รายงานการวิจัย

"สารสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ"

Active Constituents and Quality Assessment of Food Suppliments from *Kaempferia parviflora*

ประจำปีงบประมาณ 2551

หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

คณะผู้วิจัย:

ศ.ดร. อุดม กังกผล (ที่ปรึกษา)

รศ.ดร. สันติ ทิพยางค์ (หัวหน้าโครงการ)

ผศ.ดร. วรินทร ชวศิริ

ผศ.ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล

อ.ดร. พัฒทรา สวัสดี

อ.ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

สารสารฟลาโวนอยด์ 10 ชนิดที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ (KD) เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี microplate assay พบว่า สาร **6** (5,7,4′-trimethoxy-flavone) และ **7** (5,7-dimethoxyflavone) มีฤทธิ์ยับยั้งเท่ากับ 56.20 และ 44.20 % ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังได้สังเคราะห์สารสารฟลาโวน (**11**), 2',3',4'-trimethoxyflavone (**12**), 3,3'-dimethoxyflavone (**13**) และ 3-benzyloxy-3'-methoxyflavone (**14**) พบว่าสาร **11, 13** และ **14** มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสน้อยกว่าสาร **6** และ**7**

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสารฟลาโวนอยด์ (**6** และ **7**) ในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์กระชายดำ ได้นำวิธีทาง HPLC และ GC มาใช้เพื่อความถูกต้องและแม่นยำ สำหรับการวิเคราะห์หาสารสารฟลาโวนอยด์ในผลิตภัณฑ์กระชายดำด้วยระบบเครื่องของ HPLC นั้น จะให้ประสิทธิภาพในการแยกและการตรวจวัดไม่คงที่ ดังนั้น จึงเลือกวิธีทาง GC ในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารสารฟลาโวนอยด์ ในผลิตภัณฑ์กระชายดำ จากการวิเคราะห์ พบว่าปริมาณสารสำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์กระชายดำมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรมีการหาแนวทางในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

Ten (**1**–**10**) of isolated flavonoids from the rhizomes extract of *Kaempferia parviflora* (Krachaidum: KD) were examined for acetylcholinesterase inhibition activity using microplate assay. Compounds **6** (5,7,4′-trimethoxyflavone) and **7** (5,7-dimethoxyflavone), showed 56.20 and 44.20 % inhibition at dose level 1 mg/mL, respectively. Furthermore, flavone (**11**), 2',3',4'-trimethoxyflavone (**12**), 3,3'-dimethoxyflavone (**13**) and 3-benzyloxy-3'-methoxyflavone (**14**) were synthesized. Compound **11, 13** and **14** also showed acetylcholinesterase inhibition activity less than compound **6** and **7**.

The HPLC and GC methods were developed and validated for quantification of flavonoids (**6** and **7**) in KD crude extracts and products. The HPLC system for quantification of flavonoids in KD products did not offer the same degree of separation and detection resolution. The GC was chosen as alternative method to quantify flavonoids in KD products. It was found that the amount of the flavoniods constituents varied in KD products. The guideline for quality control of KD products should be established in order to protect the consumer.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มีส่วนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน จากแผนงานวิจัย "นวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่" ประจำปีงบประมาณ 2551 ประเภทผลงานวิจัยเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยี ที่ให้การสนับสนุนด้านทุนในการทำวิจัยครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
1.บทนำ	
1.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	1
1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.3 วัตถุประสงค์	3
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 วิธีการดำเนินการวิจัย	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. เนื้อเรื่อง	
2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย (Materials & method)	4
2.1.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวน	4
2.1.1.1 การสังเคราะห์สารสารฟลาโวนเบื่องต้น วิธีที่ 1	4
2.1.1.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2	4
2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	5
2.1.2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี TLC assay	5
2.1.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate	6
2.1.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นต่อ 2,2 diphenyl-1 -picryhydrazyl radical (DPPH) โดยวิธี Spectrophotometric assay	6
2.1.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ	7
2.1.2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์ *Sacchoromyces cerevisiae* กลายพันธุ์	7

2.1.2.1.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส 7
2.1.3 การประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์จากการะชายดำ 8
2.1.3.1 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** เบื้องต้น 8
2.1.3.2 การประเมินประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณสาร 6 แล 7 ในกระชายดำ 9
2.1.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ 9
2.1.4 การเตรียมกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) 10
วิธีที่ 1 สกัดด้วยน้ำ 10
วิธีที่ 2 สกัดด้วย 50% เมทานอล-น้ำ 10
2.2 ผลการวิจัย 11
2.2.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื้องต้น 11
2.2.1.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 1 11
2.2.1.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2 12
2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 12
2.2.2.1 การทดสอบทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี TLC
2.2.2.2 *การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี* microplate 12
2.2.2.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นต่อ 2,2 diphenyl-1-picryhydrazyl radical (DPPH) 12
2.2.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ 13
2.2.2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์ *Sacchoromyces cerevisia*กลายพันธุ์ 13
2.2.2.6 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส 13
2.3 การประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์จากการะชายดำ 14
2.3.1 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** เบื้องต้น 14
2.3.2 การประเมินประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณสาร **6** และ **7** ในกระชายดำ 14

