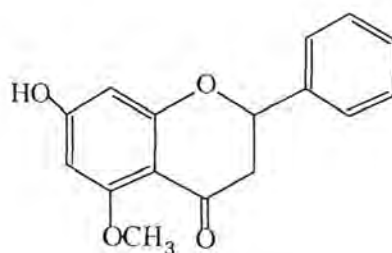
ตารางที่ 3.18 ข้อมูล NMR สเปกตรัมของสาร 7

chemical shift (ppm)				ประเภทของ C
$^1\text{H}$ NMR	$^{13}\text{C}$ NMR	DEPT 135	DEPT 90	
2.72(1H, dd, $J=3.4, 3.1$ Hz)	46.4	46.4	-	$-\text{CH}_2-$
2.97(1H,q, $J=12.54.3,12.5$ Hz)	56.2	56.2	-	$-\text{OCH}_2$
3.82 (3H, s)	80.0	-	80.0	$-\text{CH}=\text{}$
5.41 (1H, dd, $J=3.1$ Hz)	94.5	-	94.5	$-\text{CH}=\text{}$
6.08 (2H, dd, $J=2.1, 2.4$ Hz)	97.2	-	97.2	$-\text{CH}=\text{}$
7.34 (1H, m)	105.9	-	-	$-\text{C}=\text{}$
7.40 (2H, m)	127.2x2	-	127.2x2	$-\text{CH}=\text{}$
7.47 (2H, m)	129.6x3	-	129.6x3	$-\text{CH}=\text{}$
	140.7	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	164.4	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	166.6	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	167.1	-	-	$-\text{C}=\text{}$
	191.8	-	-	$\text{C}=\text{O}$

จากข้อมูลของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ และคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ทำให้ทราบว่า มีคาร์บอน 16 สัญญาณ, โปรตอน 13 สัญญาณ และมีออกซิเจน 2 สัญญาณ ของหมู่เมทอกซีและคาร์บอนิล ดังนั้นจึงได้สูตรโมเลกุลโดยประมาณเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_2$  จากแมสสเปกตรัม (ภาคผนวก รูปที่ 39) ทำให้ทราบว่าสาร 7 มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 270 และจากอินฟราเรดสเปกตรัม ปรากฏสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี จะเห็นว่าช่วงขาด ไฮโดรเจน 1 อะตอม และออกซิเจน 2 อะตอมจากหมู่ไฮดรอกซีและอีเทอร์ ดังนั้นสูตรโมเลกุลจึงเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$  และข้อมูลดังกล่าว เป็นลักษณะเฉพาะของสารประเภทฟลาโวนอน หรือไดไฮโดรฟลาโวน (เหมือนสาร 4)

จากโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ไม่ปรากฏสัญญาณที่ 12 ppm แสดงว่าหมู่ไฮดรอกซีไม่ได้อยู่ที่ตำแหน่ง 5 และจากอินฟราเรดสเปกตรัมมี free OH ดังนั้นหมู่ไฮดรอกซีจึงน่าจะอยู่ที่ตำแหน่งที่ 7 และหมู่แทนที่อีก 1 หมู่ คือ หมู่เมทอกซี น่าจะอยู่ที่ตำแหน่งที่ 5

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมด และจุดหลอมเหลวของสาร<sup>9</sup> จึงสรุปได้ว่า สาร 7 คือ alpinetin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 แสดงสูตรโครงสร้างของสาร 7 (alpinetin)

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 4.1 สรุปผลการทดลองจากดอกสารภี

จากการสกัดดอกสารภี (*M. siamensis*) ที่ตากแห้งบดละเอียดจำนวน 6,500 กรัม ด้วยเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต, เมทานอล ตามลำดับ ได้สิ่งสกัดเฮกเซนจำนวน 83.55 กรัม, สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนจำนวน 155 กรัม, สิ่งสกัดเอธิล อะซิเตตจำนวน 65 กรัม และสิ่งสกัดเมทานอล 410 กรัม นำแต่ละส่วนไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากสิ่งสกัดเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, และกลุ่มเชื้อที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (Flat sour spoilage) จึงนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และทำให้บริสุทธิ์โดยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ ใช้เครื่อง HPLC, โครมาโทรอน, preparative TLC และการตกผลึกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถแยกสารได้ 3 ชนิด คือ สาร 1, สาร 2 และสาร 3

จากการตรวจสอบเอกลักษณ์โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ, ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี และการทำ GC, TLC เทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดคือ

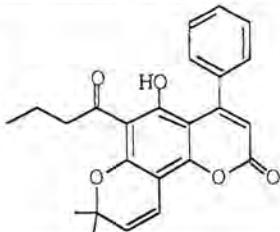
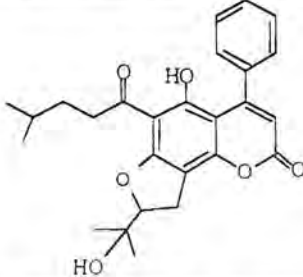
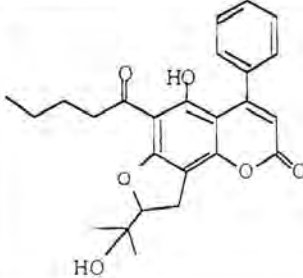
สาร 1 คือ 6-butyl-5-hydroxy-4-phenylseselin

สาร 2 คือ 5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin

สาร 3 คือ 5-hydroxy-6-pentyl-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin

โดยสาร 1 นั้นเป็นสารชนิดเดียวกับที่เคยมีรายงานว่าพบในดอกสารภีมาก่อน ส่วนสาร 2 และ สาร 3 ยังไม่เคยมีรายงานว่าพบในดอกสารภีมาก่อน

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักสารและเปอร์เซ็นต์สารที่แยกได้ต่อน้ำหนักดอกสารภีแห้ง

สาร	ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง	น้ำหนักสาร (มิลลิกรัม)	% สารต่อน้ำหนักดอกสารภี ( $\times 10^{-4}$ )
1	6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin		4.70	72.30
2	5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin		3.7	0.57
3	5-hydroxy-6-pentyl-7,8-hydroxy-isopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin		17	2.62



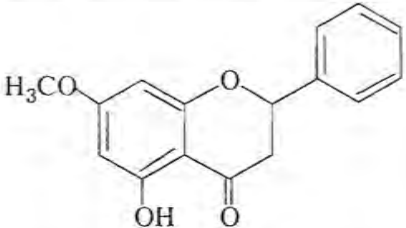
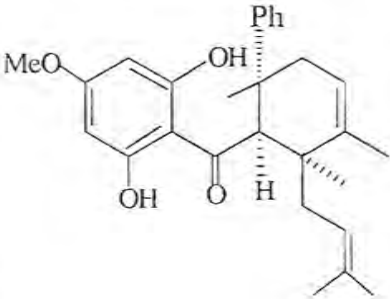
#### 4.2 สรุปผลของการทดลองจากรากกระชายเหลือง

จากการสกัดรากกระชายเหลือง (*B. pandurata*) ที่ตากแห้งบดละเอียดจำนวน 1,385 กรัม ด้วยเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอธิล อะซิเตต, เมทานอล, และบิวทานอลตามลำดับ ได้สิ่งสกัดเฮกเซน 20.66 กรัม, สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน 49.82 กรัม, สิ่งสกัดเอธิล อะซิเตต 0.98 กรัม, สิ่งสกัดเมทานอล 34.84 กรัม และสิ่งสกัดบิวทานอล 7.32 กรัม แล้วนำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนและเมทานอลมาแยกโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เครื่องโครมาโทรอน และตกผลึกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 4 ชนิด คือ สาร 4, สาร 5, สาร 6 และสาร 7

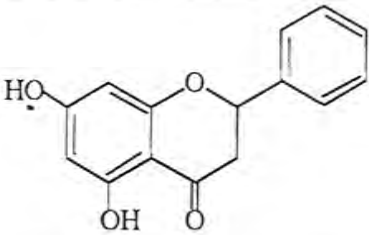
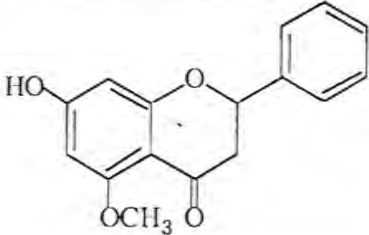
จากการตรวจเอกลักษณ์ของสารโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ ร่วมกับข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี พบว่าสารทั้ง 4 ชนิดคือ

- สาร 4 คือ pinostrobin
- สาร 5 คือ panduratin A
- สาร 6 คือ pinocembrin
- สาร 7 คือ alpinetin

ตารางที่ 4.2 แสดงน้ำหนักสารและเปอร์เซ็นต์สารที่แยกได้ต่อน้ำหนักรากกระชายแห้ง

สาร	ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง	น้ำหนักสาร (กรัม)	%สารต่อน้ำหนักรากกระชาย ( $\times 10^{-2}$ )
4	pinostrobin		3.01	26.54
5	pandutatin A		0.12	1.06

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

สาร	ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง	น้ำหนักสาร (กรัม)	%สารต่อน้ำหนักกระดาษชาน้ำหนัก ( $\times 10^{-2}$ )
6	pinocembrin		0.04	0.35
7	alpinetin		0.10	0.90

### 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากดอกสารภี ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารจากดอกสารภีเป็นไปดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากดอกสารภี

Strain	สาร 1	สาร 2	สาร 3	Streptomycin 10 ug/disc
<i>B. cereus</i>	-	-	-	++
<i>S. aureus</i>	-	-	-	++
<i>S. derby</i>	-	-	-	++
<i>E. coli</i>	-	-	-	++
<i>L. mono</i>	-	-	-	-
F.S.	-	-	-	+

หมายเหตุ สัญลักษณ์ - หมายถึง not inhibited

+ หมายถึง weakly inhibited (6-10 mm in diameter)

++ หมายถึง highly inhibited (> 10 mm in diameter)

Streptomycin ใช้ลงไปเพื่อเป็นสารมาตรฐาน

จากผลการทดลองของดอกสารภีพบว่าสามารถแยกสารใหม่ได้ 2 ชนิด คือ สาร 2 (5-hydroxy-6-(2-methylpentyl)-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin และสาร 3 (5-hydroxy-6-pentyl-7,8-(2- $\alpha$ -hydroxyisopropyl-2,3-dihydrofuranyl)-4-phenylcoumarin) ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากรากกระชายเหลือง  
 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์จากรากกระชายเหลือง เป็นไป  
 ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากรากกระชายเหลือง

Strain	สาร 4	สาร 5	สาร 6	สาร 7	Tetracycline 30 µg/disc
<i>B. cereus</i>	++	++	++	+	++
<i>B. subtilis</i>	++	++	+	-	+
<i>L. monocylogenes</i>	+	+	+	-	++
<i>L. ivanovii</i>	-	+	+	-	+
<i>S. aureus</i>	+	+	++	-	++
<i>S. typhi</i>	+	+	+	-	-
<i>S. derby</i>	-	+	++	-	-
<i>E. coli</i>	++	++	+	-	++
<i>K. pneumoniae</i>	+	++	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	+	+	++	-	++
F.S	-	+	-	-	-

หมายเหตุ สัญลักษณ์ - หมายถึง not inhibited

+ หมายถึง weakly inhibited (7-10 mm in diameter)

++ หมายถึง highly inhibited (> 10 mm in diameter)

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกจากรากกระชายเหลืองได้ทั้ง 4 ชนิด คือ สาร 4, สาร 5, สาร 6 และ สาร 7 กับเชื้อแบคทีเรีย 10 ชนิด พบว่าสารที่มีฤทธิ์มากที่สุดคือ สาร 5 (panduratin A) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ทั้งหมด รองลงมาคือ สาร 6 (pinocembrin) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้เกือบทั้งหมด ยกเว้น *K. pneumoniae* และ สาร 4 (pinostrobin) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เกือบทั้งหมด ยกเว้น 2 ชนิด คือ *L. ivanovii* และ *S. derby* ส่วนสาร 4 มีฤทธิ์น้อยมาก สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้เพียง 1 ชนิด คือ *B. cereus*

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากกระชายเหลือง พอจะสรุป SAR (Structure-Activity Relationship) ในขณะนี้ได้ว่า สารที่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพควรมีหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งที่ 5 เช่น สาร 4, สาร 5 และ สาร 6 มีโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งที่ 5 เหมือนกัน จึงมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงคล้ายกัน ส่วนสาร 7 มีโครงสร้างหลักเหมือนกับสาร 4 เพียงแต่สลับตำแหน่งที่ 5 และ 7 ก็ทำให้สาร 7 มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำ นอกจากนี้ยังเป็นการรายงานให้ทราบว่าสามารถพบ panduratin A ในกระชายเหลืองด้วย

จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยคาดว่าจะทำให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ที่ต้องการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากการติดเชื้อในอาหาร และทำให้อาหารไม่เสีย โดยสามารถกำหนดตำแหน่งของหมู่แทนที่ได้เหมาะสม

## เอกสารอ้างอิง

1. Patil, A.D.; Freyer, A.J.; Eggleston D.S.; Haltiwanger, R.C.; Bean, M.F.; Tayler, P.B.; Caranfa, M.J.; Breen, A.L.; Bartus, H.R.; Johnson, R.K.; Hertsberg, R.P. and Westley, J.W. *Medicinal Chemistry*, 36 (26), 4131 (1993).
2. เสี่ยม พงษ์บุญรอด, *ไม้เทศเมืองไทย*, เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ, 2519.
3. ดร. ก่องกานดา ชยามฤต, *สมุนไพรไทย*, บริษัท โดมอนด์พรีนติ้ง จำกัด, กรุงเทพฯ, 2540.
4. ดร. วิทย์ เทียงบูรณธรรม, *พจนานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในเมืองไทย (เล่ม 2)*, โอ.เอส. พรีนติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ, 2530.
5. ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหิดล กรมป่าไม้ โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, *ก้าวไปกับสมุนไพร*, ธรรมมลการพิมพ์, 2532.
6. Thebtaranonth, C.; Imraporn, S; and Padungkul, N. *Phytochemistry*, 20 (9) 2305 (1981).
7. Poobrasert, O.; Constant, H.L.; Beecher, C.W.W.; Farnsworth, N.R.; Kinghom, A.D.; Pezzuto, J.M.; Cordell, G.A.; Santisuk, T. and Reutrakul, V. *Phytochemistry*, 47 (8), 1661 (1998).
8. Balza, F.; Abramowski, Z.; Towers, N.G.H. and Wiriyachitra, P. *Phytochemistry*, 28 (7), 1827 (1989)
9. Jaipetch, T.; Kanghae, S.; Pancharoen, O.; et.al. *Aust. J. Chem.*, 35, 351 (1982).
10. Tuntiwachwuttikul, P.; Pakawatchai, C.; Vincent A. Patrick; Reutrakul, V.; Brian W. Skelton and Allan H. White, *J. Sci. Soc. Thailand*, 14, 301 (1988).
11. Mahidol, C.; Tantiwachwuttikul, P.; Reutrakul, V., and Taylor, W.C. *Aust. J. Chem.*, 37, 1739 (1984).
12. Pancharoen, O.; Picker, K.; Reutrakul, V.; Taylor, W.C. and Tuntiwachwuttikul, P. *Aust. J. Chem*, 40, 455 (1987).
13. Tuntiwachwuttikul, P.; Pancharoen, O.; Rubb, W.A.; Hambley, T.W., Taylor, W.C. and Reutrakul, V. *Aust. J. Chem*, 40, 2049 (1987).
14. Jaipetch, T.; Reutrakul, V.; Tuntiwachwuttikul, P. and Santisuk, T. *Phytochemistry*, 22 (2), 625 (1984).
15. Herunsalee, A.; Pancharoen, O.; and Tuntiwachwuttikul, P. *J. Sci. Soc. Thailand*, 13, 119 (1987).

16. Tasneeyakul W., *A study on antiinflammatory activity of 5,7-dimethoxyflavone isolated from Boesengia pandurata extract in albino rats.*, M.Sc. Thesis, Chiangmai University, Thailand, 1984.
17. สุทธาทิพย์ พลับจ่าง; ธงชัย ตริยานิช *องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกกระทิง*, Senior Project จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2541.
18. Harrison Research., *Instruction Manual Chromatotron Model 7924 T*, California.
19. Cruz, F.G.; Moreira, L.M.; David, J.M.; Guedes, M.L.S. and Chavez, J.P. *Phytochemistry*, **47** (7), 1363 (1998).



## ประวัติผู้เขียน

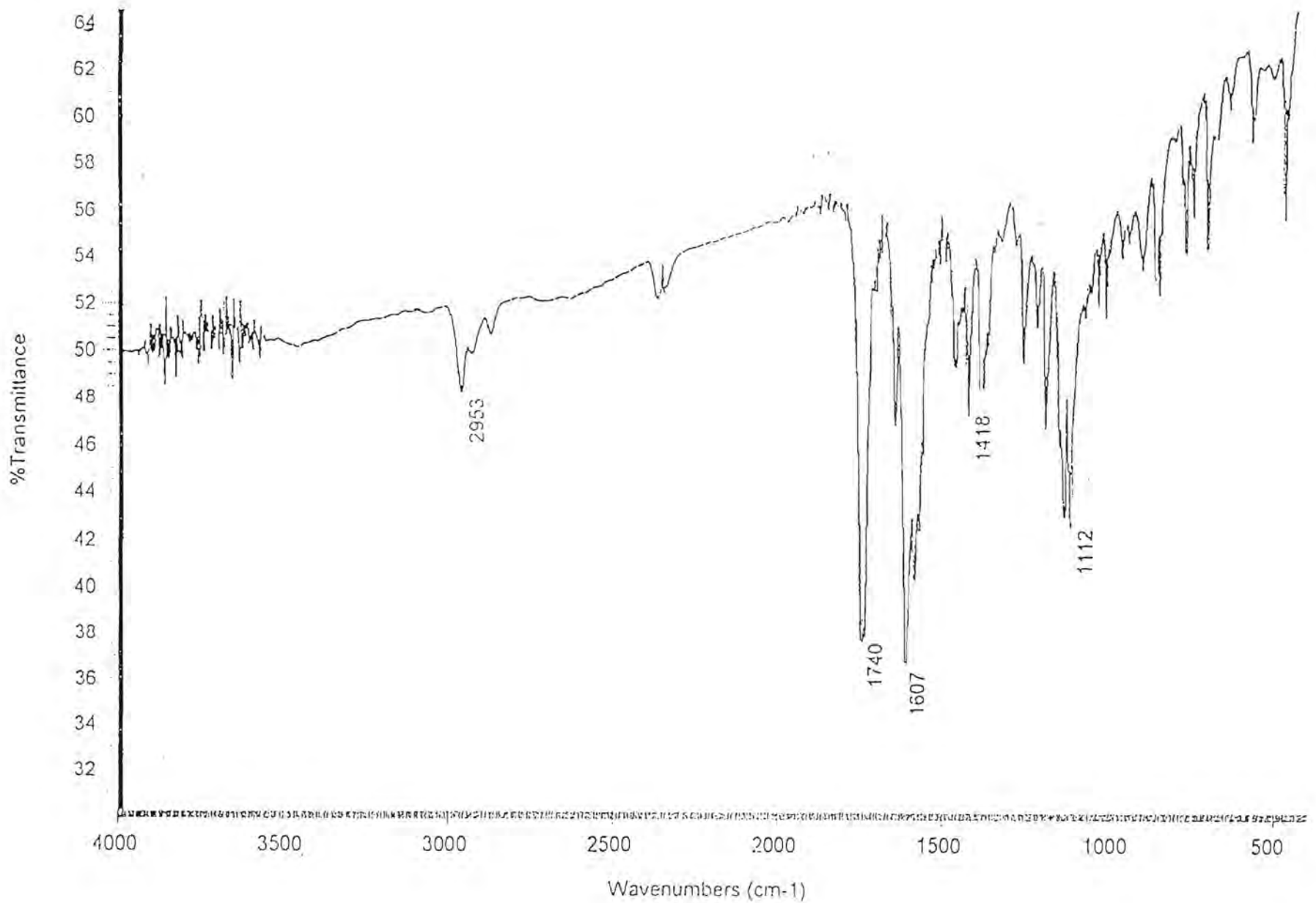
นายสันติ ทิพยางค์ เกิดวันที่ 15 มิถุนายน 2498 ที่ อำเภอปากพ่อง จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาปริญญาโทวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมีอินทรีย์ จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสำเร็จการศึกษาปริญญาเอกดุษฎีบัณฑิต(Ph.D.) ทางเคมี จาก Mississippi state University

ที่อยู่ปัจจุบัน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

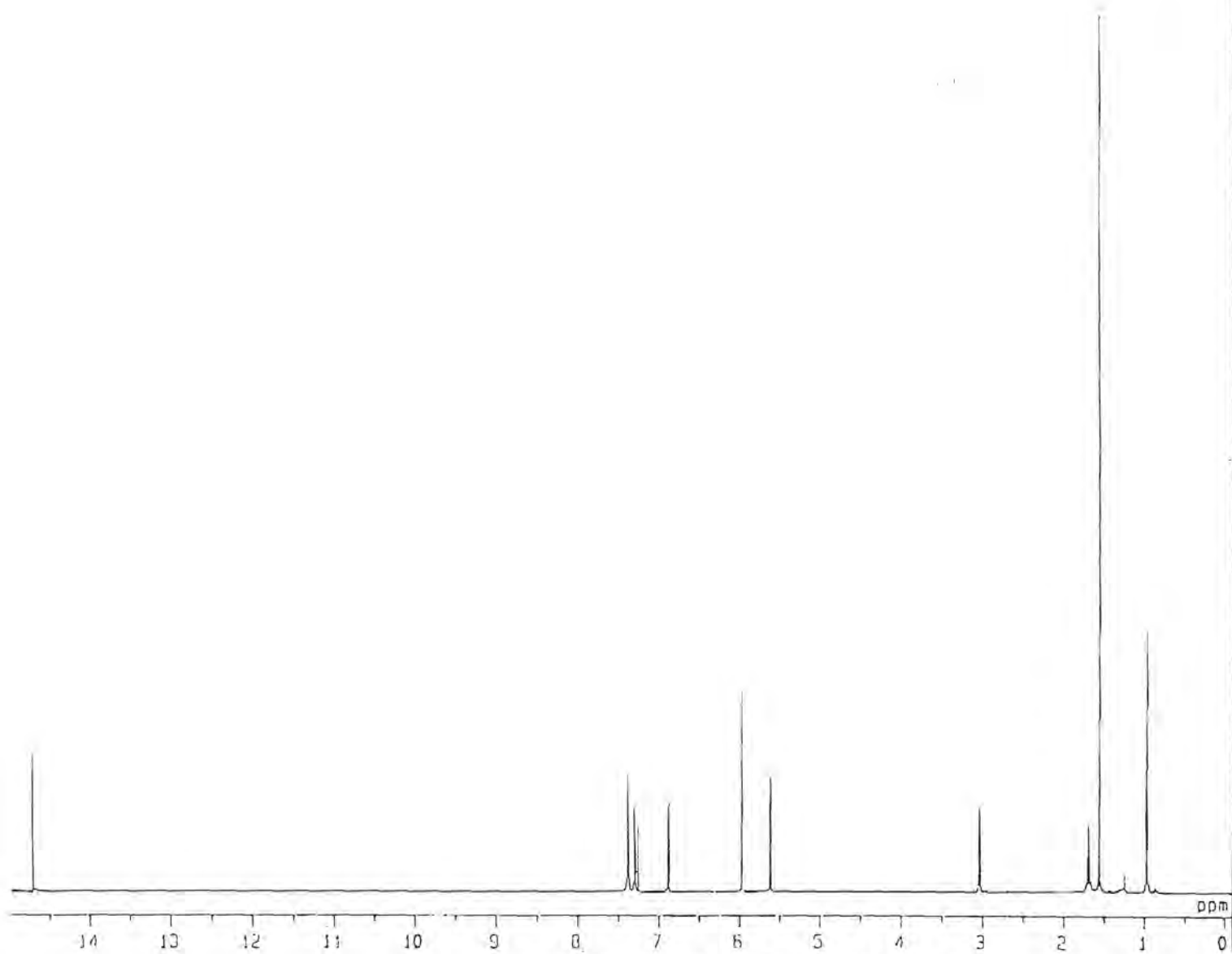
นางสิริพร สรนเสาวภาคย์ เกิดวันที่ 26 กันยายน 2496 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาโทวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (MS.) สาขา microbiology จาก Mississippi state University