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ 19
3. วิจารณ์ผลการทดลอง 21
4. สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป 21
ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ ด้วยเทคนิค GC 19

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่

1 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื้องต้น วิธีที่ 1 4

2 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2 4

3 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส 6

4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสของสาร (1)-(10) 12

5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC 14

6 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ที่สกัดจากกระชายดำด้วยวิธีที่ 1 14

7 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ที่สกัดจากกระชายดำด้วยวิธีที่ 2 15

8 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของไวน์กระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลยเพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC 15

9 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเชียงใหม่ในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 16

10 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของไวน์กระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือจังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 17

11 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 18

12 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากการะชายดำที่นำมาทดสอบ 20

13 ตัวอย่างกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) 20

ก: วิธีที่ 1 ข: วิธีที่ 2

ภาคผนวก

1 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของชาชงกระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC 23

2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC 23

3 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเชียงรายในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 24

4 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเลยในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 25

5 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของน้ำกระชายดำสกัด จากบ้านอโรคยา กรุงเทพฯ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 26

6 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 27
7 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของเครื่องดื่มกระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 28
8 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของชาชงกระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 29
9 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของเครื่องดื่มกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 30
10 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของชาชงกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 31
11 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 32
12 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC 33

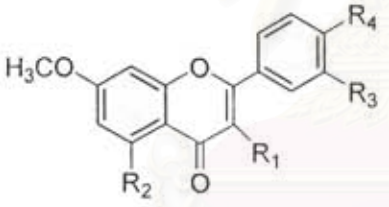
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. บทนำ

1.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ในประเทศไทยมีพืชที่เรียกว่ากระชายอยู่ 3 ชนิด คือกระชาย (เหลือง) กระชายแดงและกระชายดำ กระชายเหลืองและกระชายแดง เป็นพืชจำพวกเดียวกัน แต่เป็นพืชต่างชนิดกันและมีฤทธิ์ทางยาต่างกันเล็กน้อย โดยกระชายแดงจะมีกาบใบสีแดงเข้มกว่ากระชายเหลือง ส่วนกระชายดำเป็นพืชวงศ์ Zingiberaceae เช่นกันแต่อยู่ในสกุลเดียวกับเปราะหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Kaempferia parviflora*

กระชายดำ เป็นพืชล้มลุกมีเหง้าใต้ดิน เนื้อในเหง้าอาจเป็นสีม่วงหม่นหรือสีดำ มีกลิ่นฉุนและแรง เป็นพืชสมุนไพร โดยเหง้าใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ขับลม แก้ท้องอืดเฟ้อ จากการศึกษาเอกสารอ้างอิงทางวิชาการที่ผ่านมาของกระชายดำ[1,2,3] พบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ ฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารเหล่านี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่า 5,7-dimethoxyflavone มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) เทียบได้กับยามาตรฐานหลายชนิด เช่น แอสไพริน ไฮโดรคอร์ติโซน สาร 5,7,4′-trimethoxyflavone และ 5,7,3′,4′-tetramethoxyflavone แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* ที่เป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย และยังพบว่าสารฟลาโวนอยด์อื่นๆ แสดงฤทธ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* และ Mycobacterium ได้ด้วย รวมทั้งสารเหล่านี้ไม่พบว่ามีสารใดทำให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งที่ทดสอบ[4] นอกจากนี้ ยังพบว่า สารสกัดเอทานอลของกระชายดำมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดแดงใหญ่ และการหดเกร็งของลำไส้เล็กส่วนปลายของหนูขาว[5] และยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของคน



Compound	R_1	R_2	R_3	R_4
1	OCH_3	OH	H	H
2	H	OH	H	H
3	OCH_3	OH	H	OCH_3
4	H	OH	H	OCH_3
5	OCH_3	OH	OCH_3	OCH_3

จากผลการทดสอบเบื้องต้น พบว่า สิ่งสกัดของเหง้ากระชายดำ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสที่น่าสนใจ โดยฤทธิ์ดังกล่าวนี้ยังไม่เคยมีผู้ใดเคยทำการศึกษามาก่อน ดังนั้น การ ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาดังกล่าวจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเหง้ากระชายดำ เป็นพืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายในประเทศไทย และเป็นที่นิยมบริโภคกันของคนไทย นอกจากนั้นการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญในผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ จะทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีคุณภาพและทำให้ผลิตภัณฑ์ของไทยมีมาตรฐานสากล

1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศไทยมีข้อได้เปรียบเพราะมีที่ตั้งในเขตร้อนชื้นซึ่งอุดมไปด้วยพืชพันธุ์นานาชนิด บางชนิดเป็นสมุนไพรสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคหรือใช้เป็นอาหารเสริมได้ จากการศึกษาเบื้องต้นของหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสเบื้องต้นกับสิ่งสกัดสมุนไพร 50 ชนิด ด้วยวิธี TLC assay[6,7] พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของ

สมุนไพรหลายชนิดแสดงฤทธิ์ที่น่าสนใจ รวมทั้งสิ่งสกัดจากเหง้ากระชายดำ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker จึงได้เลือกสิ่งสกัดสมุนไพรจากกระชายดำ ศึกษาหาสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