ที่อยู่ปัจจุบัน สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10903

## ภาคผนวก



รูปที่ 1 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 1



```

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
X CHULALONGKORN UNIVERSITY X
X JNM-A500 X
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

SFIL : [.HXO] COMPD1-1H
COMNT : COMPD1-1H

EXMOD : SINGL
IRMOD : NON
POINT : 32768
FREQU : 10000.00 Hz
SCANS : 4
DUMMY : 4
ACQTH : 3.2768 sec
PD : 3.0000 sec
RGAIN : 16
PH1 : 5.85 usec
OBNUC : 1H
QBFRQ : 500.00 MHz
OBSET : 162410.00 Hz

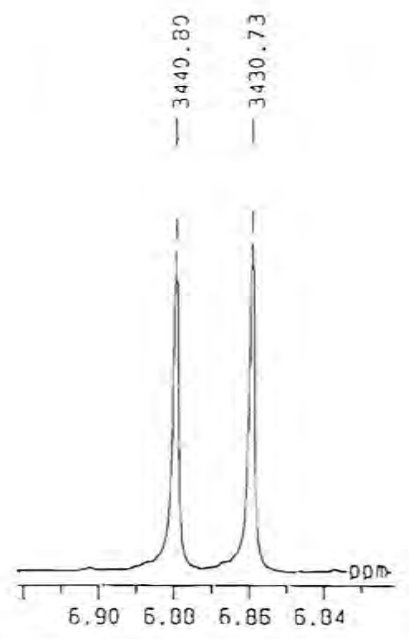
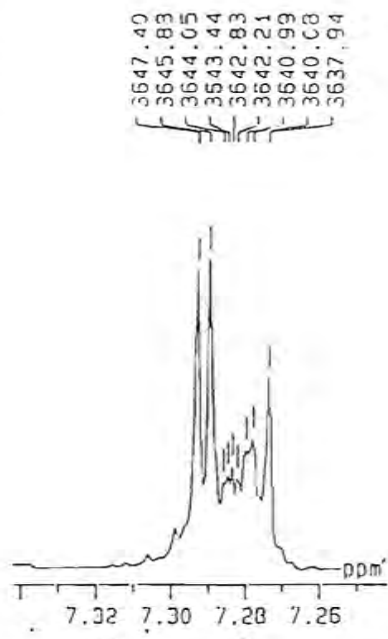
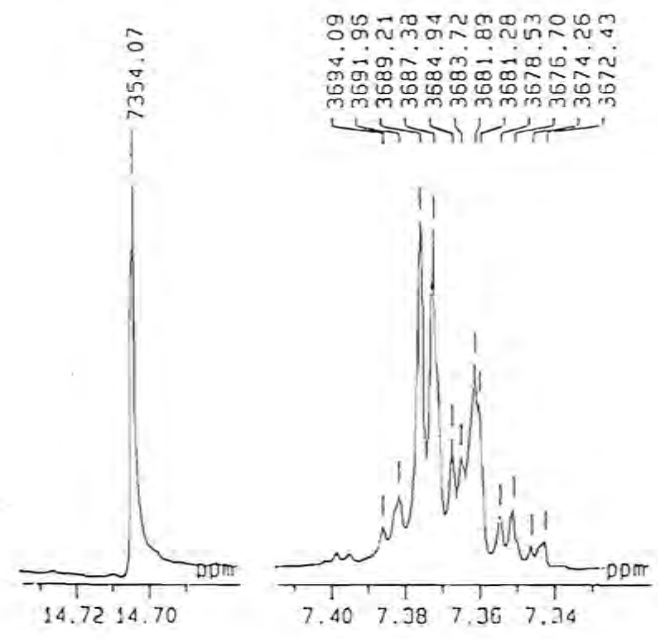
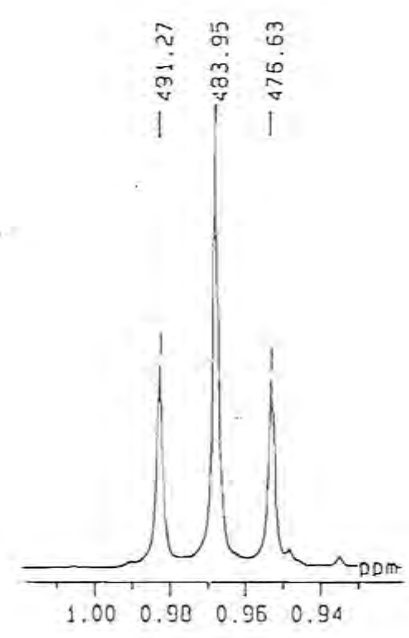
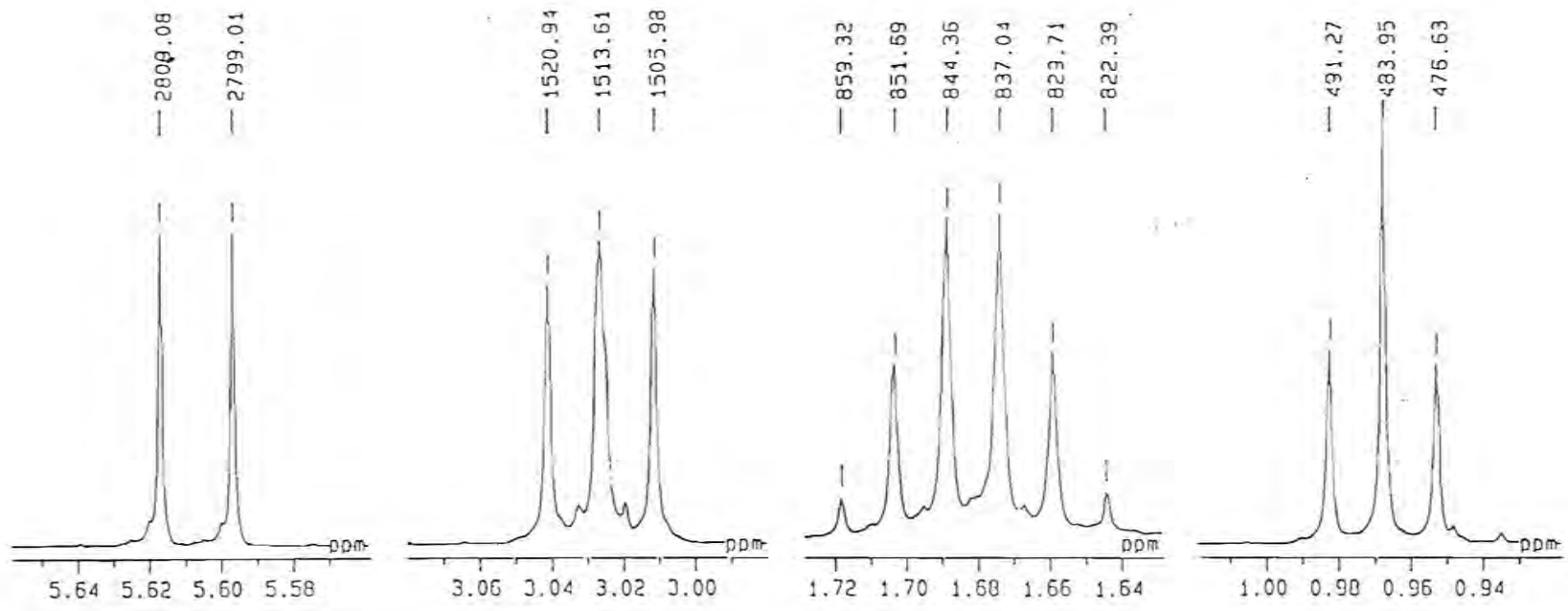
IRNUC : 1H
IRFRQ : 500.00 MHz
IRSET : 162410.00 Hz
IRATN : 120
IRRP1 : 55.0 usec
IRDP1 : 30
IRBP2 : 6
IRANS : 0

ADBIT : 16
CTEMP : 30.6 c
CSPED : 11 Hz
SLVNT : CDCL3
RESOL : 0.31 Hz
DF : 0.00 Hz
REFYL : 7.24 ppm
XE : 7552.19 Hz
XS : -1245.27 Hz

OPERATOR :

```

รูปที่ 2 แสดง <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของสาร 1



รูปที่ 3 แสดง  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 1 (ภาพขยาย)

— 207.014

164.356  
159.601  
158.187  
156.377  
154.798

— 139.235

123.196  
127.587  
127.143  
126.304

115.512  
112.666

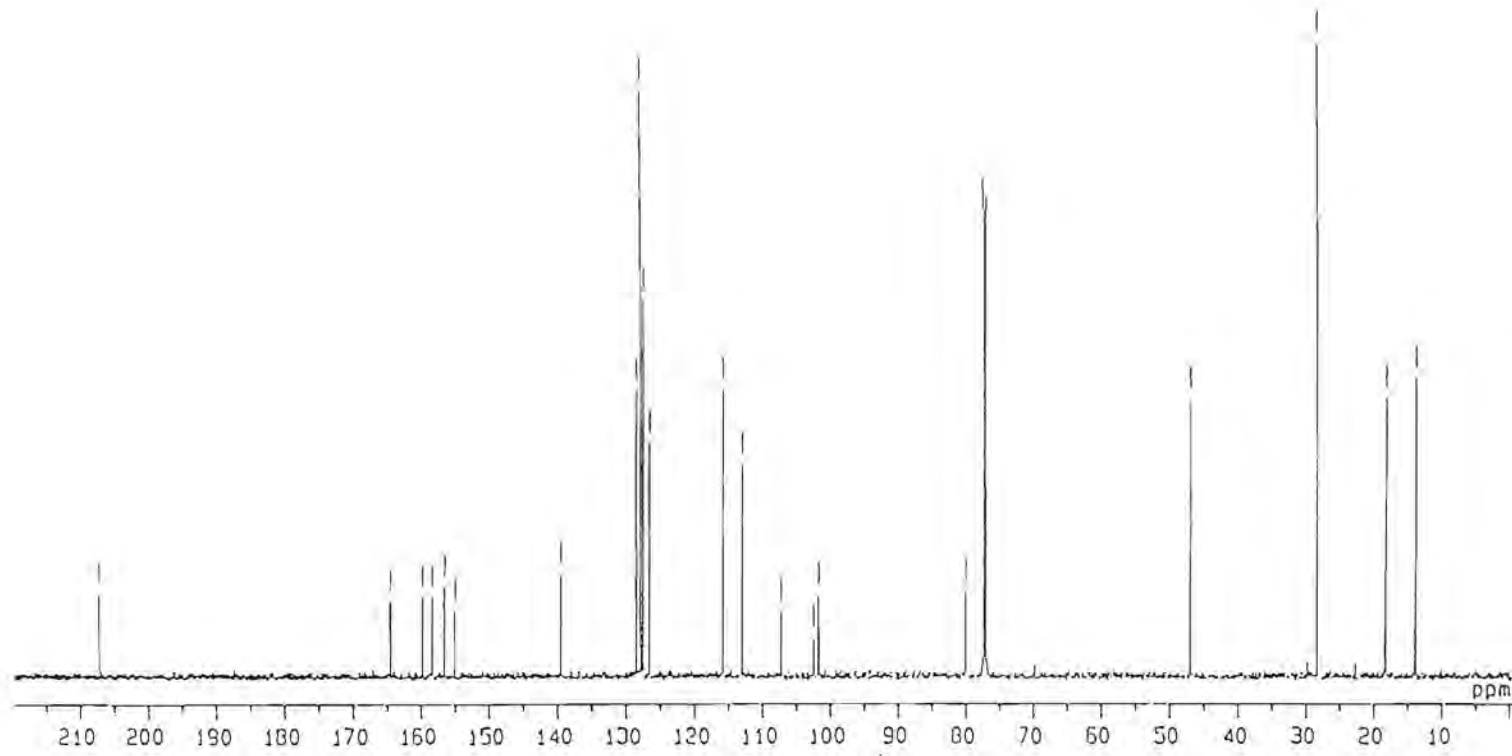
106.931  
102.170  
101.479

— 79.930

— 45.779

— 28.255

— 13.187  
— 13.827



25-AUG-1998 12:46:26.43  
 \*\*\*\*\*  
 \* CHULALONGKORN UNIVERSITY \*  
 \* JNM-A500 \*  
 \*\*\*\*\*

SFILE : [.XMO] COMPD1-BCH  
 COMNT : COMPD1-13C

EXMOD : SINGL  
 IRMOD : BCH  
 POINT : 16384  
 FREQU : 33898.31 Hz  
 SCANS : 1108  
 DUMMY : 4  
 ACQTH : 0.4833 sec  
 PD : 2.0000 sec  
 RGAIN : 23  
 PW1 : 4.90 usec  
 QBNUC : 13C  
 OBFRO : 125.65 MHz  
 OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
 IRFRO : 500.00 MHz  
 IRSET : 162410.00 Hz  
 IRATN : 120  
 IRAPW : 55.0 usec  
 IRBP1 : 30  
 IRBP2 : 6  
 IRRNS : 0

ADBIT : 16  
 CTEMP : 31.0 c  
 CSPED : 11 Hz  
 SLVNT : CDCL3  
 RESOL : 2.07 Hz  
 BF : 2.07 Hz  
 REFVL : 77.00 ppm  
 XE : 27792.72 Hz  
 XS : -1124.50 Hz

OPERATOR :

รูปที่ 4 แสดง <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสาร 1

25-AUG-1998 13:00:28.35

COMP01-0135

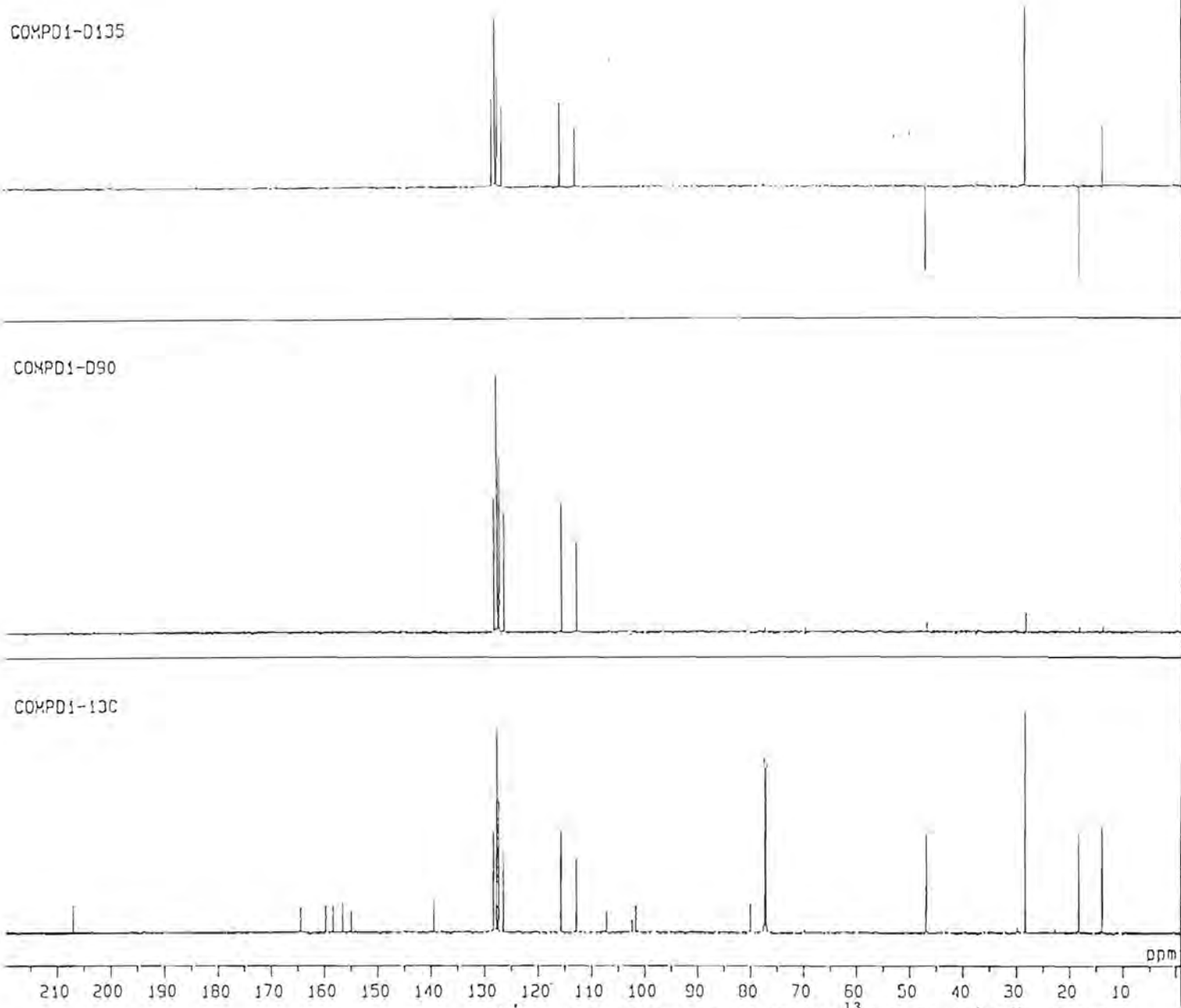
Spectrum 1  
DFILE : ALPHA  
OBNUC : 13C

Spectrum 2  
DFILE : [.MHO] COMP01-090  
OBNUC : 13C

Spectrum 3  
DFILE : [.MHO] COMP01-0135  
OBNUC : 13C

COMP01-090

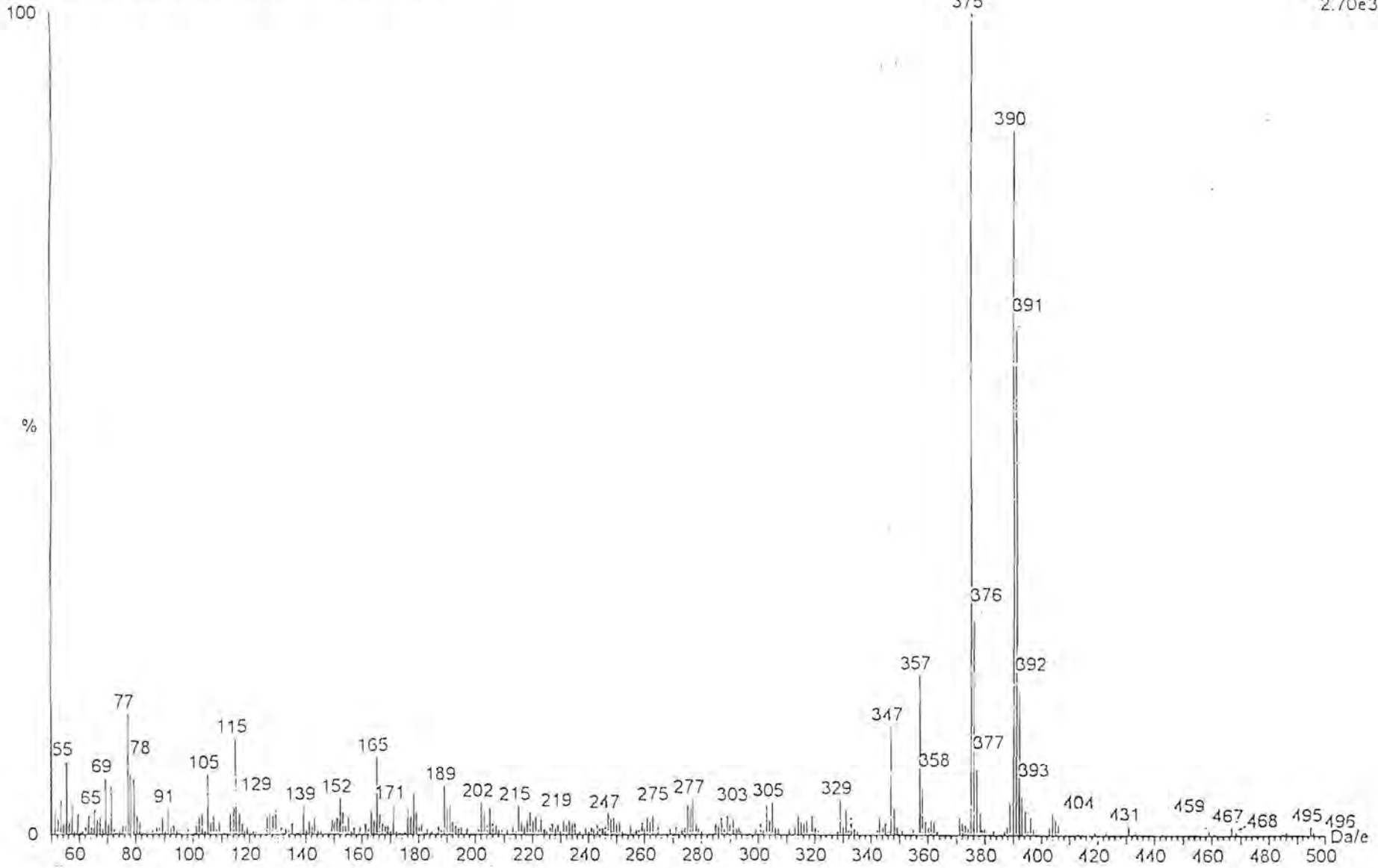
COMP01-13C



รูปที่ 5 แสดง DEPT 135, DEPT 90, <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสาร 1