สถิติที่แพทย์ได้จากการตรวจรักษาโรคอัลไซเมอร์ แสดงให้เห็นว่า 1 ใน 20 ของคนที่มีอายุ 75-84 ปี จะป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์ และ 1 ใน 5 ของคนที่มีอายุเกิน 85 ปี ก็จะเป็นโรคชนิดนี้เช่นกัน ส่วนคนที่อยู่ในวัย 40-70 ปี สถิติการเป็น คือ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศตวรรษก่อนหน้านี้ ประชากรโลกน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์มีอายุเกิน 65 ปี ณ วันนี้ประชากร 7 เปอร์เซ็นต์ มีอายุเกิน 65 ปี และอีก 50 ปี 15-20 เปอร์เซ็นต์ของประชากรโลกจะมีอายุเกิน 65 ปี นั่นหมายความว่า ในอนาคตโลกจะถูกโรคอัลไซเมอร์คุกคามหนัก เพราะจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคนี้จะมีมากขึ้นทุกปี และภาระในการเฝ้าดูแลรักษาโดยแพทย์ และญาติก็จะต้องมีมากขึ้นด้วย ด้วยเหตุนี้แพทย์ทั่วโลกจึงให้ความสนใจศึกษาและวิจัยโรคอัลไซเมอร์เป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะในประเด็นป้องกันหรือรักษา ปัจจุบันยังไม่มียาที่รักษาให้หายขาดได้แต่มียาซึ่งอาจช่วยควบคุมอาการต่างๆ ให้น้อยลงได้ชั่วคราว แต่โรคก็จะดำเนินต่อไปเรื่อยๆ เมื่อถึงระยะที่เป็นมากๆ ยาก็จะไม่ได้ผล

สาเหตุของโรคอัลไซเมอร์มีสมมติฐานว่าสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โดยสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่งก็คือ ผู้ป่วยอัลไซเมอร์จะมีปริมาณเซลล์สมองลดลงและสารสื่อประสาท Acetylcholine (ACh) ลดลงด้วย สารสื่อประสาทนี้เป็นตัวเชื่อมโยงคำสั่งต่างๆ ของเซลล์สมองที่ควบคุมด้านความจำ ความคิดอ่านและพฤติกรรมต่างๆ เมื่อ ACh ลดลง จึงทำให้เกิดอาการต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ ปัจจุบันมียาที่ช่วยเพิ่มปริมาณของ Ach ในสมอง โดยออกฤทธิ์ด้าน Acetylcholinesterase (AChE) ที่ย่อยสลาย ACh คือ AChE inhibitors เช่น tacrine, rivastigmine และ galantamine[8,9] ยาเหล่านี้จึงช่วยให้ผู้ป่วยอัลไซเมอร์มีอาการดีขึ้นได้ และชะลอการทรุดลงของโรคถ้าได้ใช้ในระยะเริ่มแรก แต่จะไม่ทำให้โรคหายขาด

ในประเทศไทยถึงแม้ว่า จำนวนผู้ป่วยยังมีไม่มากนัก เมื่อเทียบกับประชากรในโลกตะวันตก แต่ก็นับว่าเป็นปัญหาสำคัญอันหนึ่ง ที่ควรจะหาทางป้องกันไว้ มีสมุนไพรไทยหลายชนิดที่การแพทย์อายุรเวทเชื่อว่า มีสรรพคุณในการกระตุ้นความคิดและฟื้นฟูความจำ เช่น น้ำมันจากเมล็ดกระทงลาย ใบบัวบก ขมิ้นชันและว่านน้ำ[10] นอกจากนี้ ยังมีผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติได้ทดสอบฤทธิ์ด้าน AChE กับสมุนไพรไทยหลายชนิด[11] พบว่า สารสกัดจากรากบอระเพ็ดข้าว (*Stephania suberosa* Formann.) และจากรากพุดจีบ (*Tabernaemontana divaricata* (L.) R. Br. Ex Roem. & Schult.) ให้ผลการทดสอบที่ดีมาก (มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้น จะเห็นได้ว่า สมุนไพรไทยหลายชนิดมีศักยภาพในการป้องกันหรือรักษาโรคนี้ได้

นอกจากนี้ ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 11 ชนิด ในกระชายดำ ด้วยวิธีแก๊ส โครมาโทกราฟี[2] จากแหล่งปลูก 12 แห่ง พบว่า 5,7-dimethoxyflavone และ 5,7,4′-trimethoxyflavone เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีปริมาณสูงสุดที่ 26.68 และ 9.88 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และเป็นวิธีที่เหมาะสมในการหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในกระชายดำทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

ในปัจจุบันพบว่า มีผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์กระชายดำ และอาหารเสริมที่ผลิตจากกระชายดำจำนวนมาก แต่ยังไม่มีการตรวจสอบ วิเคราะห์และควบคุมคุณภาพปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว การ

ใช้ความรู้ด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการช่วยควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยสามารถจำหน่ายได้อย่างยั่งยืนและมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานสากล

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ รวมถึงศึกษาวิธีการเบื้องต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้