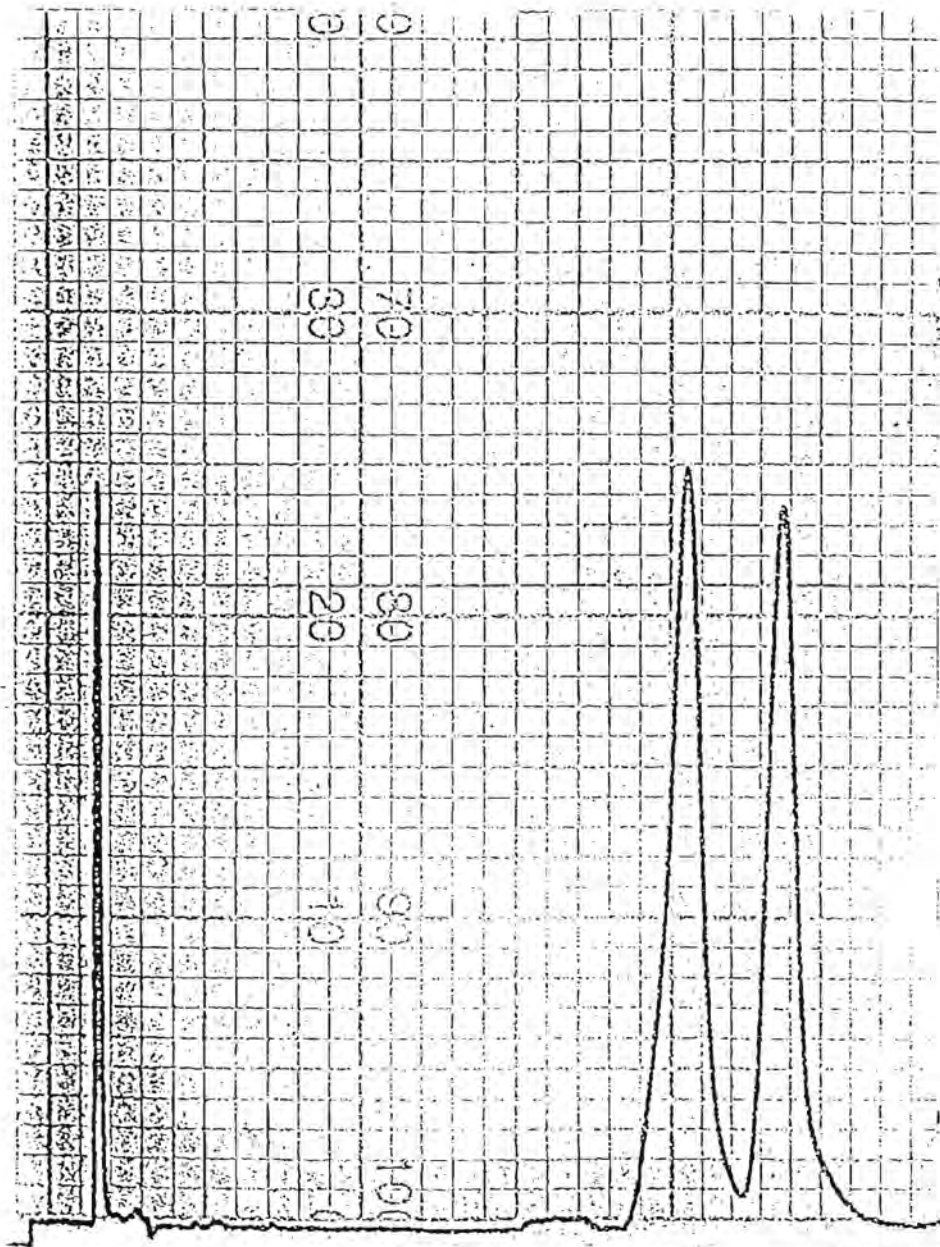
31084109 145 (2.684) Cm (141:147-(147:154+139:141))

Scan EI+  
2.70e3

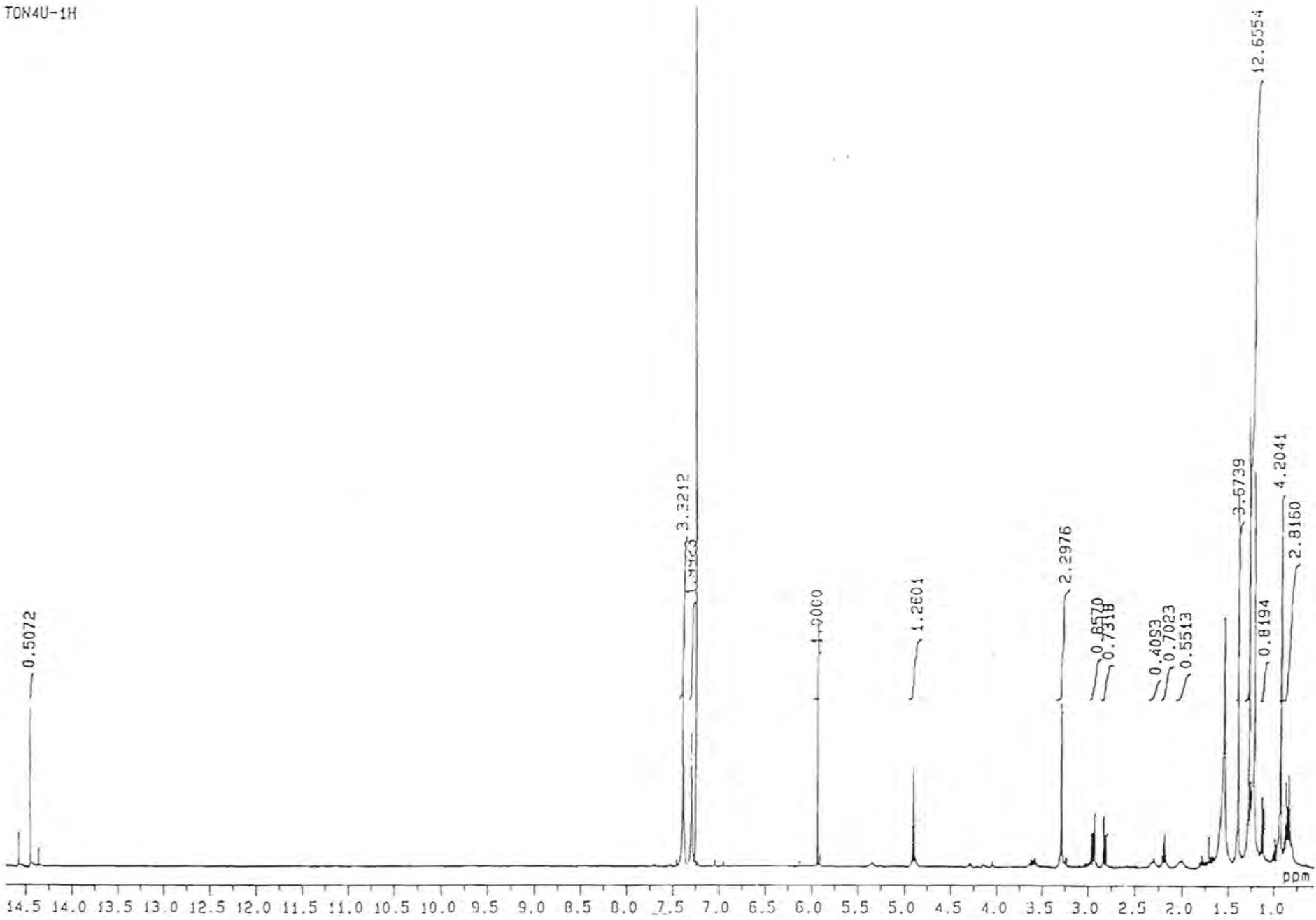


รูปที่ 6 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร 1

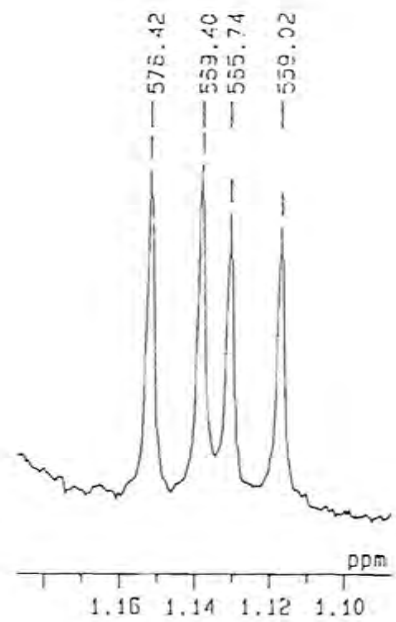
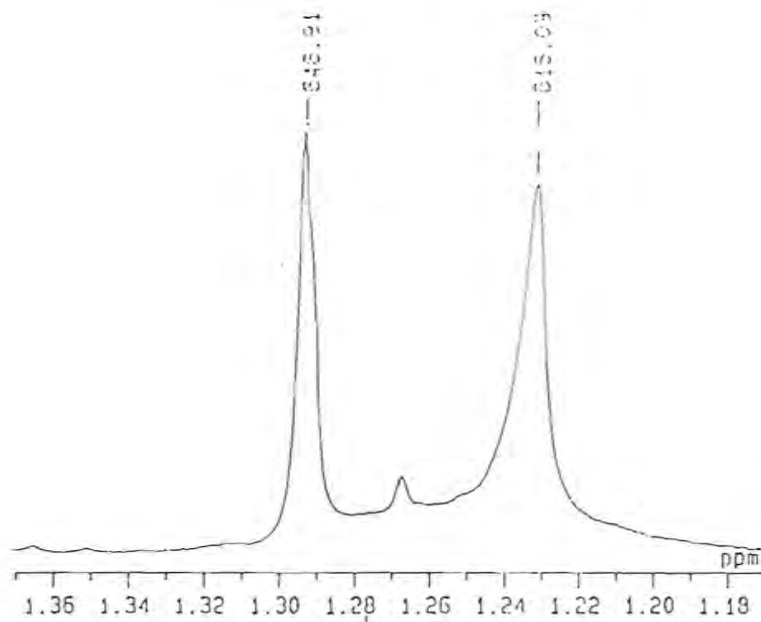
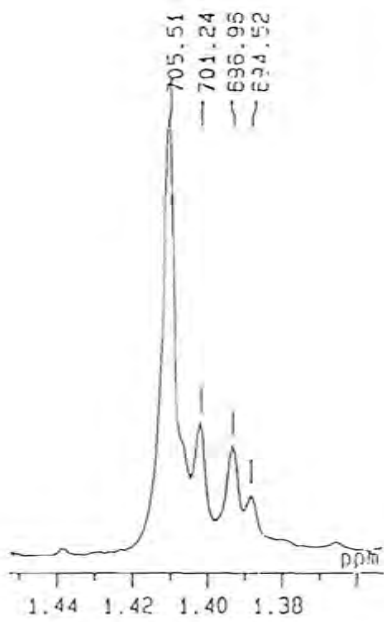
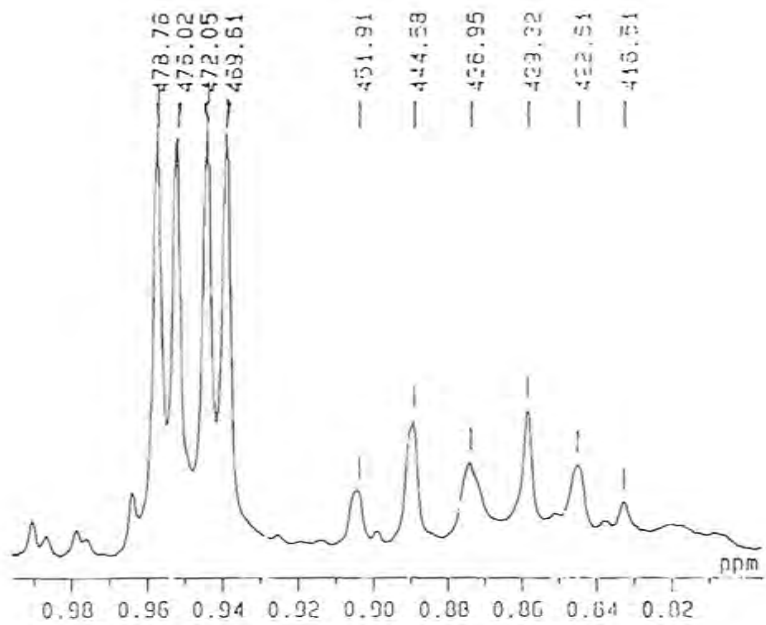




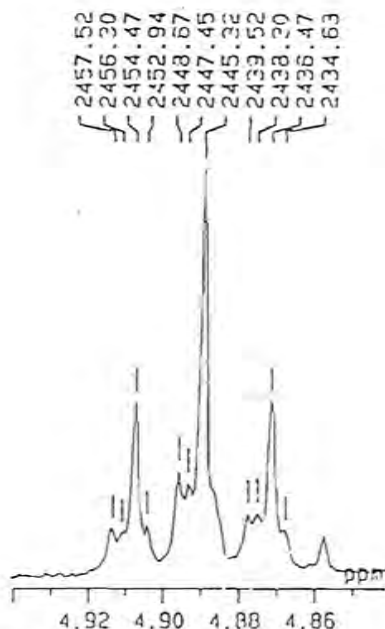
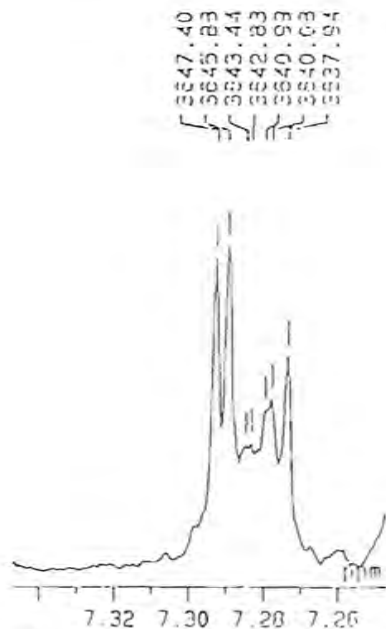
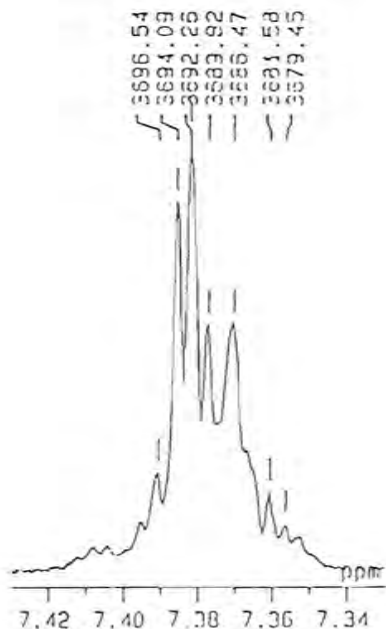
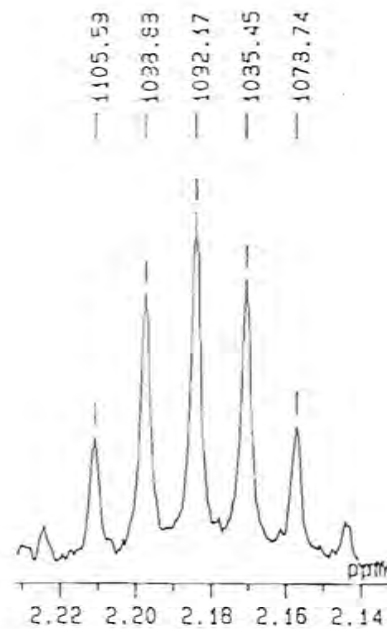
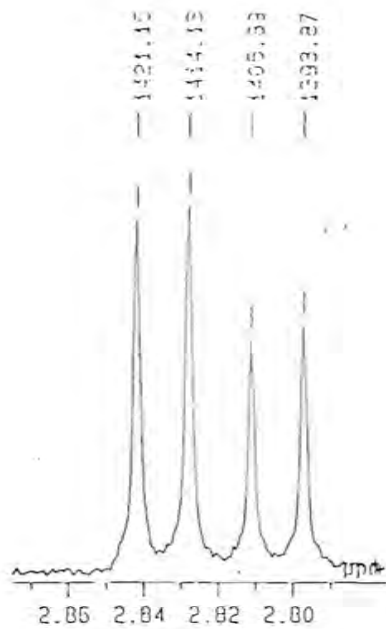
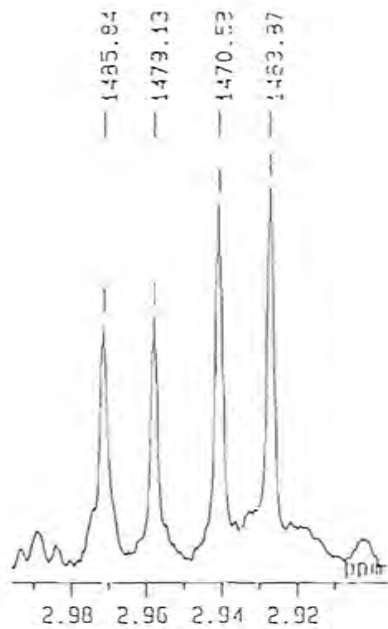
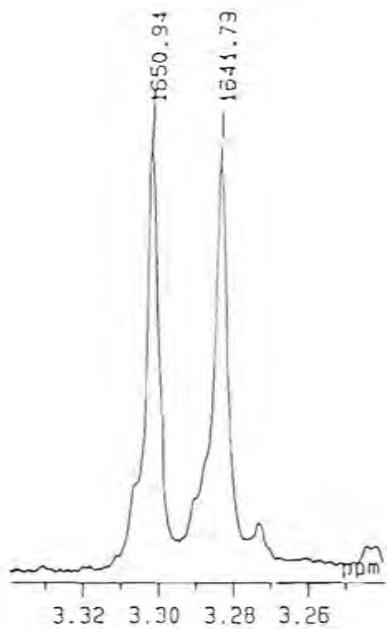
รูปที่ 7 แสดงโครมาโทแกรมของส่วนที่ 18-21 ที่แยกด้วย HPLC



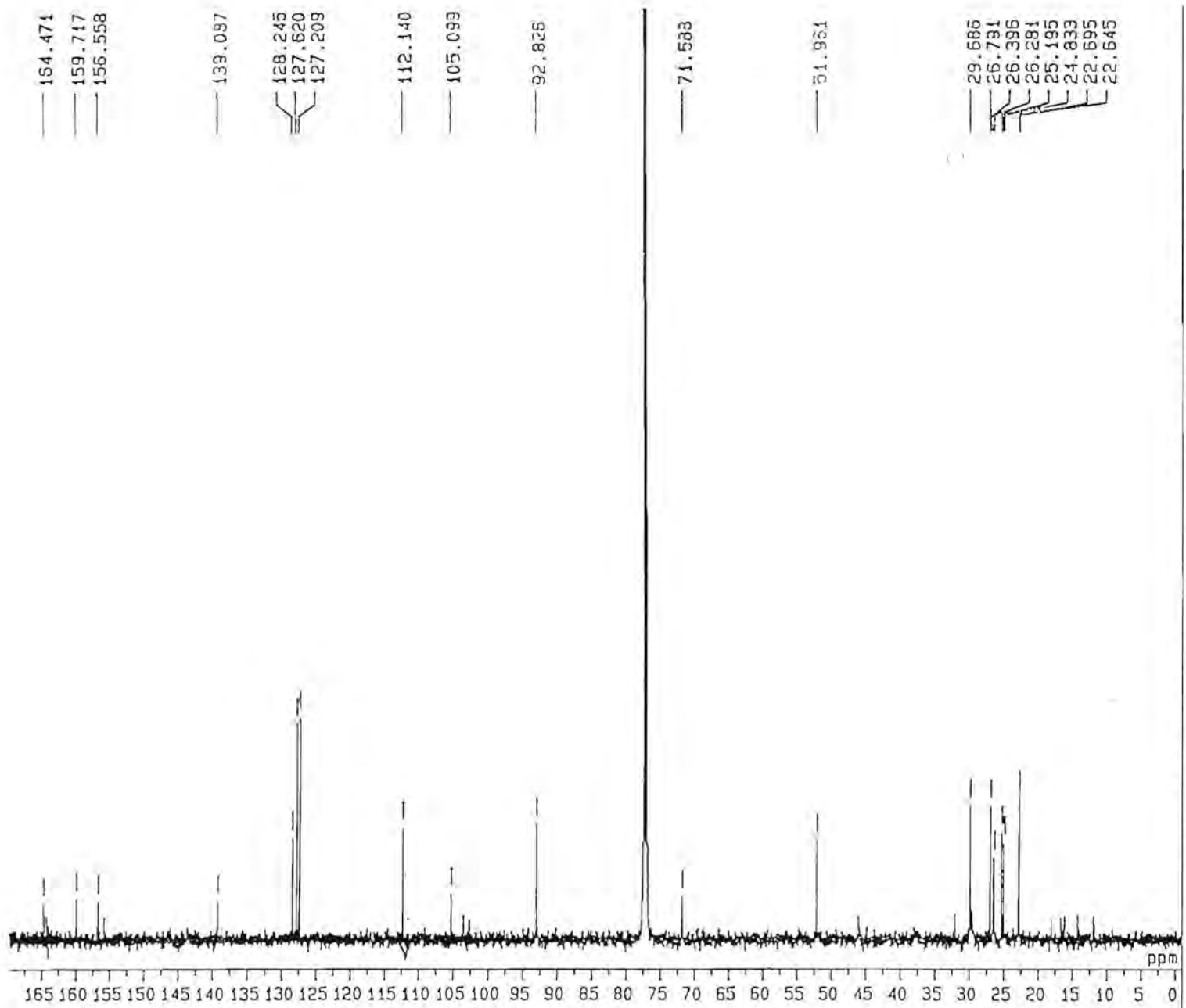
รูปที่ 8 แสดงโปรตอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 2



รูปที่ 9 แสดงโปรตอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 2 (ภาพขยาย)



รูปที่ 10 แสดงโปรตอน เอ็มเอ็มอาร์ ของสาร 2 (ภาพขยาย)



16-FEB-1999 14:23:14.51  
\*\*\*\*\*  
\* CHULALONGKORN UNIVERSITY \*  
\* JNM-A500 \*  
\*\*\*\*\*

SFILE : [JNM] TON4U-BCM  
COMNT : TON4U-13C

EXMOD : SINGL  
IRMOD : BCM  
POINT : 16384  
FREQU : 33898.31 Hz  
SCANS : 10000  
DUMMY : 4  
ACQTH : 0.4833 sec  
PD : 2.0000 sec  
RGAIN : 23  
PWI : 4.90 usec  
OBNUC : 13C  
QBFRQ : 125.65 MHz  
OBSET : 127958.00 Hz