13.2 เพื่อประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารบริสุทธ์จากกระชายดำ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเป็นต้น รวมถึงศึกษาวิธีการเบื้องต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้และการหาปริมาณสารสำคัญในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากกระชายดำ โดยวิธีทางโครมาโทกราฟี

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดย สรุปทฤษฎี และ/หรือแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

- การสกัดและแยกสารสำคัญจากกระชายดำ

1.5.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากกระชายดำ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ เป็นต้น รวมถึงศึกษาวิธีการเบื้องต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้

1.5.2 หาปริมาณสาระสำคัญในสิ่งสกัดผลิตภัณฑ์จากกระชายดำโดยวิธีทางโครมาโทกราฟี เช่น แก๊ส โครมาโทกราฟี และ HPLC เป็นต้น

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ข้อมูลสารสำคัญจากกระชายดำและการประยุกต์ใช้

1.6.2 เผยแพร่ผลงานเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพปริมาณสาระสำคัญในผลิตภัณฑ์ให้กับกลุ่มอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอาหารเสริมจากกระชายดำ

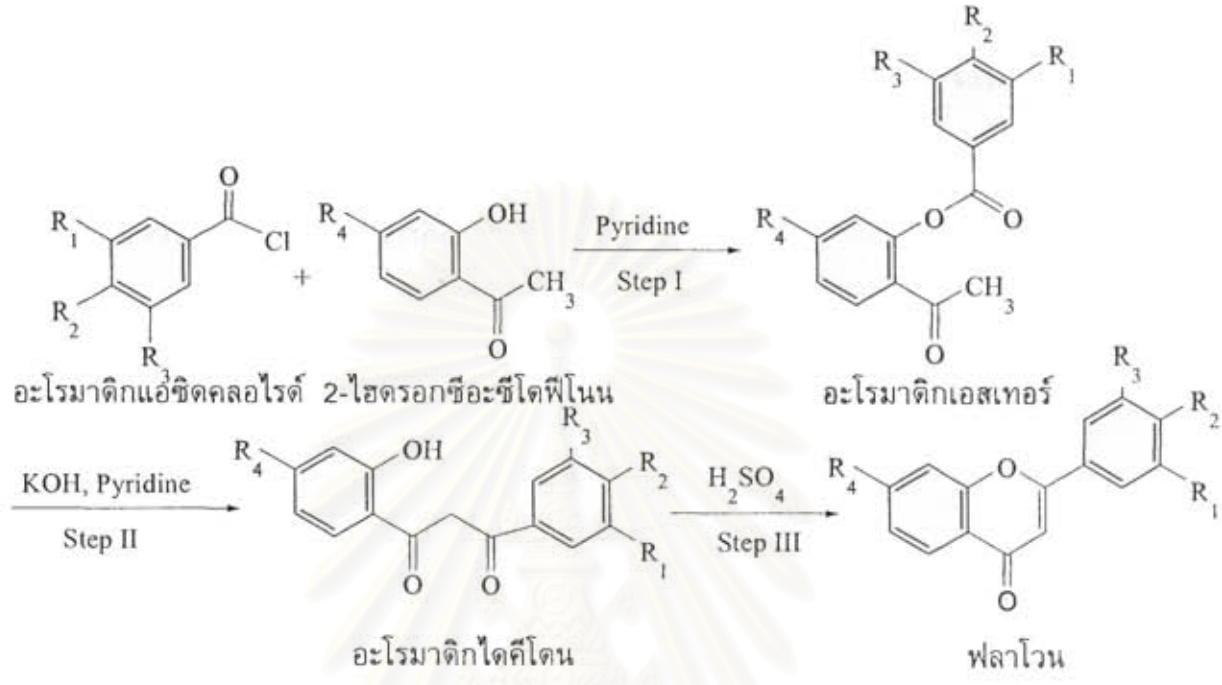
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. เนื้อเรื่อง

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย (Materials & method)

2.1.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวน

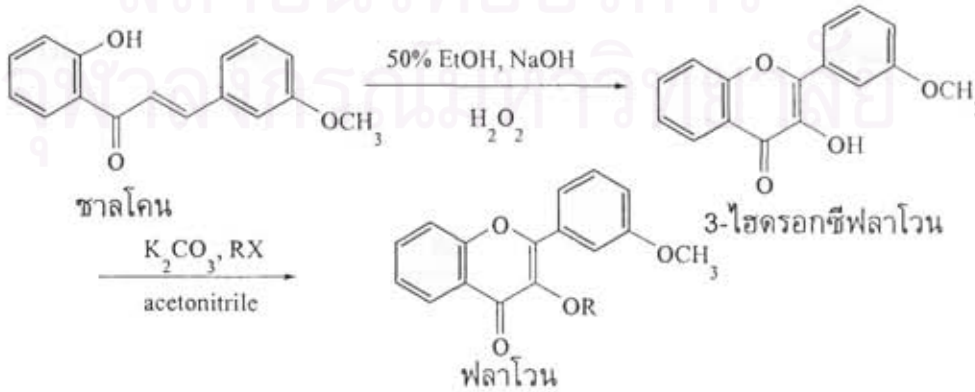
2.1.1.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื่องต้น วิธีที่ 1[12]