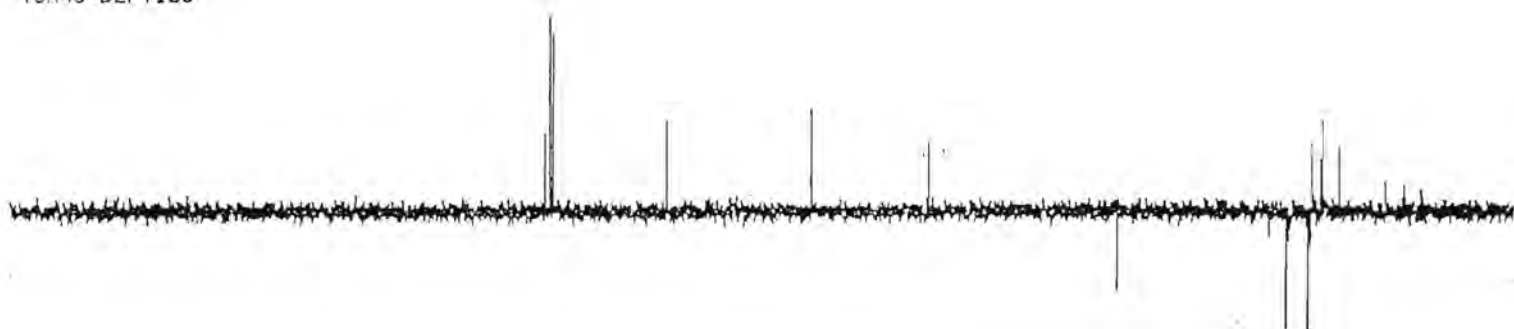
IRNUC : 1H  
IRFRQ : 500.00 MHz  
IRSET : 162410.00 Hz  
IRATN : 120  
IRRPW : 55.0 usec  
IRBP1 : 30  
IRBP2 : 6  
IRRNS : 0

AOBIT : 16  
CTEHP : 24.3 c  
CSPED : 11 Hz  
SLVNT : CDCL3  
RESOL : 2.07 Hz  
BF : 2.07 Hz  
REFVL : 77.00 ppm  
XE : 21505.06 Hz  
XS : 2021.40 Hz

OPERATOR :

รูปที่ 11 แสดงคาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 2

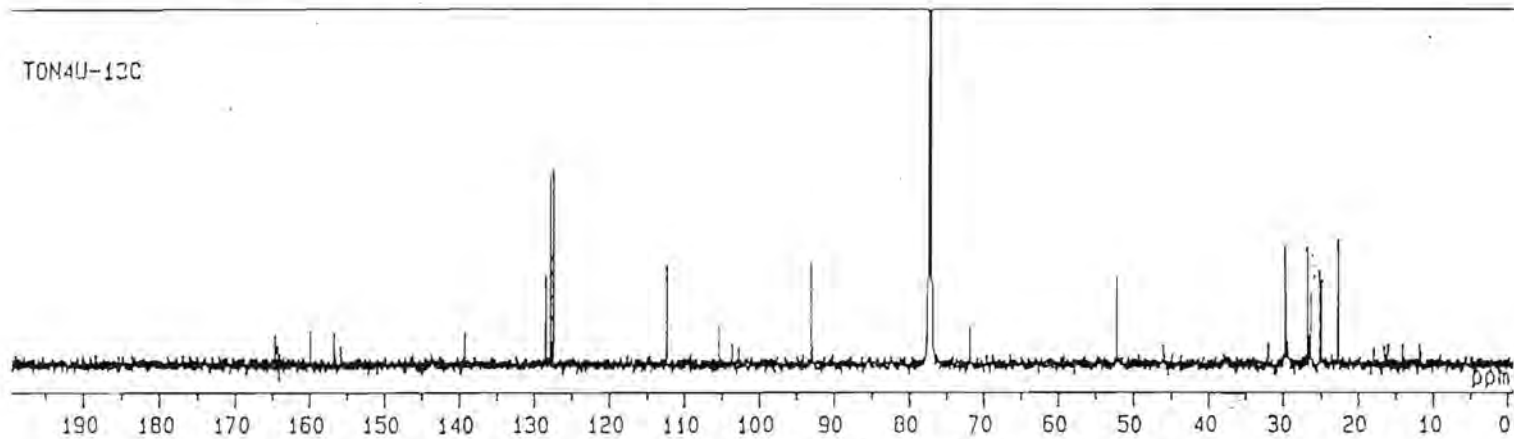
TON4U-DEPT135



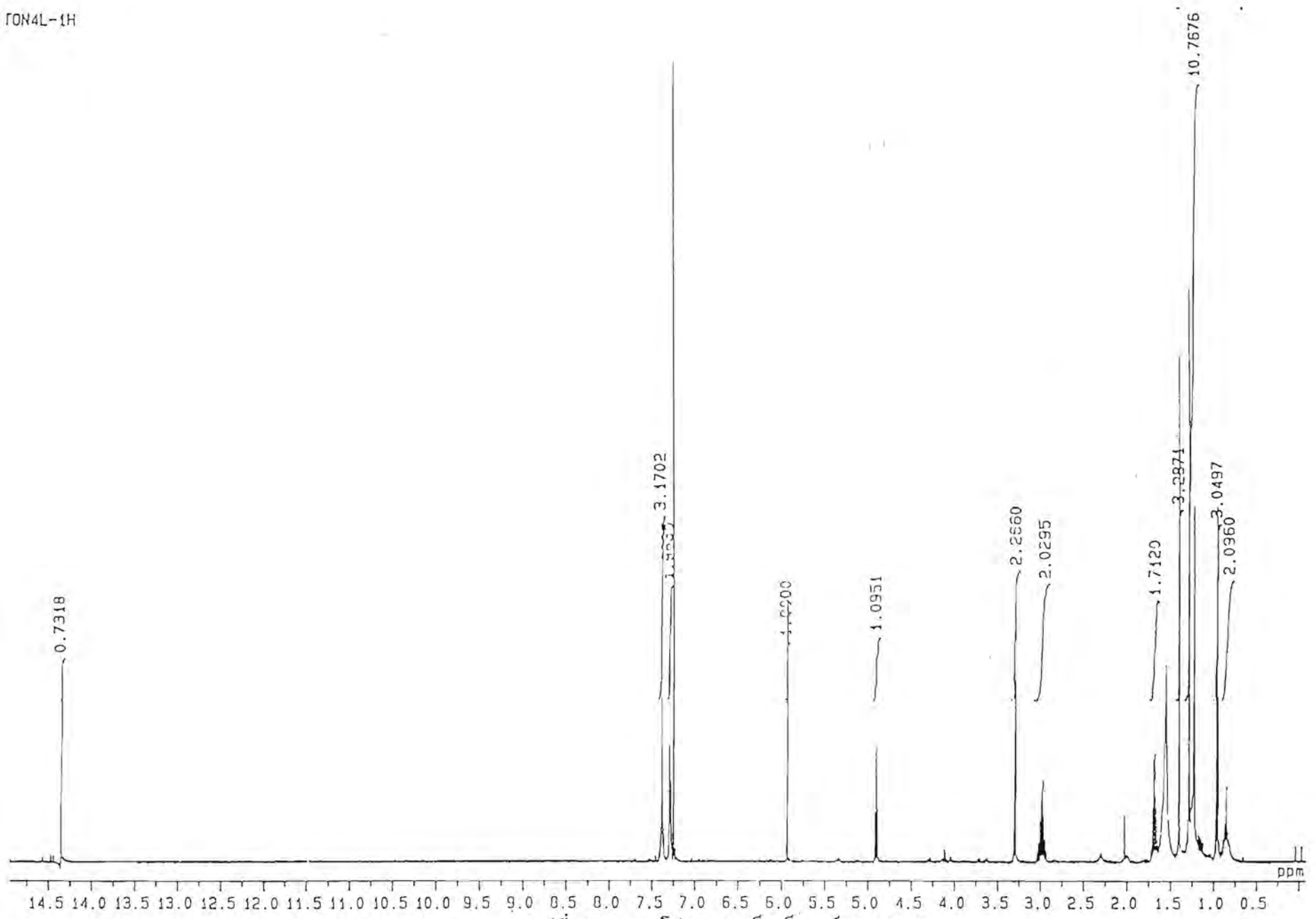
TON4U-DEPT90



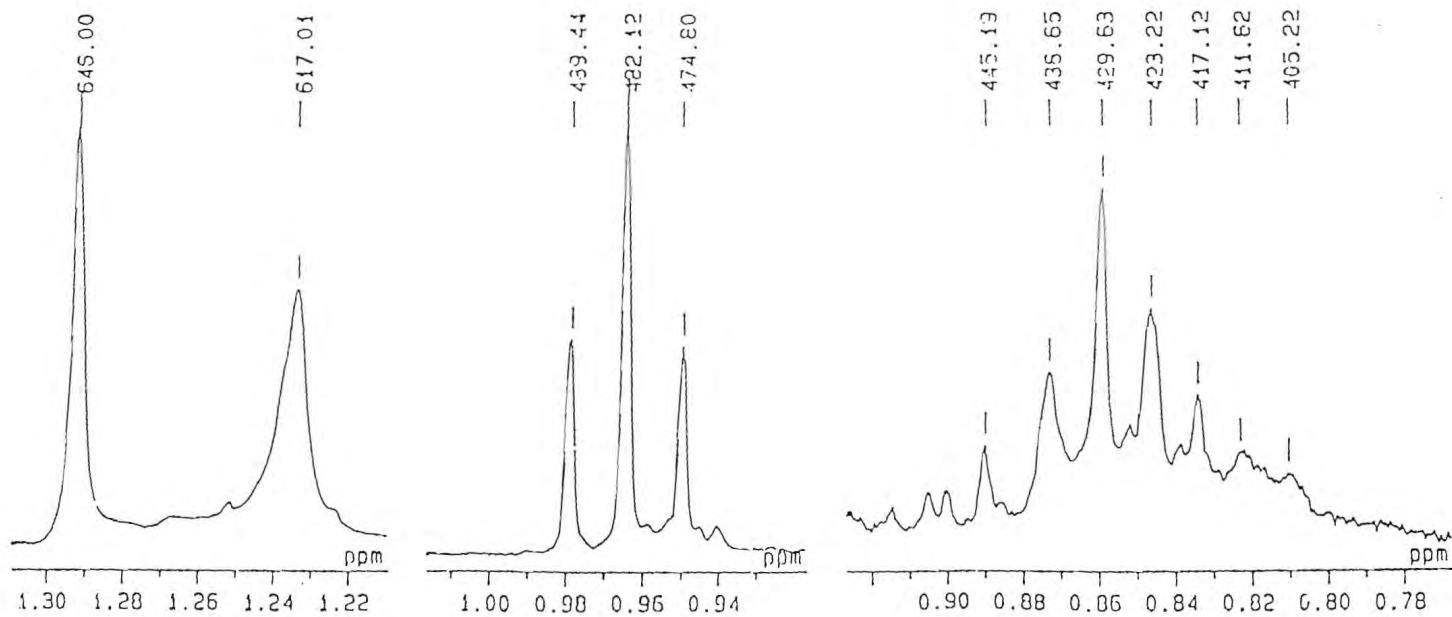
TON4U-13C



รูปที่ 12 แสดง DEPT 135, DEPT 90, คาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 2

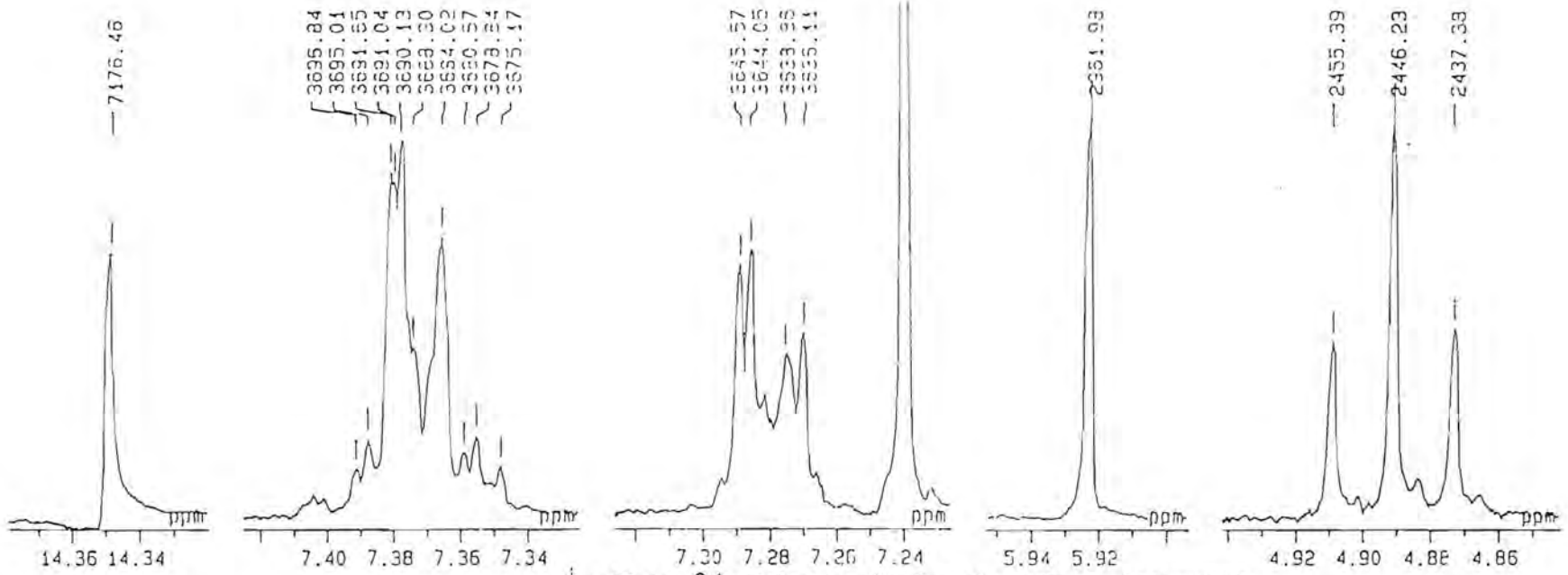
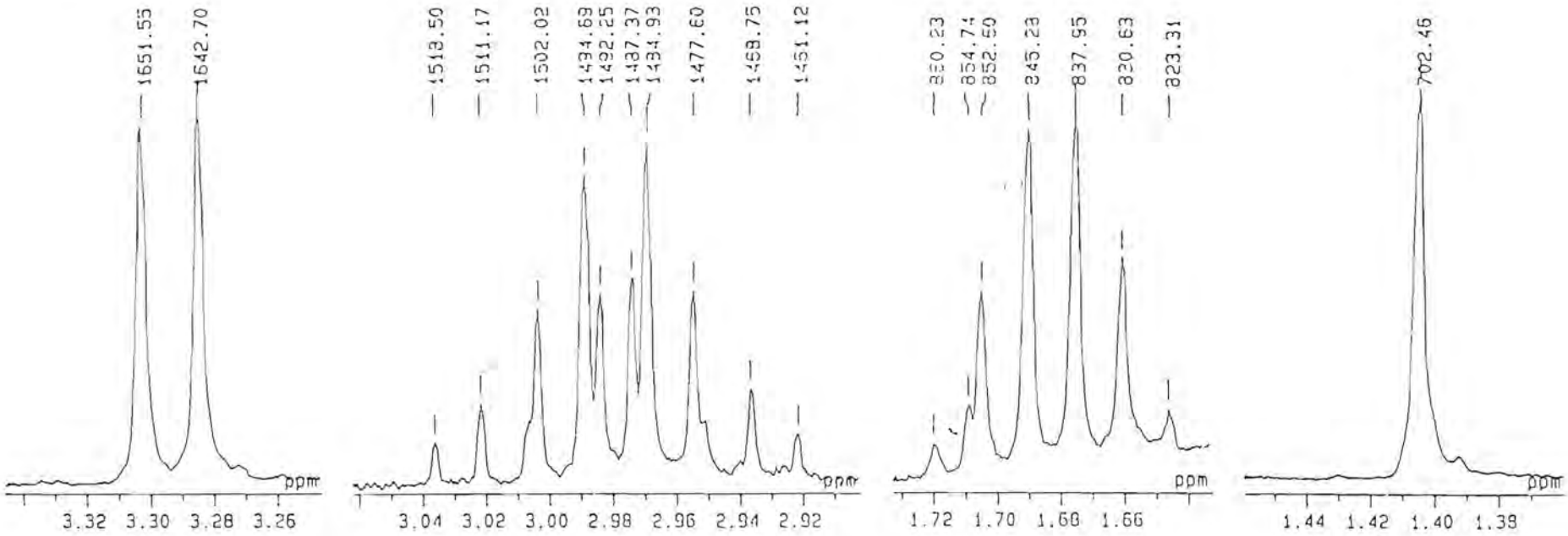


รูปที่ 13 แสดงโปรตอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3



รูปที่ 14 แสดงโปรตอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3 (ภาพขยาย)





รูปที่ 15 แสดงโปรตอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3 (ภาพขยาย)

— 205.319

164.306  
164.125  
159.733  
156.541  
155.620

— 139.070

128.262  
127.620  
127.193

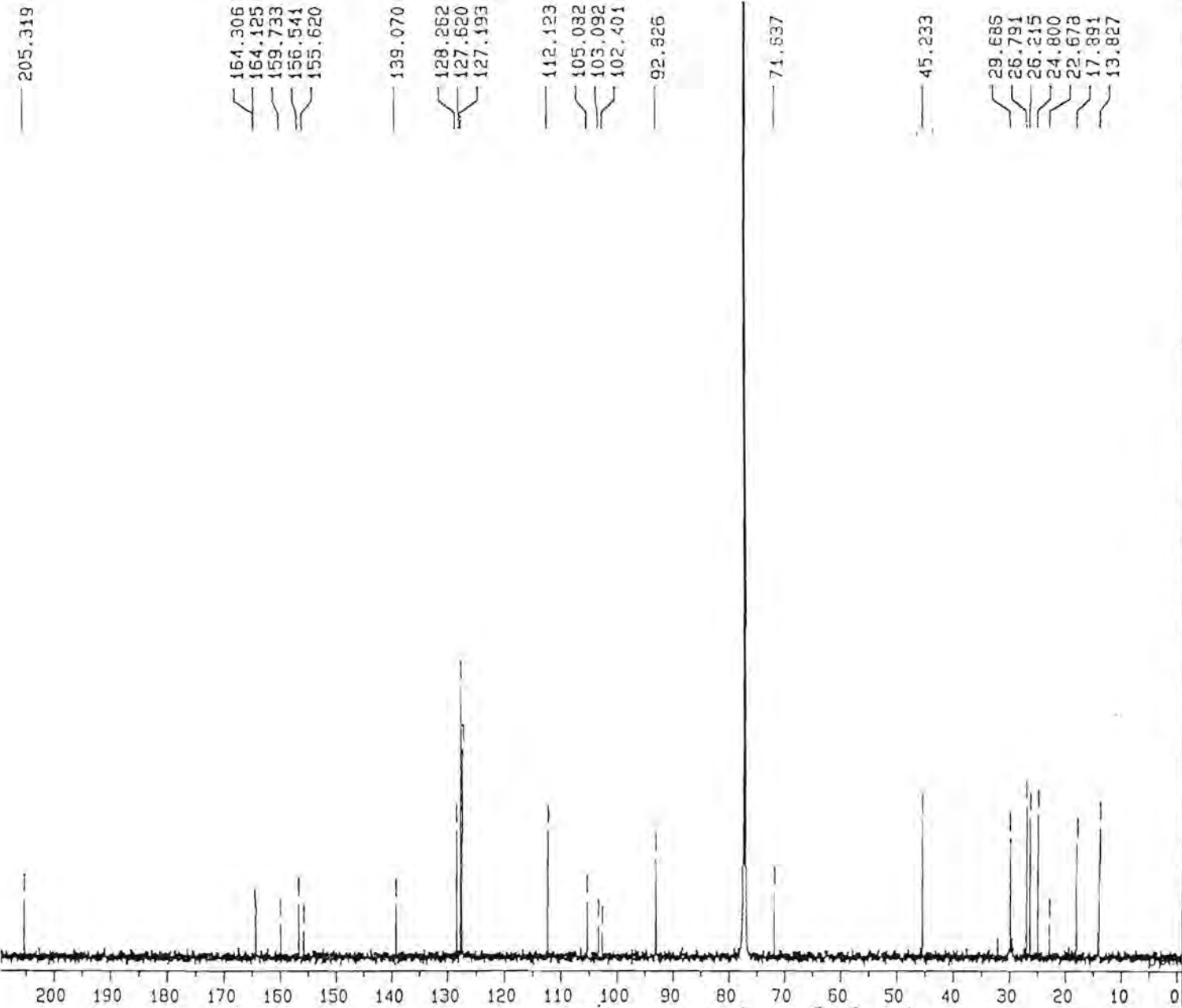
— 112.123  
105.032  
103.092  
102.401

— 92.826

— 74.537

— 45.233

29.686  
26.791  
26.215  
24.800  
22.678  
17.891  
13.827



16-FEB-1999 11:01:18.31  
 DFILE : ALPHA  
 SFILE : [.HHO] TON4L-BCM

COMNT : TON4L-13C  
 EXMOD : SINGL  
 IRMOD : BCM  
 POINT : 16384  
 FREQU : 33090.31 Hz  
 SCANS : 16000  
 DUMHY : 4  
 ACQTH : 0.4833 sec  
 PD : 2.0000 sec  
 RGAIN : 23

PW1 : 4.90 usec

OBNUC : 13C  
 OBFRQ : 125.65 MHz  
 OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
 IRFRQ : 500.00 MHz  
 IRSET : 162410.00 Hz  
 IRAATN : 120  
 IRRPW : 55.0 usec  
 IRBP1 : 30  
 IRBP2 : 6  
 IRRNS : 0

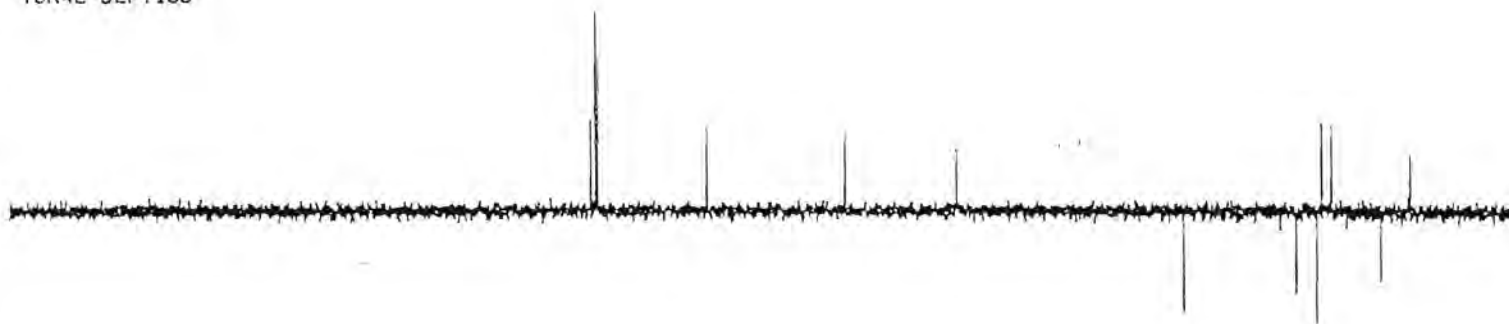
ADBIT : 16  
 CTEHP : 27.1 c  
 CSPED : 11 Hz  
 SLVNT : CDCL3