รูปที่ 1 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื่องต้น วิธีที่ 1

2.1.1.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2[13]

การทำปฏิกิริยาควบแน่นแบบเอลดอล (aldol condensation) ระหว่างอะโรมาติกแอลดีไฮด์และ 2-ไฮดรอกซีอะซีโตฟีโนน ซึ่งจะได้ชาลโคน (chalcone) เป็นสารมัธยันตร์ (intermediate) จากนั้นทำปฏิกิริยาออกซิเดทีฟไซไคลเซชัน ซึ่งจะได้สารฟลาโวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่ง 3 ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นสารฟลาโวนต่างชนิดกันด้วยปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยอัลคิลแฮไลด์ มีดังนี้



รูปที่ 2 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2

2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

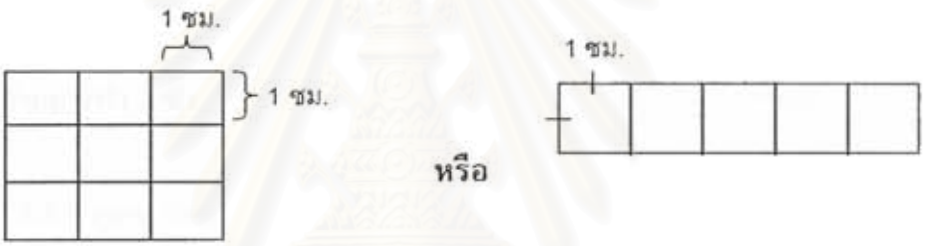
2.1.2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสด้วยวิธี TLC assay[14]

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส จะใช้ substrate คือ acethylthiocholine (ATCI) เมื่อ ATCI ถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์จะได้ผลิตภัณฑ์ คือ thiocholine และ acetate เนื่องจากผลิตภัณฑ์ทั้งสองไม่มีสี จึงไม่สามารถทำการตรวจวัดได้ การทดสอบจึงได้ใช้ 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ซึ่ง DTNB เมื่อทำปฏิกิริยากับ thiocholine จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสีเหลือง ซึ่งวัดได้ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร

ในการทดสอบสารบริสุทธิ์ หากสารสามารถยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวได้ ก็จะทำให้ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ thiocholine และจะไม่มีสารสีเหลืองเกิดขึ้น

วิธีการทดสอบ

1. เตรียมแผ่น TLC สำหรับจุดสาร โดยตีตารางบนแผ่น TLC ด้วยดินสอ ให้มีขนาดของช่อง ดังรูป ส่วนจำนวนช่องขึ้นอยู่กับจำนวนสารที่จะทดสอบ



2. ละลายสารบริสุทธิ์ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. จุดสารละลายตรงกลางของช่องบน TLC ที่เตรียมไว้ 10 ไมโครลิตร แล้วเป่าให้แห้ง

4. สเปรย์สารละลายผสมระหว่าง 1mM acetylthiocholine (ATCI) และ 1 mM 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ใน 50 mM *Tris*-HCl, pH 8 ลงบนแผ่น TLC ให้ทั่ว แต่อย่าให้แฉะเกินไป ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5 นาที

5. สเปรย์เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสจาก electric eel (3 U/ml) ใน 50 mM *Tris*-HCl, pH 8 ลงบนแผ่น TLC ในข้อ 4 ให้ทั่ว จะเกิดสีเหลืองขึ้นบนแผ่น TLC ภายใน 1-2 นาที

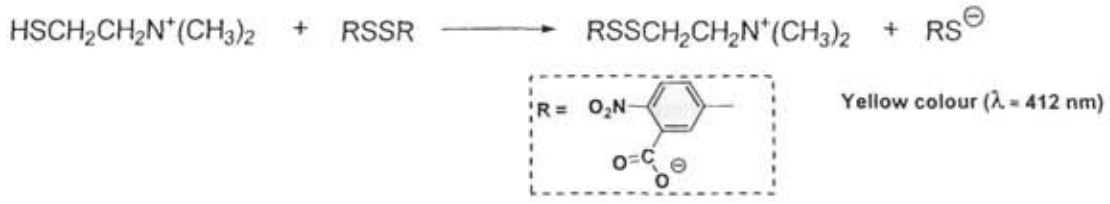
6. ถ้าสารมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส จะไม่เกิดสีเหลือง แต่จะเห็นเป็นจุดสีขาวแทน

ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดสอบนี้ แสดงดังรูปที่ 3

1. Acetylthiocholine $\xrightarrow{\text{(enzyme)}}$ thiocholine + acetate

$$CH_3COSCH_2CH_2N^+(CH_3)_2 \xrightarrow{\text{enzyme}} CH_3COO^{\ominus} + HSCH_2CH_2N^+(CH_3)_2$$

2. Thiocholine + 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) $\longrightarrow$ 2-nitrobenzoate-5-mercaptothiocholine + 5-thio-2-nitrobenzoate (yellow)



รูปที่ 3 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส

2.1.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate[11]

มีวิธีการทดสอบ ดังนี้

1. เติม 3 mM DTNB 125 µl, 15 mM ATCI 25 µl, buffer 50 µl และสารละลายตัวอย่าง 25 µl ลงในหลุมของ microplate