RESOL : 2.07 Hz  
 BF : 2.07 Hz  
 T1 : 0.00 X  
 T2 : 0.00 X  
 T3 : 90.00 X  
 T4 : 100.00 X  
 REFVL : 77.00 ppm  
 XE : 26534.78 Hz  
 XS : -493.45 Hz

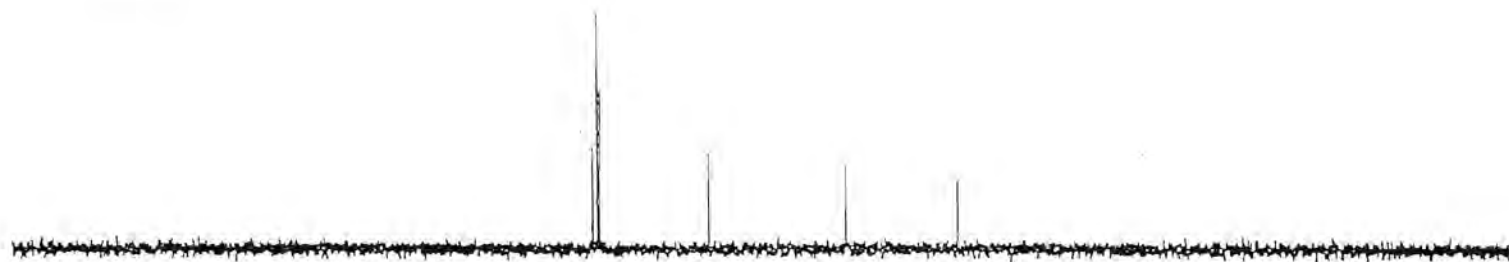
operator

รูปที่ 16 แสดงคาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3

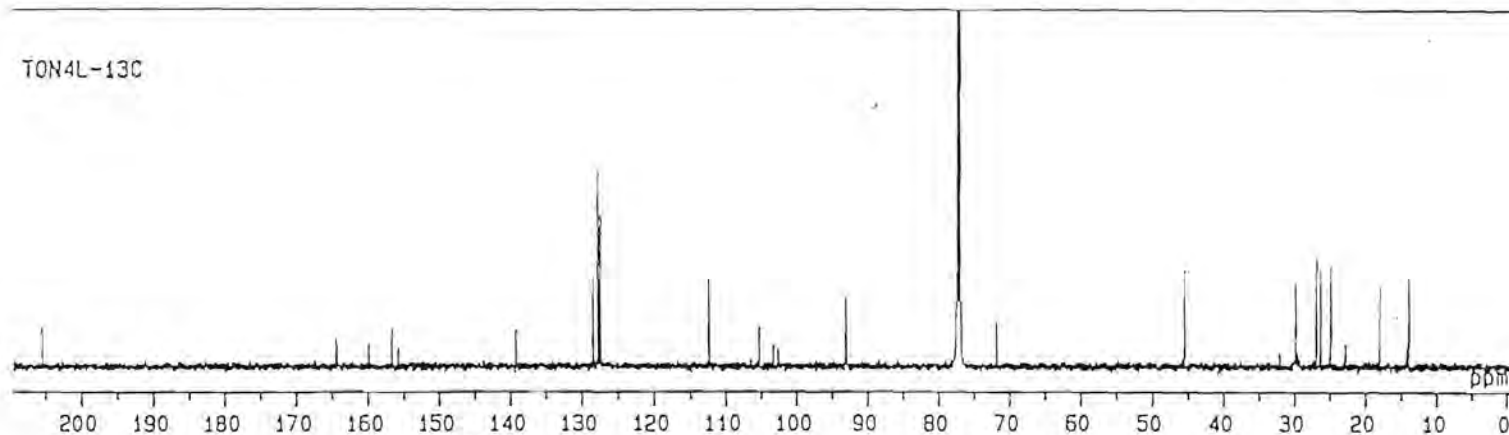
TON4L-DEPT135



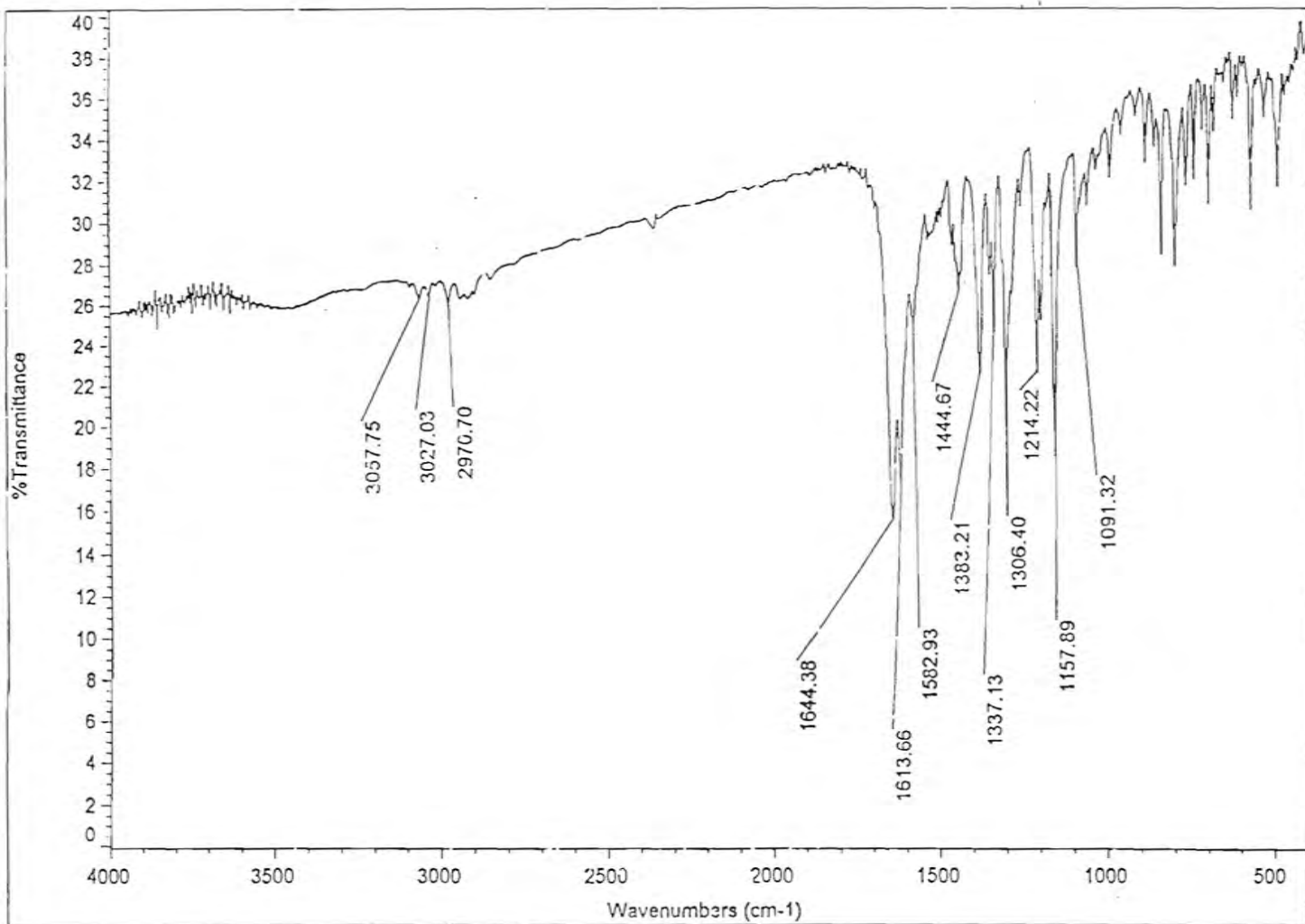
TON4L-DEPT90



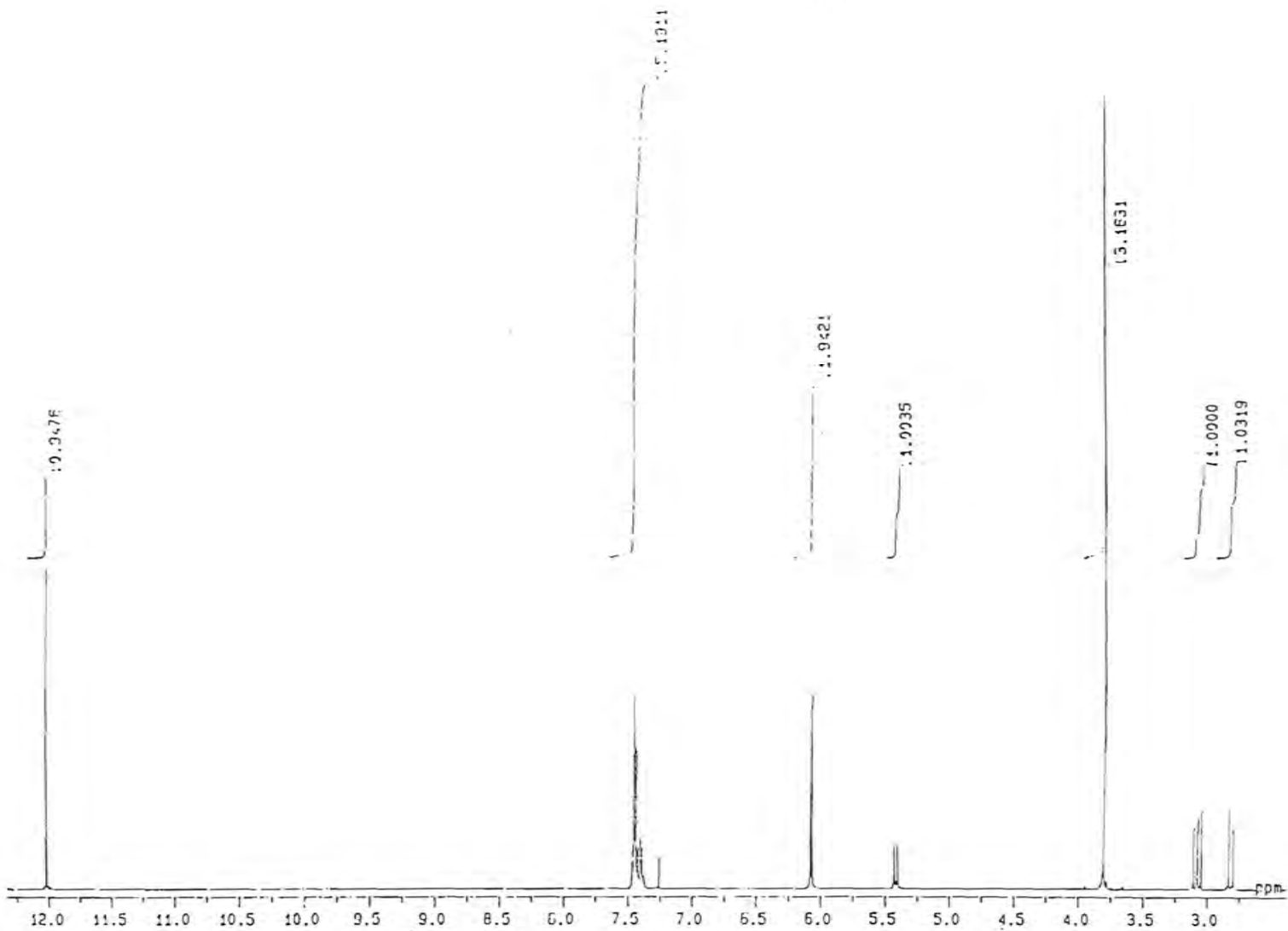
TON4L-13C



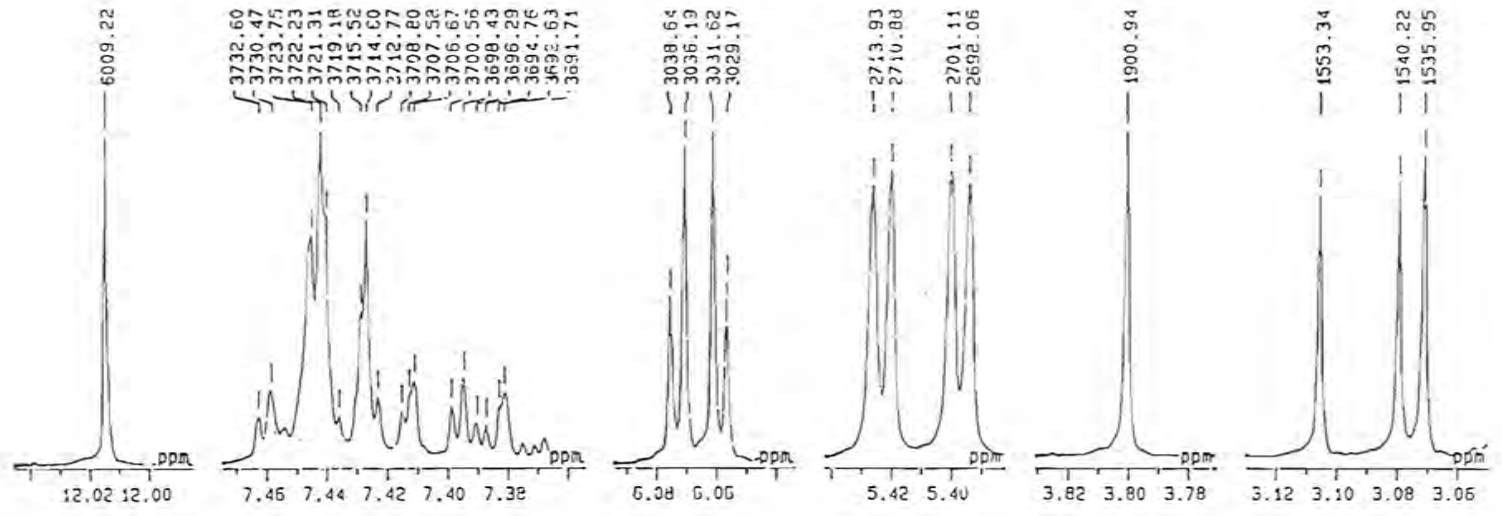
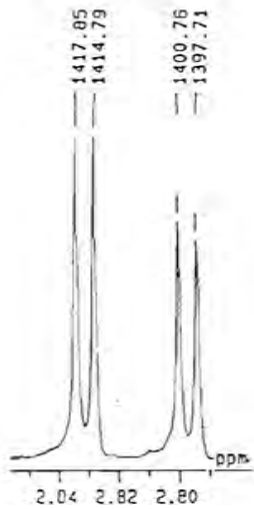
รูปที่ 17 แสดง DEPT 135, DEPT 90, คาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ ของสาร 3



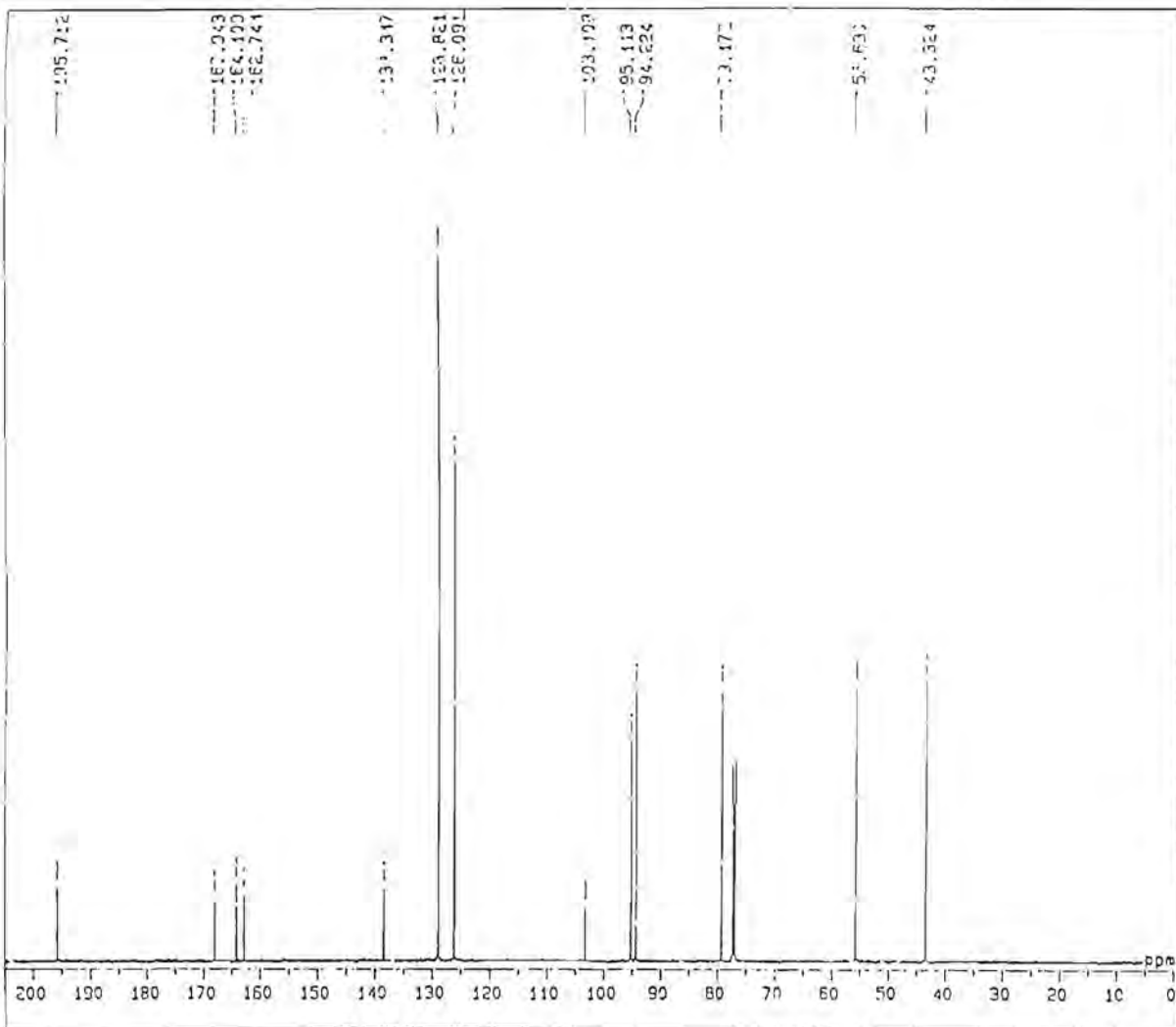
รูปที่ 18 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 4



รูปที่ 19  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 4



รูปที่ 20 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของสาร 4 (ภาพขยาย)



26-Dec-1996 09:39:49.24

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX  
 X CHULALONGKORN UNIVERSITY X  
 X JNM-A500 X  
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

SPFILE : [JNM]F-1-BCH  
 CONIT : F-1-13C

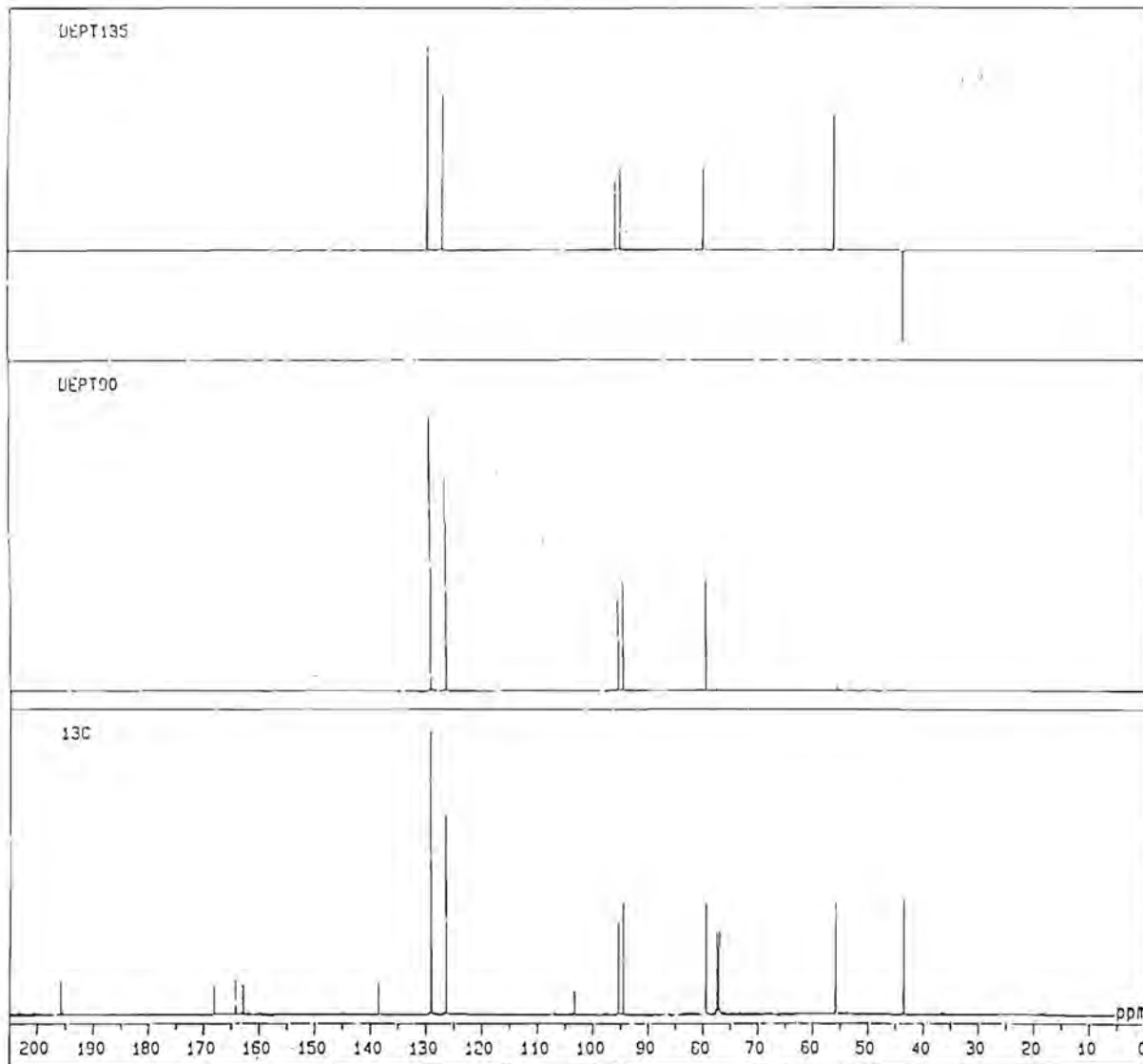
EXMOD : SINGL  
 IRMOD : BCH  
 POINT : 16384  
 FREQU : 33898.31 Hz  
 SCANS : 500  
 DUMPY : 4  
 ACQTH : 0.4833 sec  
 PD : 2.0000 sec  
 RGAIN : 23  
 CW1 : 4.90 usec  
 CBMUC : 13C  
 OBFAG : 125.65 MHz  
 OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
 IRFAG : 500.00 MHz  
 IRSET : 162410.00 Hz  
 IRATN : 120  
 IRRPH : 55.0 usec  
 IRBP1 : 30  
 IRBP2 : 5  
 IRRMS : 0

ADBIT : 16  
 CTEJP : -204.8 c  
 CSPED : 12 Hz  
 SLVNT : CDCL3  
 RESOL : 2.07 Hz  
 BF : 2.07 Hz  
 REFVL : 77.00 ppm  
 XF : 25905.80 Hz  
 XS : 311.38 Hz

OPERATOR :

รูปที่ 21 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสาร 4



26-DEC-1996 09:43:03.43

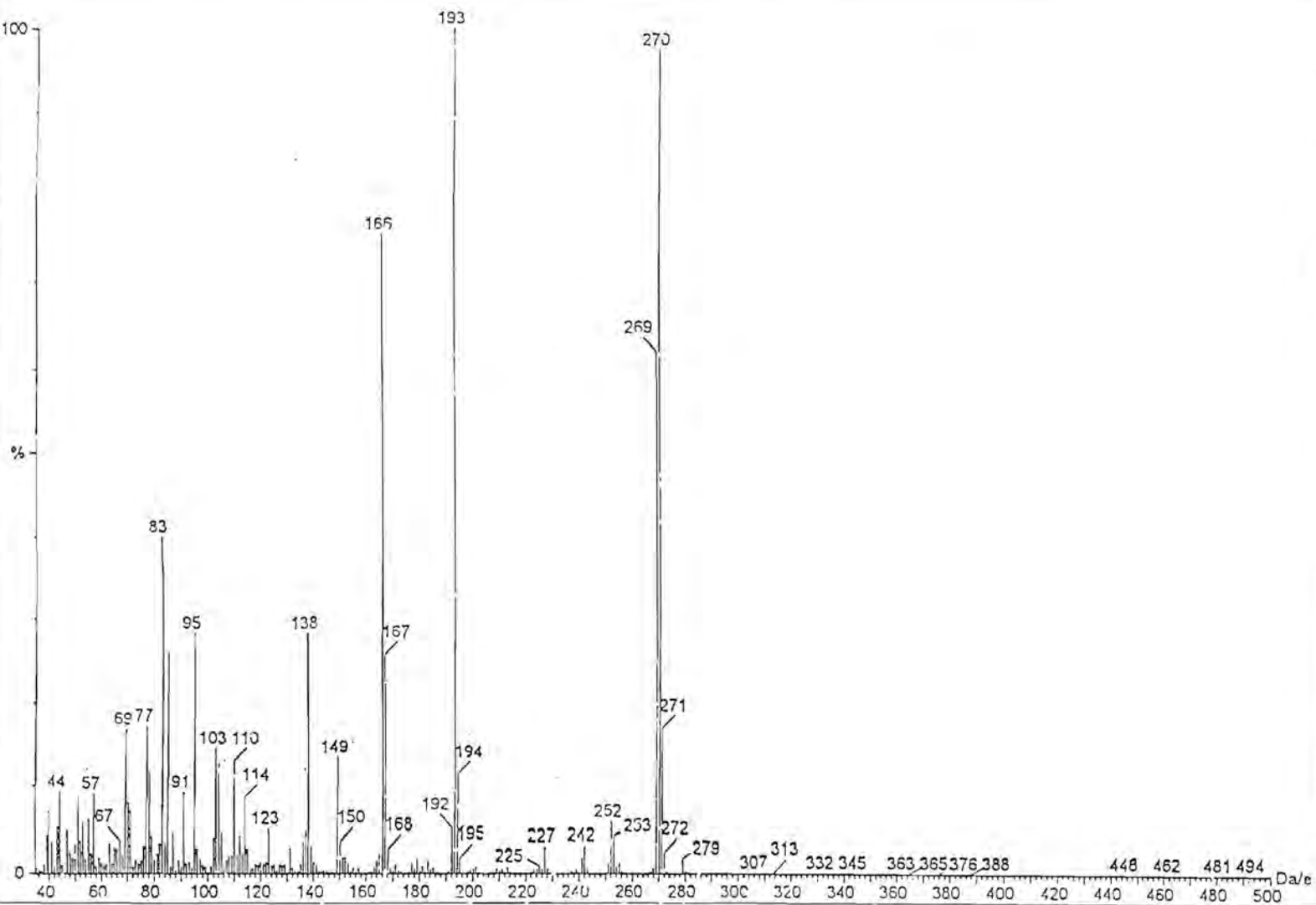
Spectrum 1  
DFILE : ALPHA  
OBNUC : 13C

Spectrum 2  
DFILE : [.MNA]F-1-D90  
OBNUC : 13C

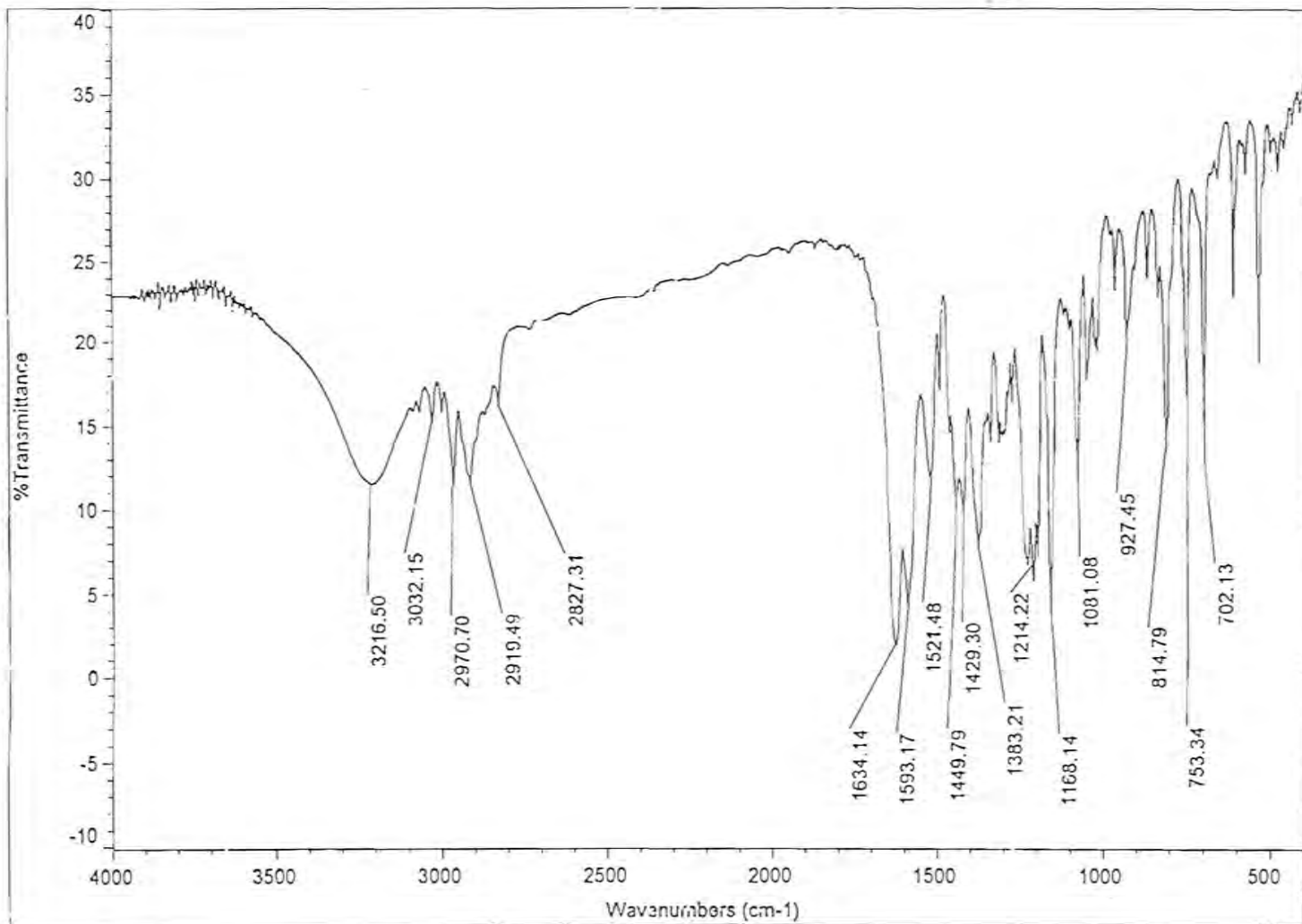
Spectrum 3  
DFILE : [.MNA]F-1-D135  
OBNUC : 13C

รูปที่ 22 DEPT 135, DEPT 90,  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสาร 4

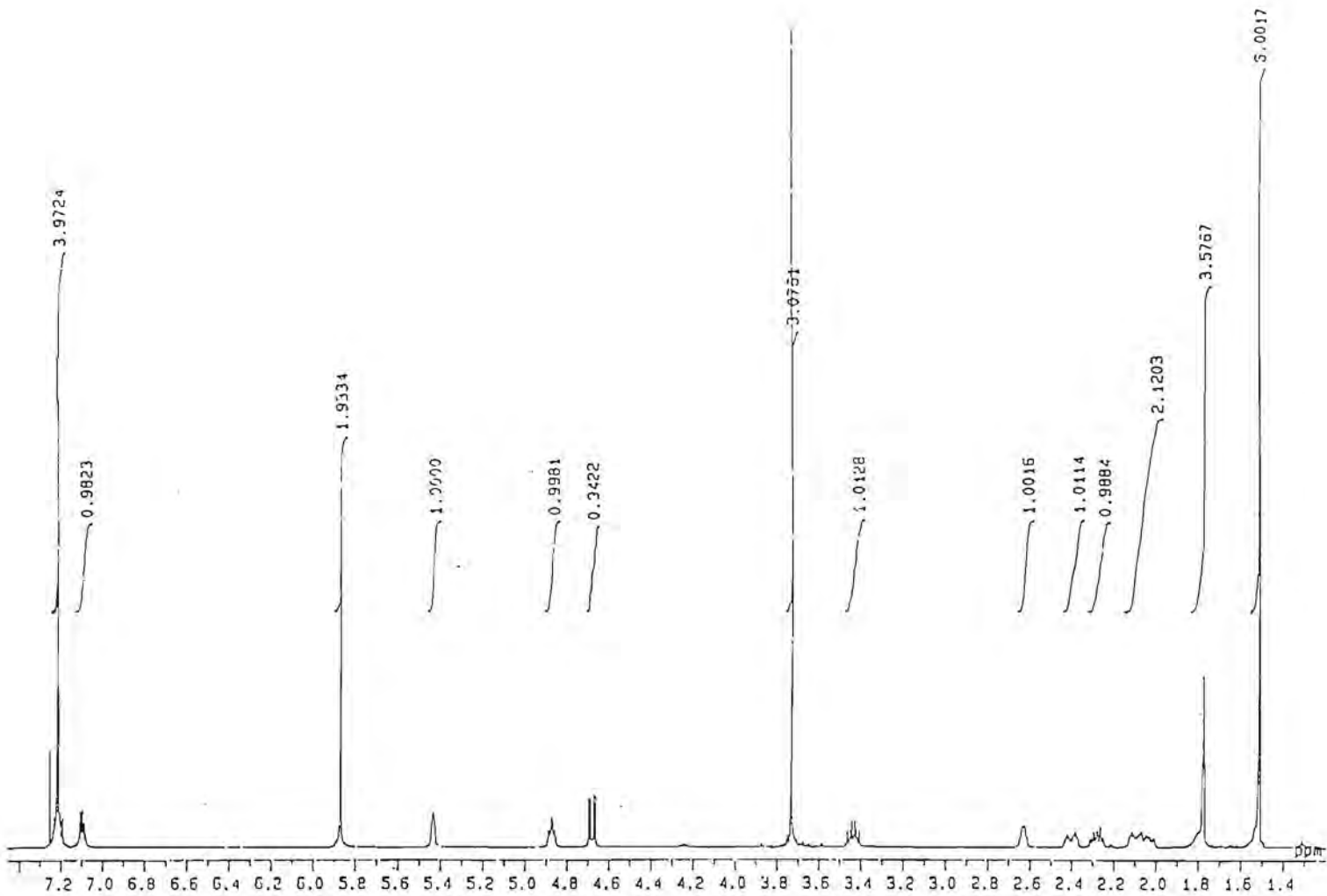




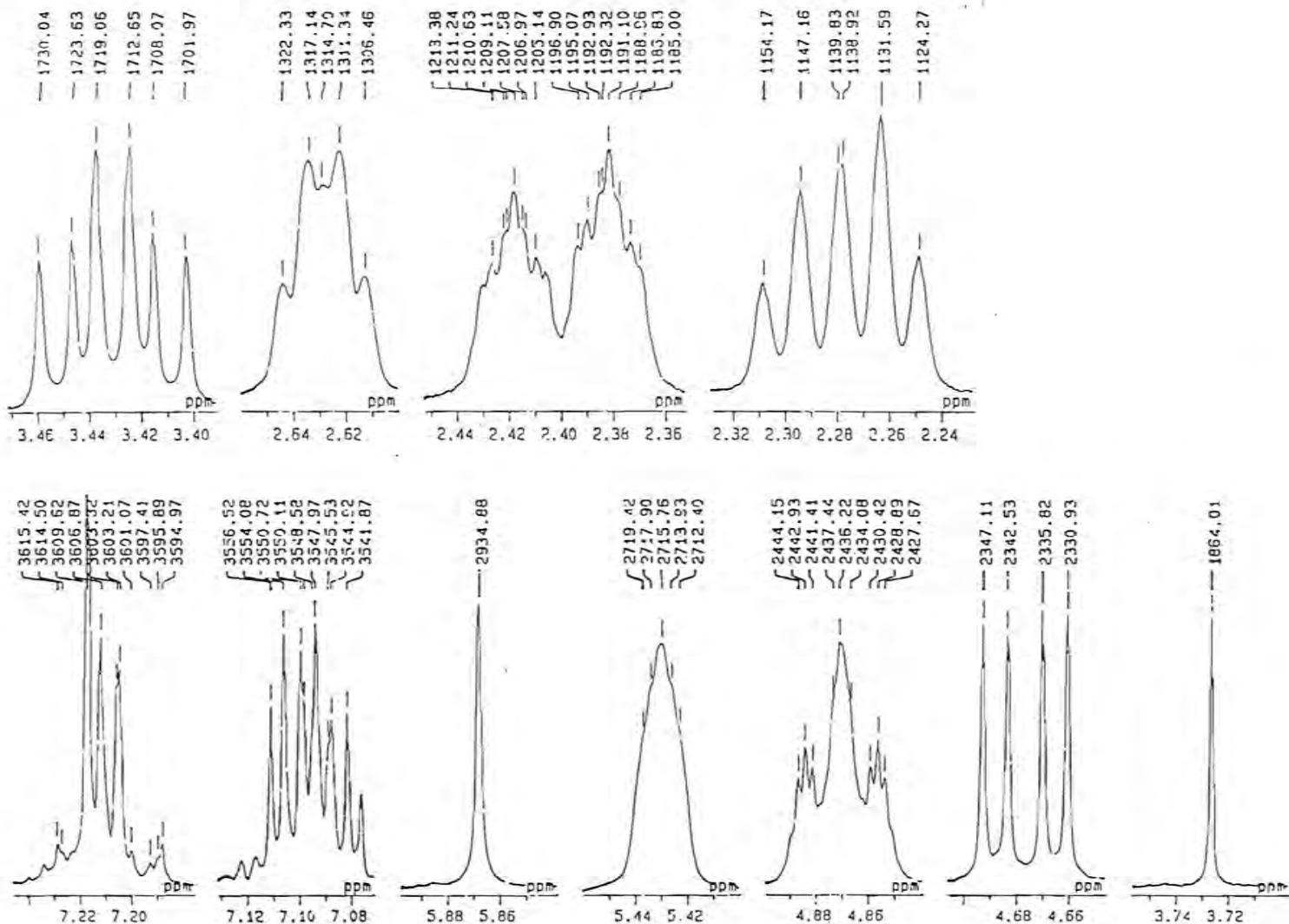
รูปที่ 23 แมสสเปกตรัมของสาร 4



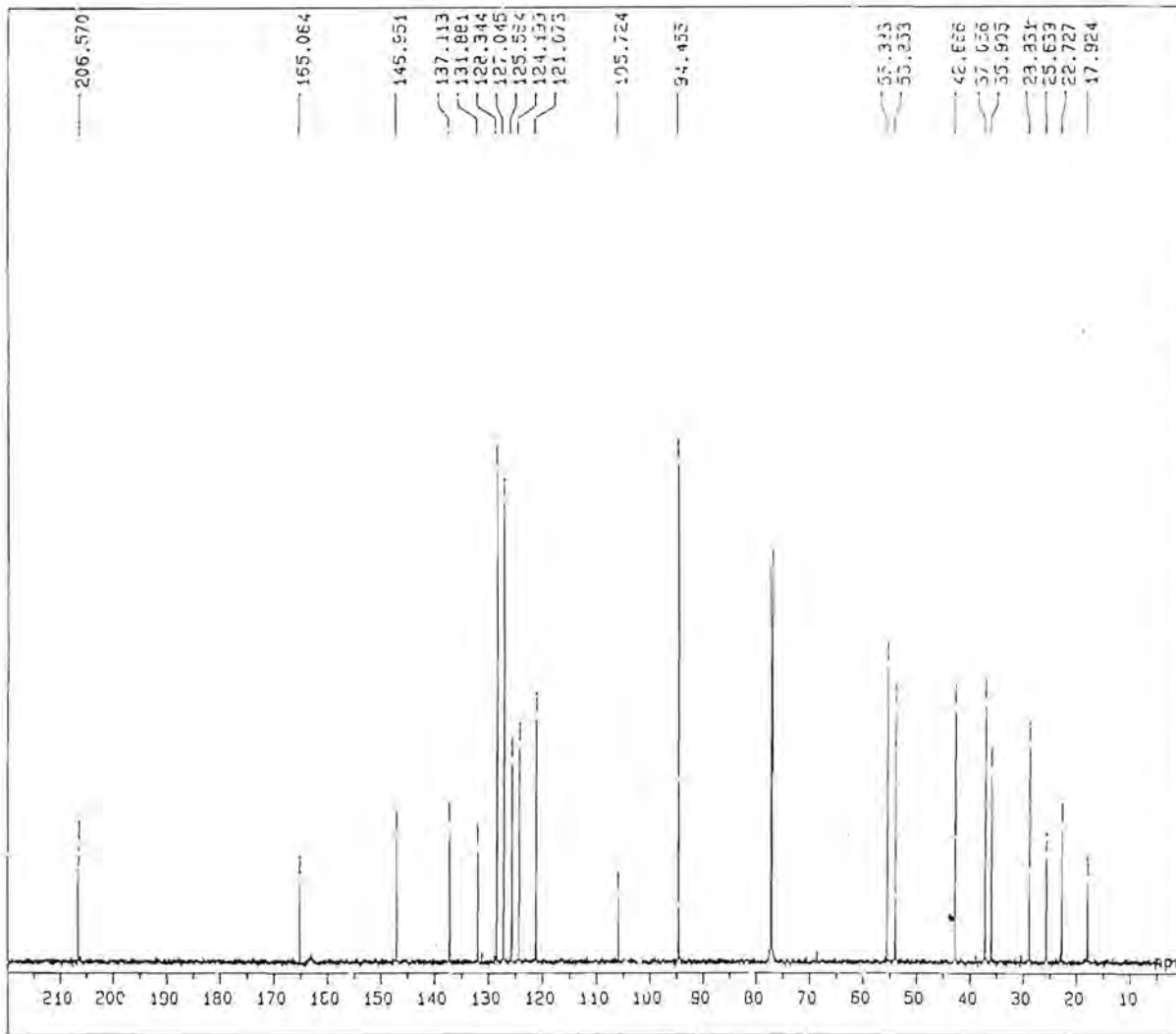
รูปที่ 24 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 5



รูปที่ 25  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 5



รูปที่ 26  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 5 (ภาพขยาย)



6-JAN-1997 11:30:25.75

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX  
 X CHULALONGKORN UNIVERSITY X  
 X JNM-A500 X  
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