2. จากนั้นเติม เอนไซม์ 25 µl นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ทุกๆ 5 วินาที เป็นเวลา 2 นาที

3. คำนวณหา enzyme activity และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยเทียบกับหลุมที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ

2.1.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นต่อ 2,2 diphenyl-1-picryhydrazyl radical (DPPH) โดยวิธี Spectrophotometric assay

เป็นวิธีการตรวจวัดสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณ ทำได้โดย

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid และสารละลายจากสารที่แยกได้จากสิ่งสกัดซึ่งเป็นสารที่ให้ผลการทดสอบเบื้องต้นแล้วว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประมาณ 5-6 สารละลาย ที่มีความเข้มข้นต่างกัน โดยให้มีความเข้มข้นที่แน่นอนในช่วง 10-1000 µM (ใช้สารละลายแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.5 mL) และให้สารละลายแต่ละความเข้มข้นมีปริมาตรสุดท้ายอย่างน้อย 2.0 mL

2. เตรียมสารละลาย methanolic DPPH radical ให้มีความเข้มข้น 0.2 mM

3. ใส่สารละลาย methanolic DPPH radical 1 mL ลงในสารละลายแต่ละความเข้มข้นที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 1

4.เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วย เครื่อง UV spectrophotometer

6. สำหรับสารแต่ละความเข้มข้นให้ทำการทดลองซ้ำข้อ 3-5 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

7. วัดค่า absorbance ของสารละลาย DPPH ในตัวทำละลายที่ 517 nm

8. คำนวณ % radical scavenging จากสมการ

$$\%\text{radical scavenging} = (1-(A_{sample} / A_{control})) \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่า absorbance ที่วัดได้ของสารละลายที่ผสม DPPH แล้ว

$A_{control}$ = ค่า absorbance ที่วัดได้ของตัวทำละลายที่ใช้ผสมกับ DPPH

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration) ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %radical scavenging กับความเข้มข้น ซึ่งความเข้มข้นที่ 50% radical scavenging จะมีค่าเป็น IC_{50} (IC_{50} คือ ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งสีอันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระ DPPH ให้จางลง 50%)

2.1.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ[16]

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมี 4 ชนิด คือ *Bacillus cereus, Staphylococus aureus, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes*

การเลี้ยงเชื้อ : stock ของเชื้อเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar (TSA) slant เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสถ่ายเชื้อทุกเดือน

เมื่อต้องการทดสอบ : ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงบน Tryptic Soy Broth (TSB) บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซเซียส 24 ชั่วโมง แล้วป้ายเชื้อให้เต็มผิวหน้าของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ

นำกระดาษกรองปราศจากเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (paper disk) หยดสารสกัดจากกระชาย 300 ไมโครลิตรต่อดิสค์ ทำให้แห้งแล้ววางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ได้ป้ายเชื้อที่จะทดสอบลงไป บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 25 ชั่วโมง วัด clear zone ที่เกิดขึ้น (ผล positive จะต้องมี clear มากกว่า 6 มิลลิเมตร) โดยมี tetracycline เป็น positive control

2.1.2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์ *Sacchoromyces cerevisiae* กลายพันธุ์

1. หยดสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนจานทดสอบที่ประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ (yeast extract peptone dextrose (YPD)) ที่ผสมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายความเข้มข้น 6.0 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และแคลเซียมคลอไรด์ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

2. หยด absolute ethanol ปริมาตร 5 ไมโครลิตร (negative control) และ Tacrolinmus (FK 506) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร (positive control) ลงบนจานทดสอบเดียวกัน

3. นำจานทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน

4. ตรวจสอบผลโดยดูการเจริญของยีสต์เทียบกับ positive control ซึ่งให้ผลเท่ากับ +++

2.1.2.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส[17]

มีวิธีการทดสอบ ดังนี้

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 10 µL ใส่ในหลุมของ microplate

2. เติมเอนไซม์ α-glucosidase 1 U/mL ปริมาตร 40 µL แล้ว incubate ที่ 37 ^{0}C เป็น

เวลา 10 นาที

3. เติมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside เข้มข้น 1 mM ปริมาตร 50 µL แล้ว incubate ที่ 37 ^{0}C เป็นเวลา 20 นาที

4. ทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม Na_2CO_3 เข้มข้น 1 M ปริมาตร 100 µL

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microtiter plate reader

6. คำนวณหา enzyme activity และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยเทียบกับหลุมที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ

2.1.3 การประเมินคุณภาพสิ่งสกัดจากผลิตภัณฑ์ที่ทำจากกระชายดำ

2.1.3.1 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสาร 6 และ 7 เบื้องต้น

เลือกใช้เทคนิค high performance liquid chromatography สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** โดยเลือกใช้ภาวะในการทดลอง ดังนี้

เครื่อง HPLC ของ water® 600 ซึ่งต่อกับ detector เป็น photodiode array ของ water® 2996

HPLC condition

Column: Econosil(C18) 5u 250 mm x 4.6 mm

Mobile phase: MeOH-H_2O (50:50)

Flow rate: 1 mL/min

Concentration: 1000ppm

Injection volume: 10 µL

Detector: Photodiode array

เลือกใช้เทคนิค gas chromatography สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** โดยเลือกใช้ภาวะในการทดลอง ดังนี้

เครื่อง GC ของ Varian รุ่น CP-3800

GC condition

Column: CP-sil 8 (30m × diameter 0.25 mm)

Carrier gas: Nitrogen

Flow rate: 2.2 mL/min

Injection volume: 1 µL

Splitless mode inlet section temp: 270 ^{o}C

Detector section temp: 280 ^{o}C

Detector: flame ionized detection (FID)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A five-step temperature gradient:

Step 1: Held initial temperature at 255 °C for 2 min

Step 2: Increase to 260 °C at 1 °C/min and hold for 15 min

Step 3: Increase to 268 °C at 5 °C/min

Step 4: Increase to 269 °C at 0.5°C/min and hold for 3 min

Step 5: Increase to 270 °C at 0.5°C/min and hold for 5 min

Internal standard: pinostrobin

2.1.3.2 การประเมินประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณสาร 6 และ 7 ในกระชายดำ

ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** จากกระชายดำ ได้ทดลองประสิทธิภาพของวิธีสกัด 2 วิธีเพื่อประเมินและเลือกวิธีที่เหมาะสมเพียงวิธีเดียวสำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

วิธีที่ 1 สกัดผงกระชายดำ 5 กรัม โดยการ reflux กับเฮกเซน 50.0 mL ที่อุณหภูมิประมาณ 90-95 ^{0}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น กรองเอาสารละลายเฮกเซนออก จากนั้นนำกากที่เหลือมา reflux กับเมทานอล50 mL ที่อุณหภูมิเดิม เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองเอาสารละลายเมทานอล นำมาระเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง

วิธีที่ 2 สกัดผงกระชายดำ 5 กรัม โดยการ reflux กับเฮกเซน 50.0 mL ที่อุณหภูมิประมาณ 90-95 ^{0}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น กรองเอาสารละลายเฮกเซนออก จากนั้นนำกากที่เหลือมา reflux กับไดคลอโรมีเทน 50 mL ที่อุณหภูมิเดิม เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองเอาสารละลายไดคลอโรมีเทน นำมาระเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง

นำสารสกัดจากวิธีที่ 1-2 ไปวิเคราะห์โดย HPLC เพื่อประเมินหาวิธีการสกัดที่เหมาะสม โดยใช้สภาวะดังนี้

HPLC condition

Column: Econosil(C18) 5u 250 mm x 4.6 mm

Mobile phase: MeOH-H_2O (50:50)

Flow rate: 1 mL/min

Concentration: 1000ppm

Injection volume: 10 µL

Detector: Photodiode array

2.1.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร 6 และ 7 ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของกระชายดำ

โดยได้นำผลิตภัณฑ์ ชาชงกระชายดำ (ซอง) ไวน์กระชายดำ เป็นผลิตภัณฑ์จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เครื่องดื่มกระชายดำ กระชายดำแคปซูล เป็นผลิตภัณฑ์จากตำบลนาแห้ว อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย น้ำกระชายดำ เป็นผลิตภัณฑ์บ้านอโรคยา กรุงเทพฯ และกระชายดำแคปซูล เป็นผลิตภัณฑ์จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ มาวิเคราะห์หาสารสำคัญ

วิธีการสกัด

1. นำผลิตภัณฑ์ชาชง และแคปซูลกระชายดำ (วิธีที่ **1**) อย่างละ 7.5 กรัม มาต้มด้วยน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วกรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออก

2. ส่วนที่เป็นน้ำนำมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ประมาณ 100 มิลลิลิตร

3. นำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญโดยใช้เทคนิค

4. นำผลิตภัณฑ์ชาชง และแคปซูลกระชายดำ (วิธีที่ **2**) อย่างละ 2 กรัม นำมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ประมาณ 50 มิลลิลิตร

5. นำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน ไปวิเคราะห์หาปริมาณสาระสำคัญโดยใช้เทคนิค HPLC และ GC

6. นำผลิตภัณฑ์น้ำ และไวน์กระชายดำ อย่างละ 150 มิลลิลิตร มาสกัดด้วยไดคลอโร-มีเทน ประมาณ 100 มิลลิลิตร

7. นำสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน ไปวิเคราะห์หาปริมาณสาระสำคัญโดยใช้เทคนิค HPLC และ GC

2.1.4 การเตรียมกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

วิธีที่ 1 สกัดด้วยน้ำ

1. นำผลิตภัณฑ์จากกระชายดำ (ชาชง อ.นาแห้ว) ต้มกับน้ำ

2. นำส่วนที่สกัดได้ไปทำให้แห้งแบบแช่แข็ง

วิธีที่ 2 สกัดด้วย เมทานอล-น้ำ (50:50)