SF1LE : (.HNA)F-2-BCH  
 COMNT : F-2-13C

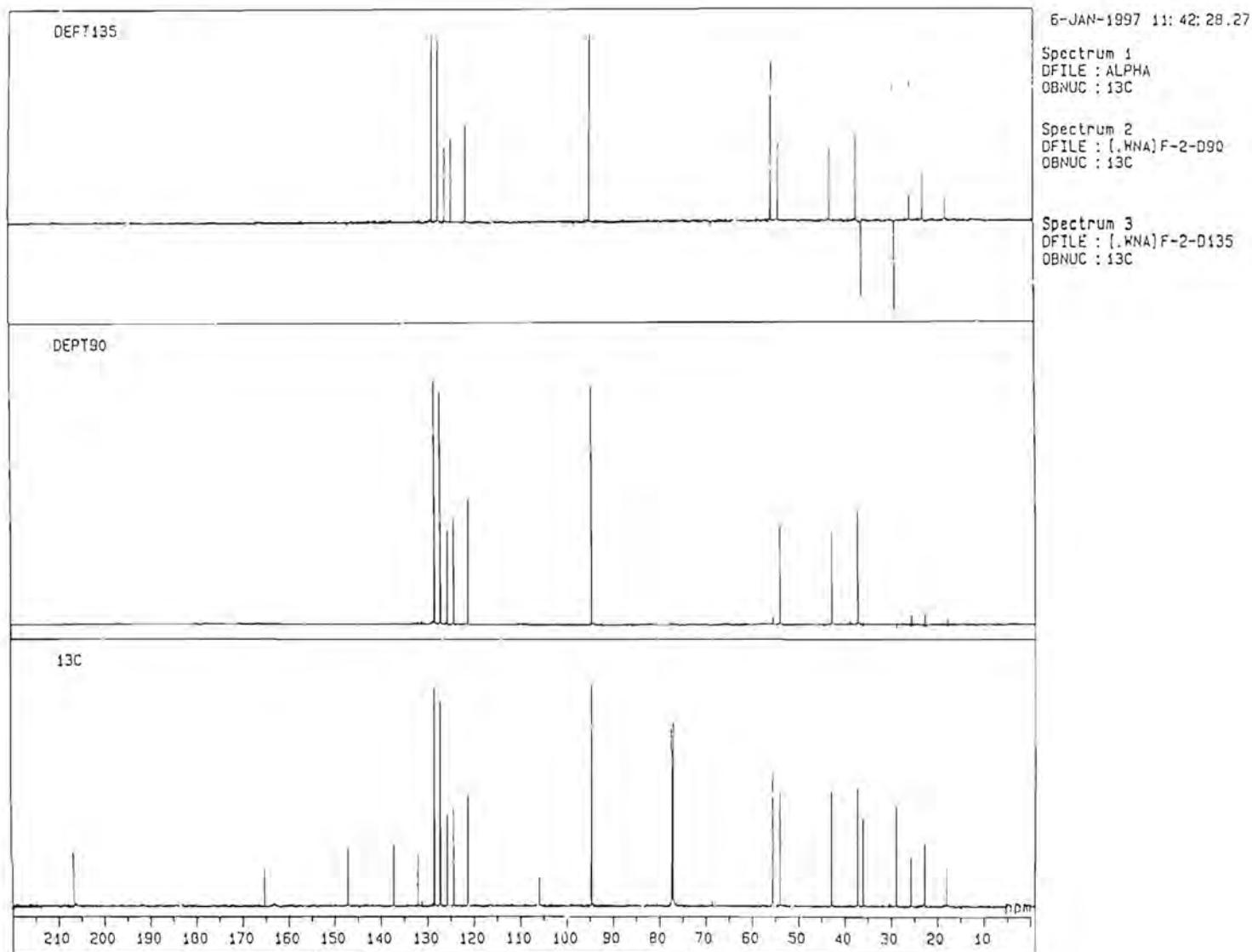
EXMOD : SINGL  
 IRMOD : BCH  
 POINT : 16384  
 FREQU : 33898.31 Hz  
 SCANS : 600  
 DUMHY : 4  
 ACQTH : 0.4833 sec  
 PD : 2.0000 sec  
 RGAIN : 23  
 PW1 : 4.90 usec  
 OBNUC : 13C  
 OBFRQ : 125.65 MHz  
 OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
 IRFRC : 500.00 MHz  
 IRSET : 162410.00 Hz  
 IRATN : 120  
 IRRPW : 55.0 usec  
 IABP1 : 30  
 IABP2 : 6  
 IARRS : 0

ADBIT : 16  
 CTEMP : 28.0 c  
 CSPED : 11 Hz  
 SLVNT : CDCL3  
 RESOL : 2.07 Hz  
 BF : 2.07 Hz  
 REFVL : 77.00 ppm  
 XE : 27792.72 Hz  
 XS : -627.94 Hz

OPERATOR :

รูปที่ 27 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสาร 5



รูปที่ 28 DEPT 135, DEPT 90,  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสาร 5

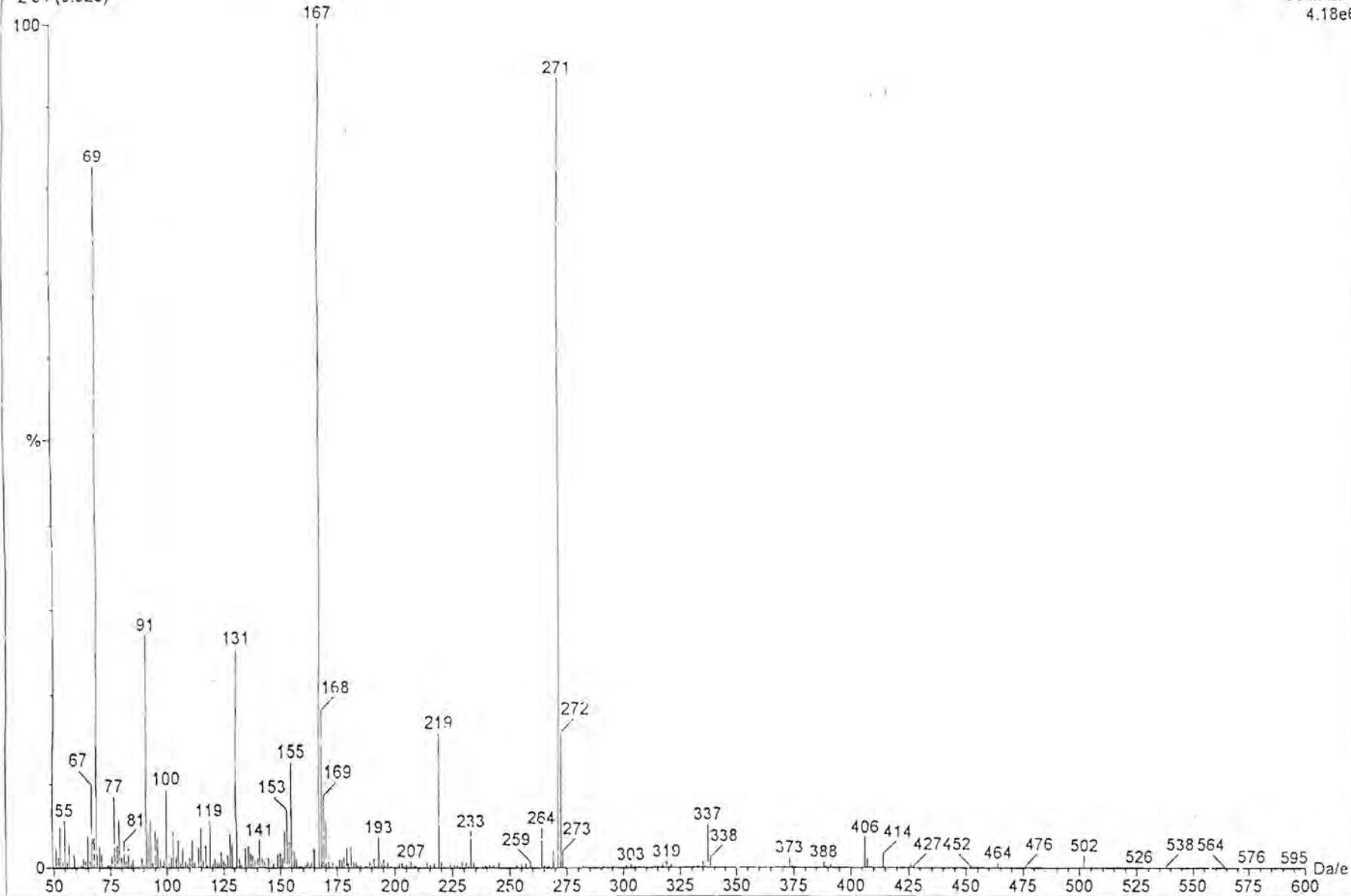
EI+

2 54 (0.925)

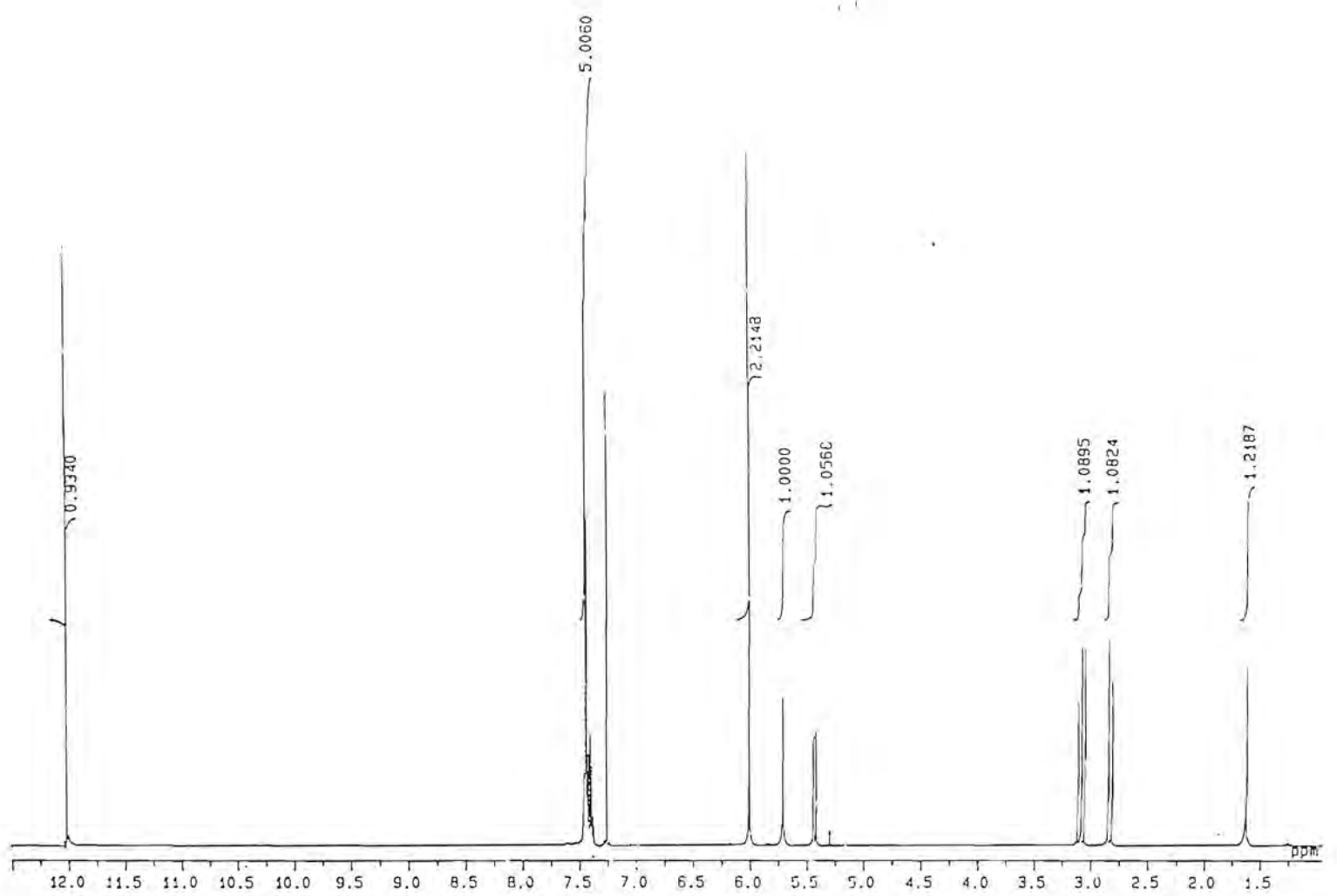
20-Feb-1997

Scan EI+

4.18e6

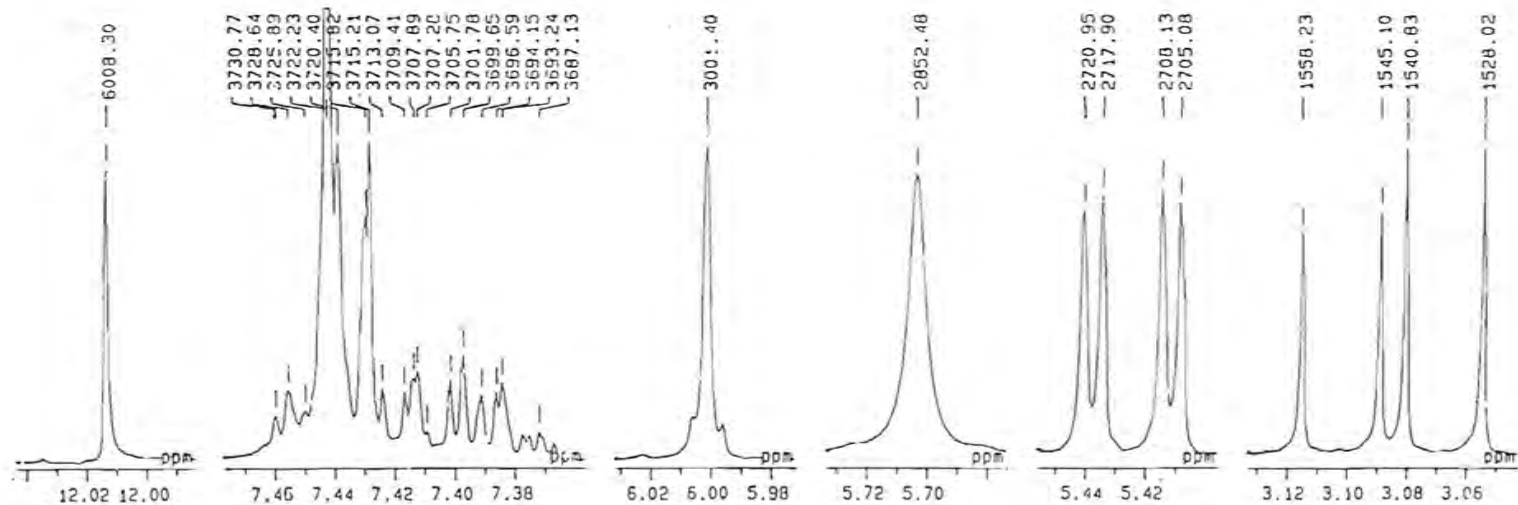
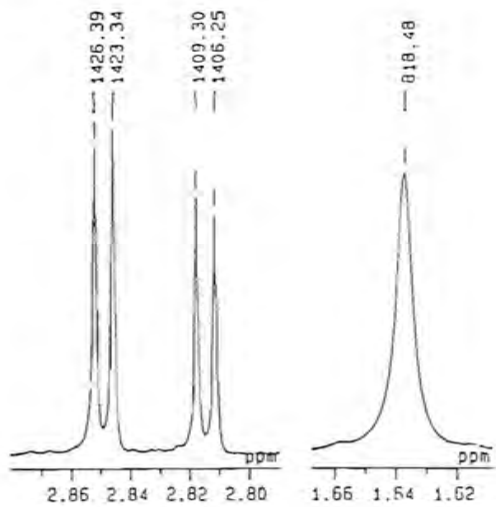


รูปที่ 29 แมสสเปกตรัมของสาร 5

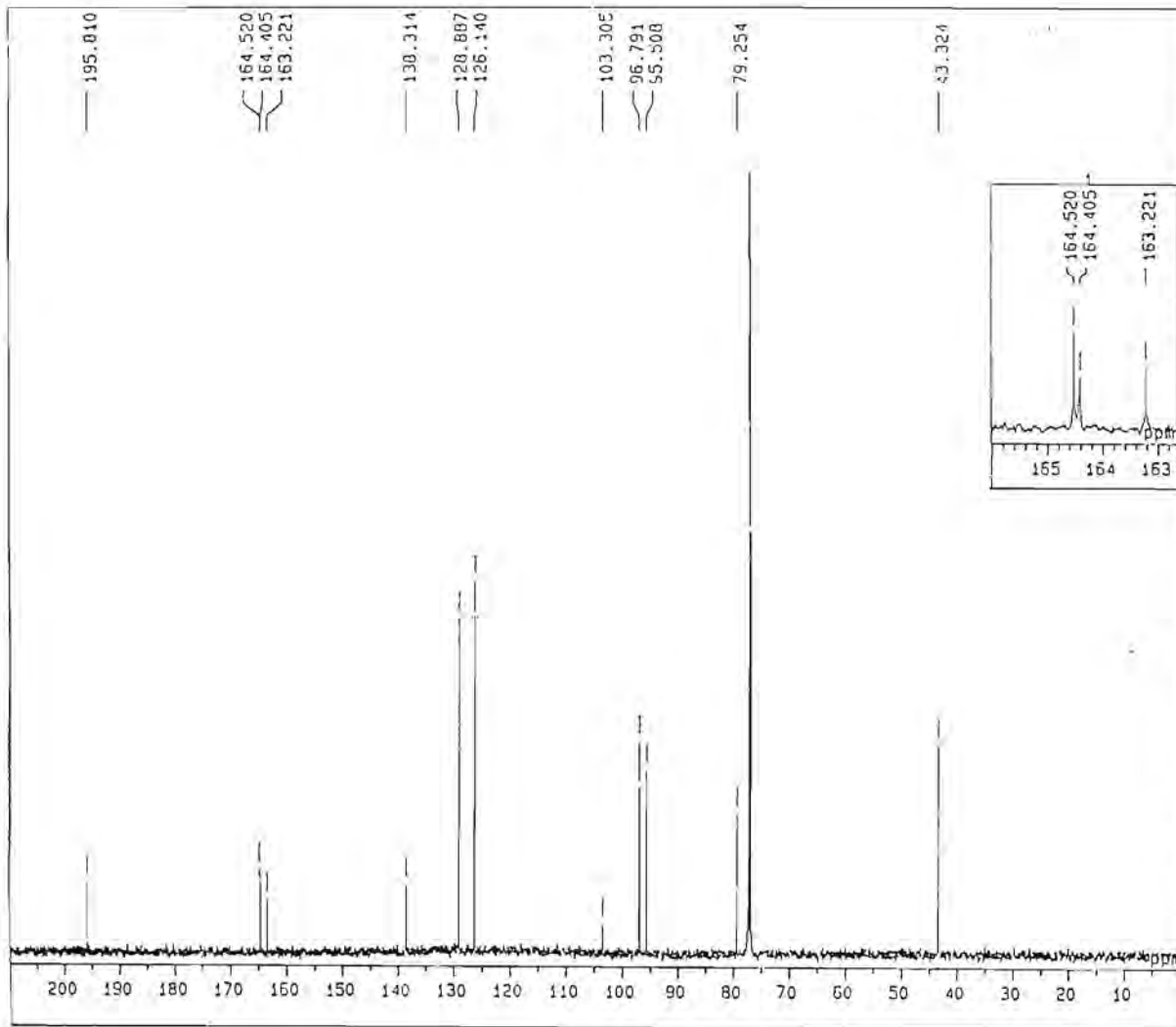


รูปที่ 30  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 6





รูปที่ 31  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 6 (ภาพขยาย)



10-APR-1998 18:35:14.05

\*\*\*\*\*  
\* CHULALONGKORN UNIVERSITY \*  
\* JNM-AS00 \*  
\*\*\*\*\*

SF1E : [.WNA]F-5-BCM  
COMNT : F-5-13C

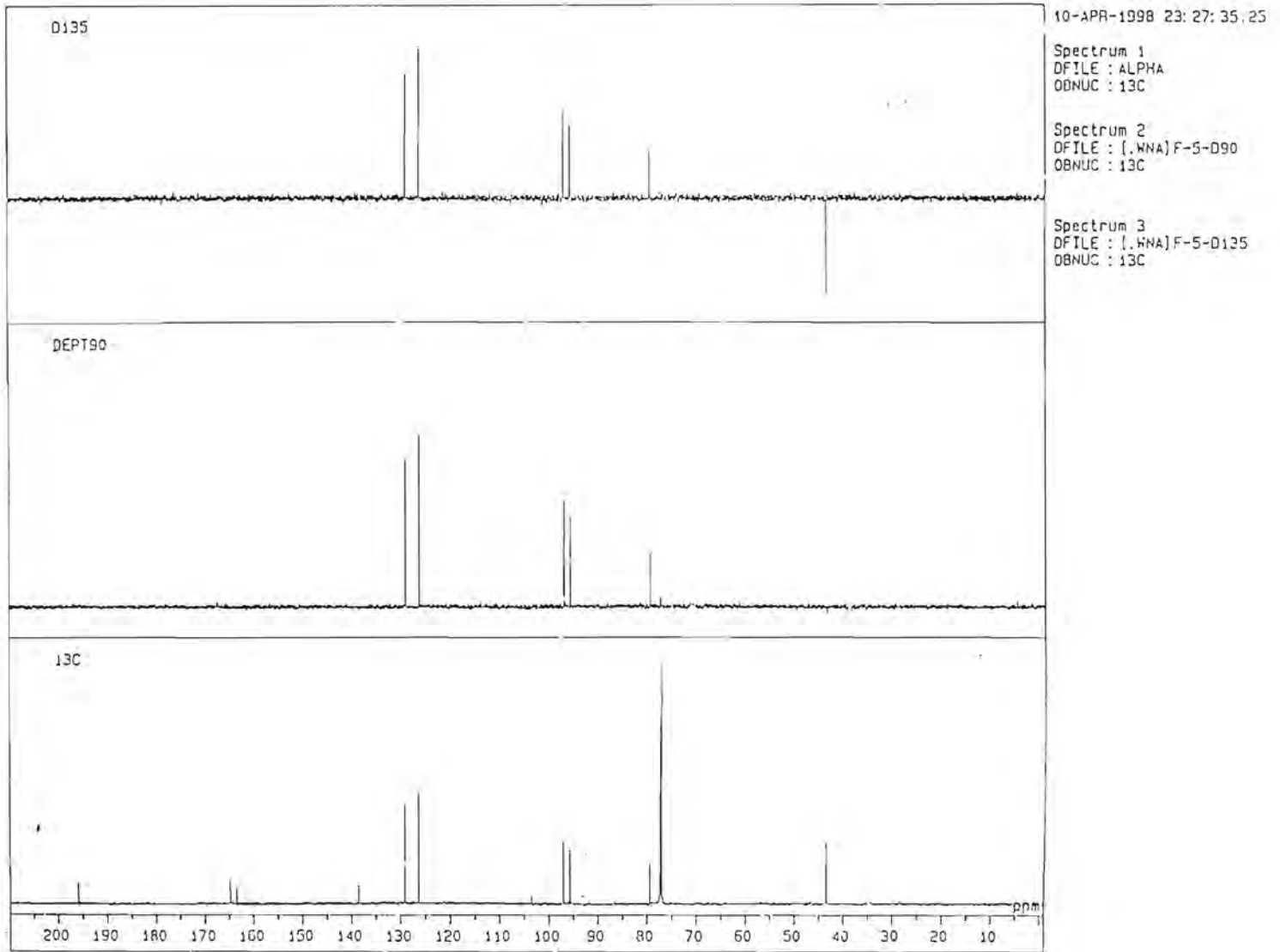
EXMOD : SINGL  
IRMOD : BCH  
POINT : 16384  
FREQU : 33898.31 Hz  
SCANS : 1780  
DUMMY : 4  
ACQTM : 0.4833 sec  
PD : 2.0000 sec  
RGAIN : 23  
PU1 : 4.90 usec  
OBNUC : 13C  
OSFRQ : 125.65 MHz  
OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
IRFRQ : 500.00 MHz  
IRSET : 162410.00 Hz  
IRATN : 120  
IRAPW : 55.0 usec  
IRBP1 : 30  
IRBP2 : 6  
IRRNS : 0

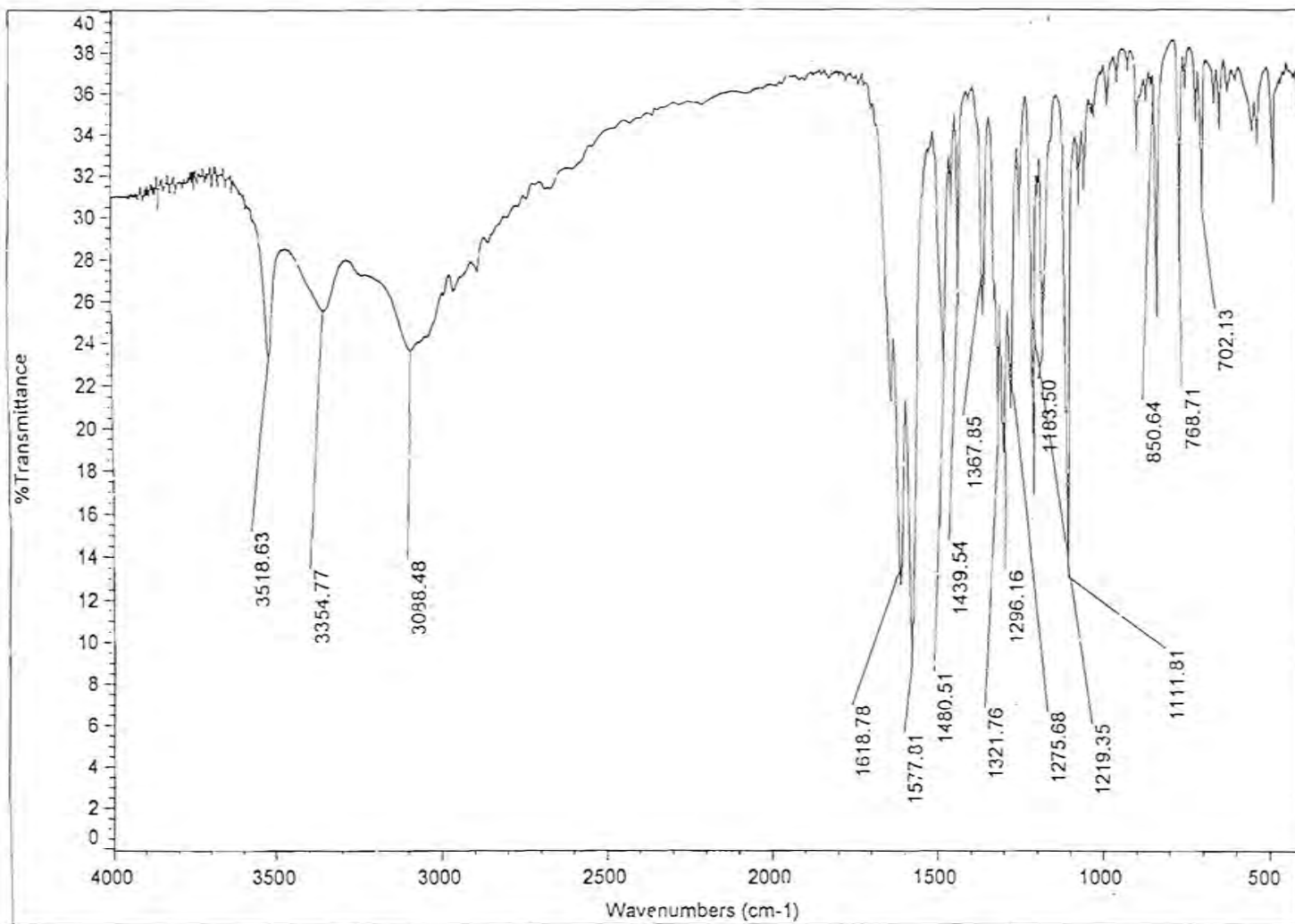
ADBIT : 16  
CTEMP : 36.1 c  
CSPED : 12 Hz  
SLVNT : CDCL3  
RESOL : 2.07 Hz  
BF : 2.07 Hz  
REFVL : 77.00 ppm  
XE : 26534.78 Hz  
XS : -489.32 Hz

OPERATOR :

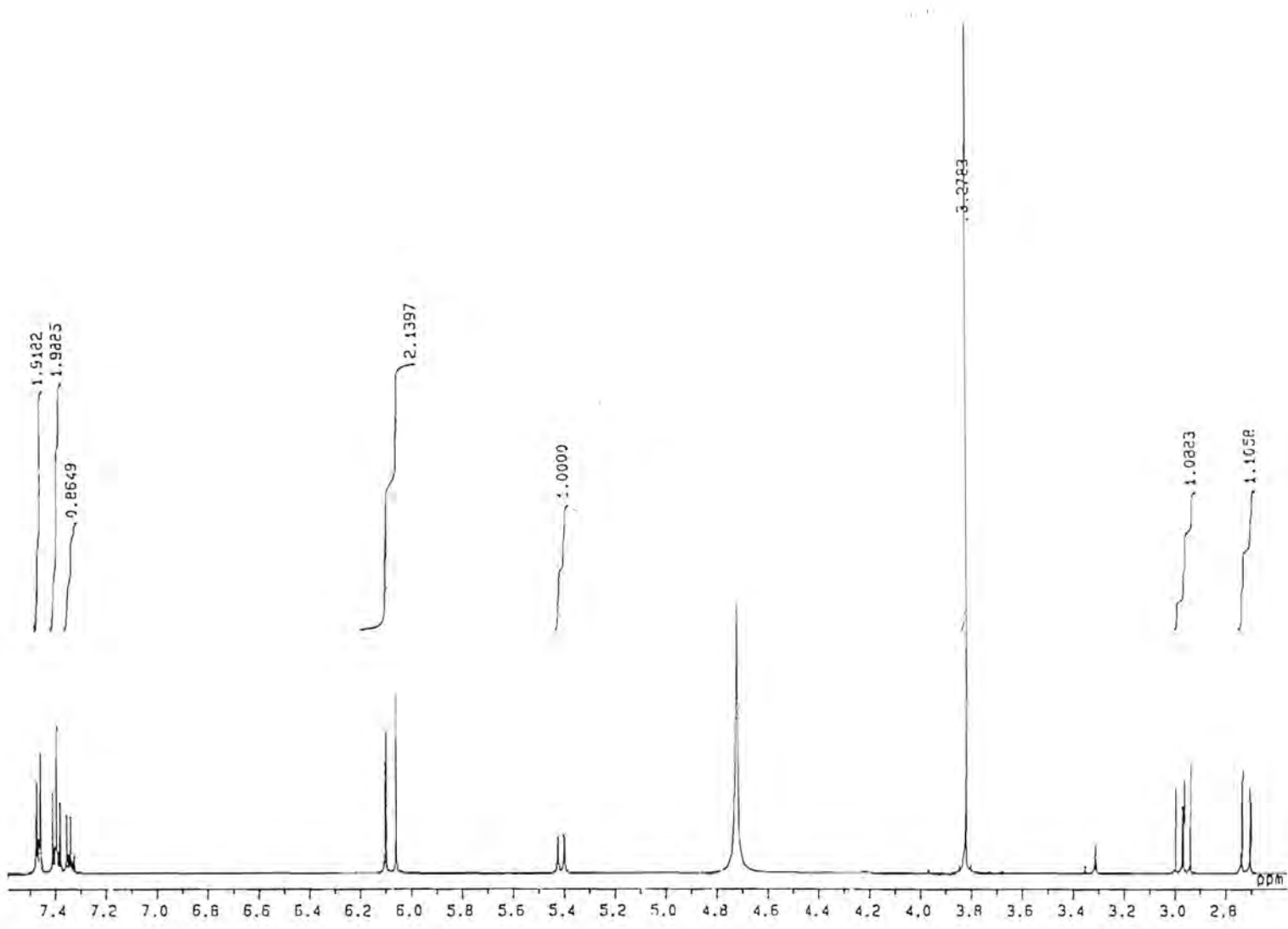
รูปที่ 32  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสาร 6



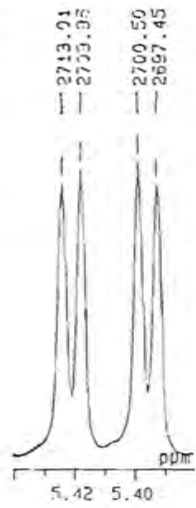
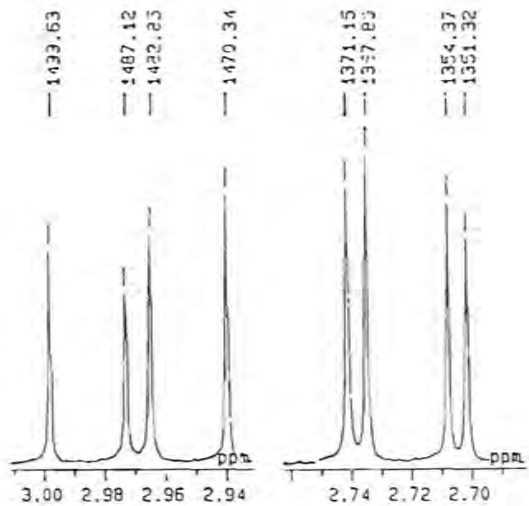
รูปที่ 33 DEPT 135, DEPT 90,  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสาร 6



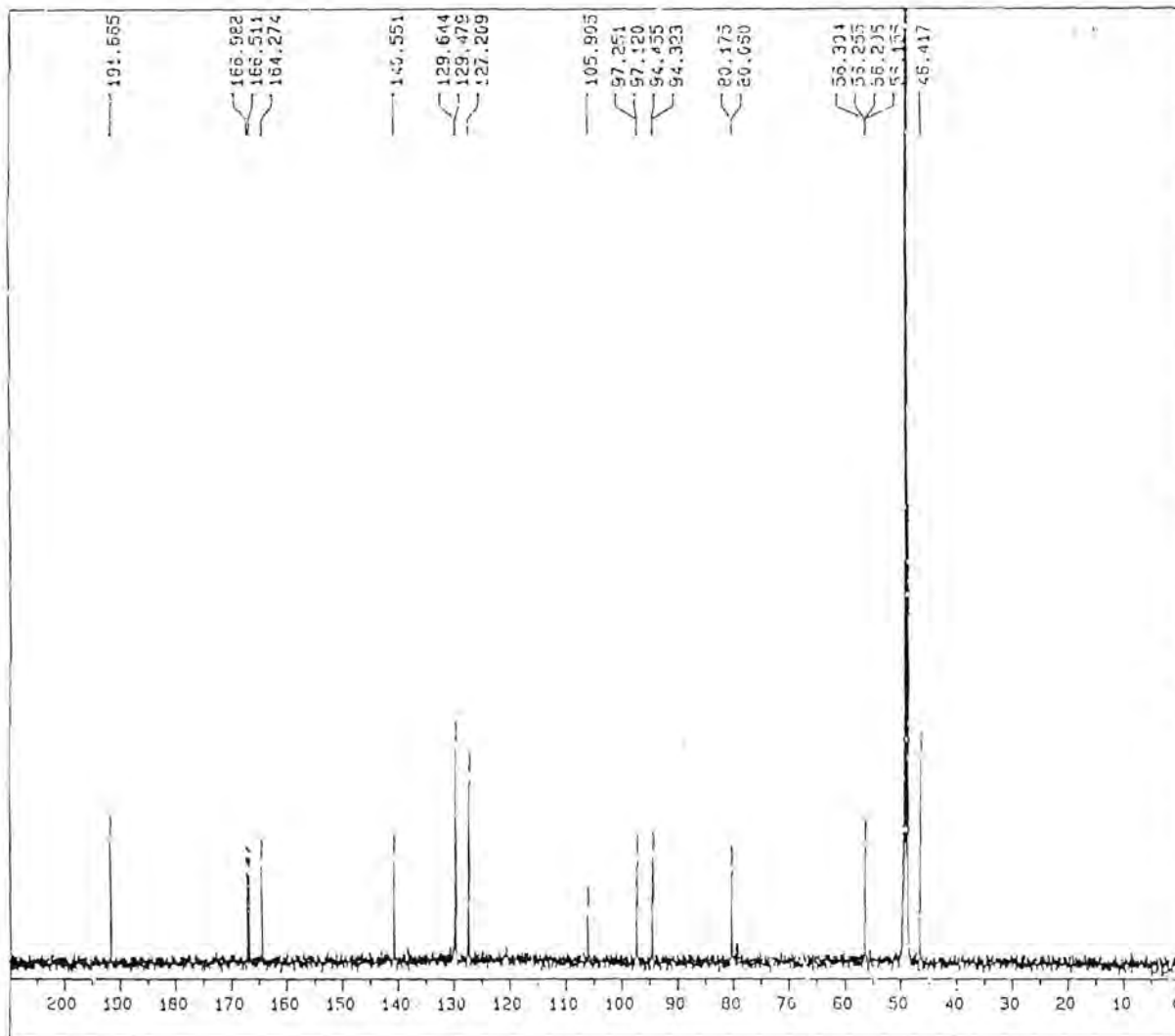
รูปที่ 34 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7



รูปที่ 35  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 7



รูปที่ 36  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสาร 7 (ภาพขยาย)



6-JAN-1997 12:49:10.85

\*\*\*\*\*  
 \* CHULALONGKORN UNIVERSITY \*  
 \* JMH-AS00 \*  
 \*\*\*\*\*

SFILE : [.WNA]F-4-BCM  
 COMNT : F-4-13C

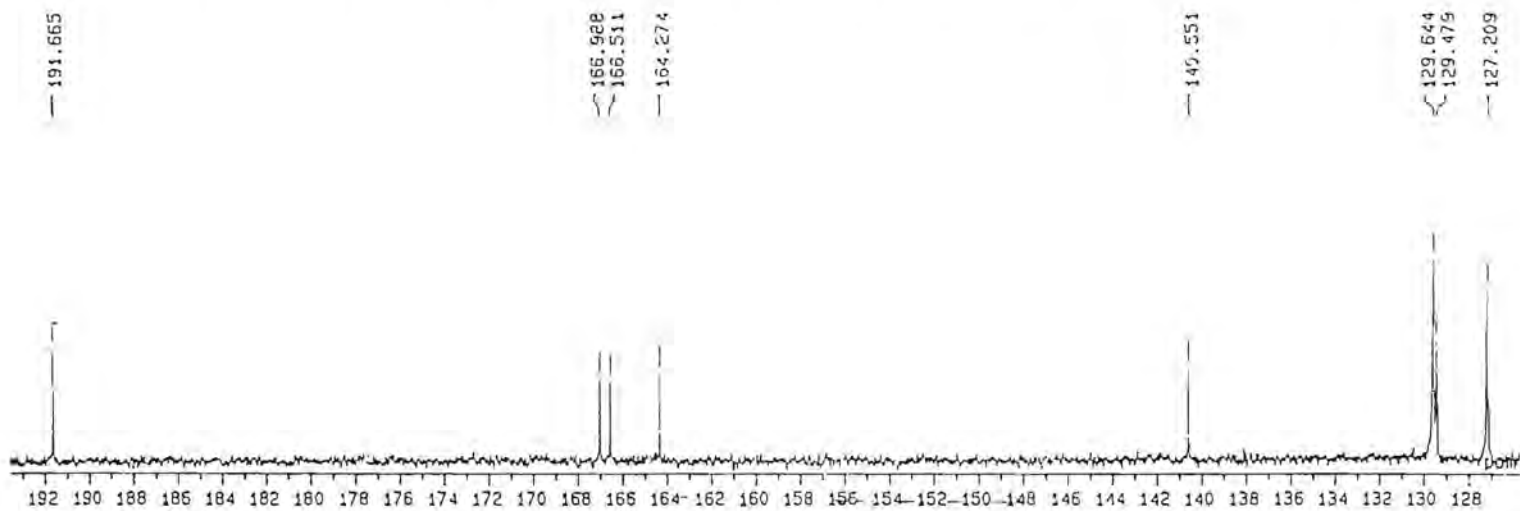
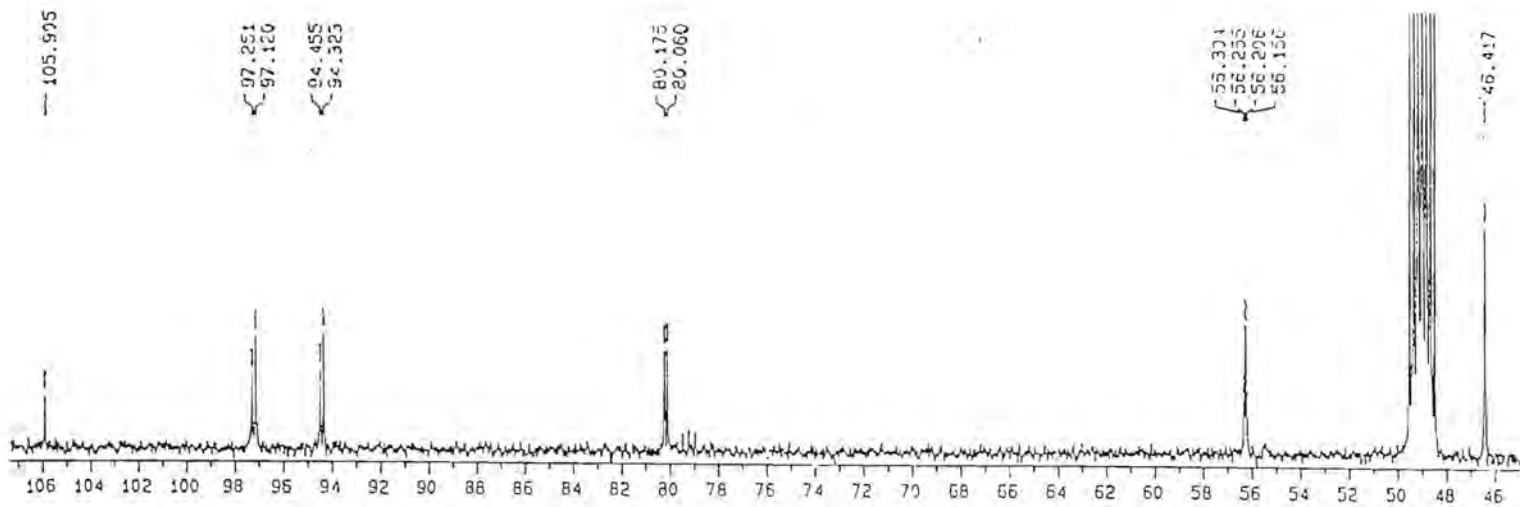
EXMOD : SINGL  
 IRMOD : BCM  
 POINT : 16384  
 FREQU : 33098.31 Hz  
 SCANS : 1091  
 DUMMY : 4  
 ACQTH : 0.4833 sec  
 PD : 2.0000 sec  
 PGAIN : 23  
 PW1 : 4.90 usec  
 OBNUC : 13C  
 O3FRQ : 125.65 MHz  
 OBSET : 127958.00 Hz

IRNUC : 1H  
 IRFRQ : 500.00 MHz  
 IRSET : 162410.00 Hz  
 IRATN : 120  
 IRRPW : 30.0 usec  
 IRBP1 : 25  
 IRBP2 : 2  
 IRRNS : 0

ADBIT : 16  
 CTEHP : 41.5 c  
 CSPED : 12 Hz  
 SLVNT : CD300  
 RESOL : 2.07 Hz  
 BF : 2.07 Hz  
 REFVL : 49.00 ppm  
 XE : 26534.78 Hz  
 XS : -218.28 Hz

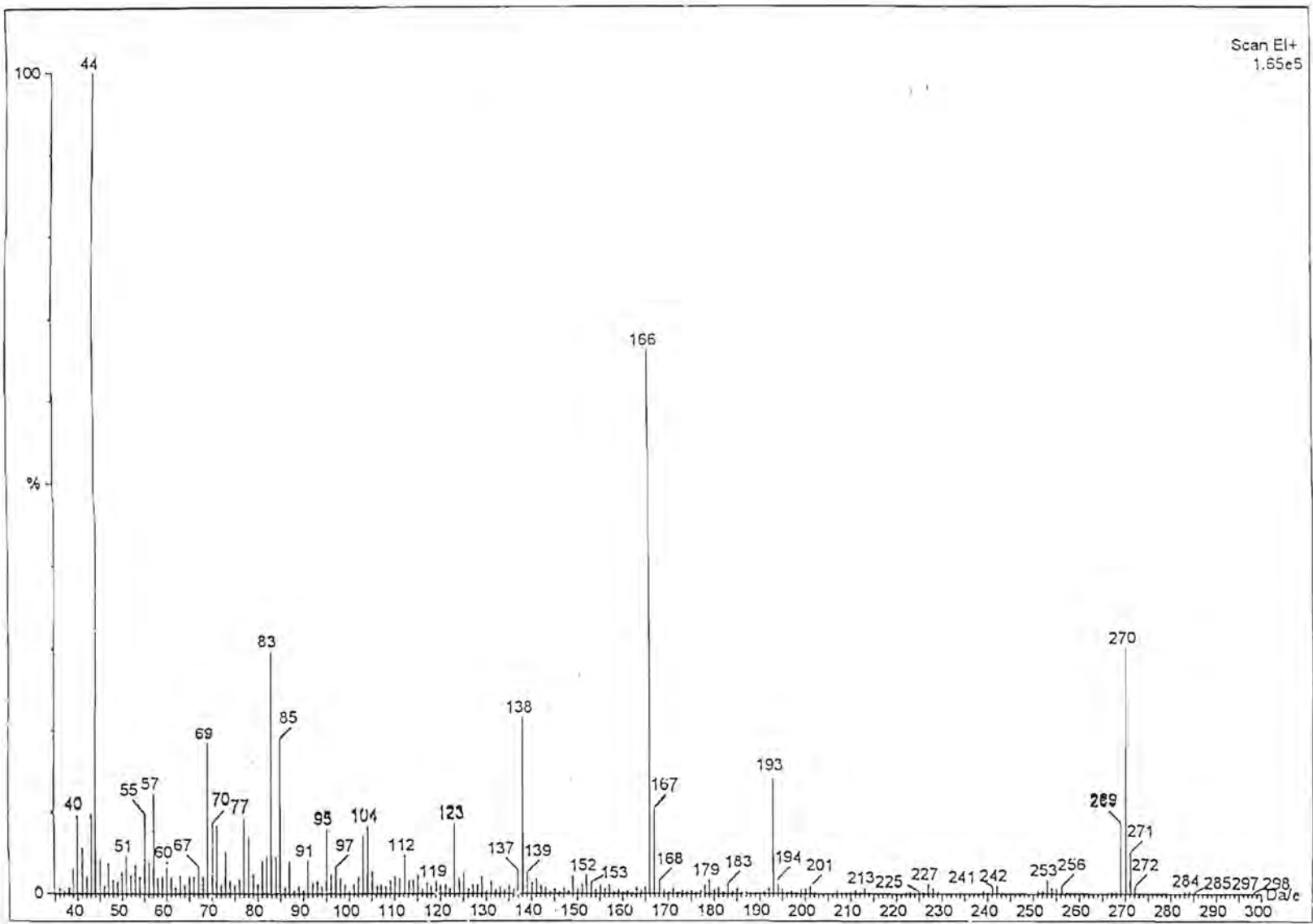
OPERATOR :

รูปที่ 37 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสาร 7



รูปที่ 38  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสาร 7 (ภาพขยาย)





รูปที่ 39 แมสสเปกตรัมของสาร 7