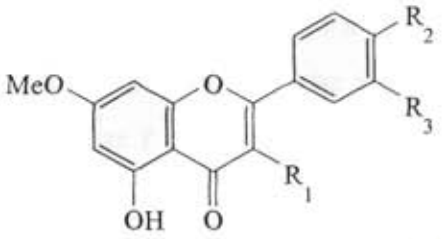
1. นำผลิตภัณฑ์จากกระชายดำ (ชาชง อ.นาแห้ว) ต้มด้วยเมทานอล-น้ำ (50:50)

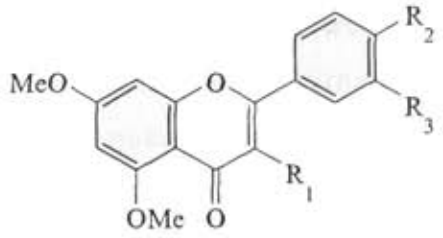
2. นำส่วนที่สกัดได้ไประเหยเมทานอลให้หมด เหลือเฉพาะน้ำ แล้วนำไปทำให้แห้งแบบแช่แข็ง เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง โดยต้องการให้มีปริมาณสาร **6** และ **7** ในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่ได้จากกระชายดำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 ผลการวิจัย

จากการแยกสารบริสุทธิ์ในสิ่งสกัดเฮกเซน (สาร**1-3**) และไดคลอโรมีเทน (สาร**4-10**) ได้สารฟลาโวนอยด์ประเภทฟลาโวนที่มีปริมาณมากพอ 10 ชนิด ที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ต่อ





1. R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H

2. R_1 = R_2 = R_3 = H

3. R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H

4. R_1 = R_2 = R_3 =OMe

10. R_1 = R_3 = H; R_2 = OMe

5. R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H

6. R_1 = R_3 = H; R_2 =OMe

7. R_1 = R_2 = R_3 = H

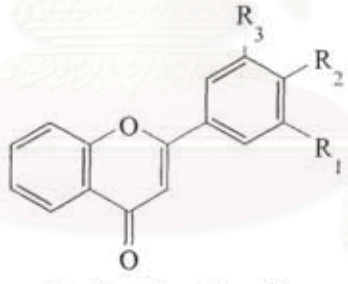
8. R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H

9. R_1 = R_2 = R_3 = OMe

2.2.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื้องต้น

2.2.1.1 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 1

สามารถสังเคราะห์สารฟลาโวนได้ 2 ชนิด (สาร **11** และ **12**)

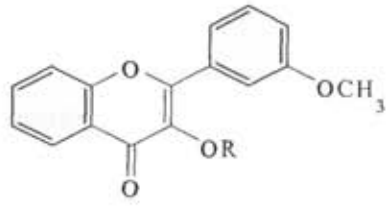


11. R_1 = R_2 = R_3 = H

12. R_1 = R_2 = R_3 = OMe

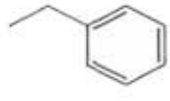
2.2.1.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวน วิธีที่ 2

สามารถสังเคราะห์สารฟลาโวนได้อีก 2 ชนิด (สาร **13** และ **14**)



13. R = CH3

14. R =



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.2.2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี TLC

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสด้วยวิธี TLC assay ดังรูป 4 ใช้ปริมาณสาร 10 ไมโครกรัม ปรากฏว่า สาร **6** และ **7** แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ส่วนสาร **11, 13** และ **14** ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ปานกลาง ดังนั้นจึงใช้สาร **6** และ **7** เป็นสารสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ

+ คือ แสดงฤทธิ์ยับยั้ง
- คือ ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง

รูปที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสของสาร (**1**)-(**10**)

2.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate

นำสารฟลาโวน **1-14** มาทดสอบ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate เพื่อหาค่า % การยับยั้ง ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ให้ผลดังนี้

สาร	% การยับยั้ง
6	56.20
7	44.20
11	32.30
13	33.80
14	21.90
galantamine (Std.)	93.55

2.2.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นต่อ 2,2 diphenyl-1-picryhydrazyl radical (DPPH)

ไม่มีสารใดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมี 4 ชนิด คือ *Bacillus cereus, Staphylococus aureus, Samonella typhimurium, Listeria monocytogenes*

มีเพียงสาร **7** ให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 11 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อดิสค์ โดยมี tetracycline เป็น positive control โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 28 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อดิสค์ และไม่ได้หาค่า MIC (Minimum Inhibition Concentration) เพราะมีฤทธิ์ที่ไม่ดี

2.2.2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์ *Sacchoromyces cerevisiae* กลายพันธุ์

โดยทำการทดสอบกับสาร **1** เนื่องจากมีปริมาณมากที่สุด ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ให้ผลทดสอบเท่ากับ สารมาตราฐาน (Tacrolinmus, FK 506) ซึ่งเป็นยากดภูมิคุ้มกัน

สาร**1** (mM)	Yeast based assay
2.0	+++
1.0	+++
0.5	++
0.25	+
Tacrolinmus (FK 506, Std)	+++

2.2.2.6 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส

สาร	ความเข้มข้น (μg/mL)	% การยับยั้ง
1	10	23
	100	40
สาร	**ความเข้มข้น (μg/mL)**	**% การยับยั้ง**
2	10	16
	100	29
6	10	21
	100	36
7	10	16
	100	26
9	10	14
	100	17
10	10	10
	100	34
DNJ	100	75

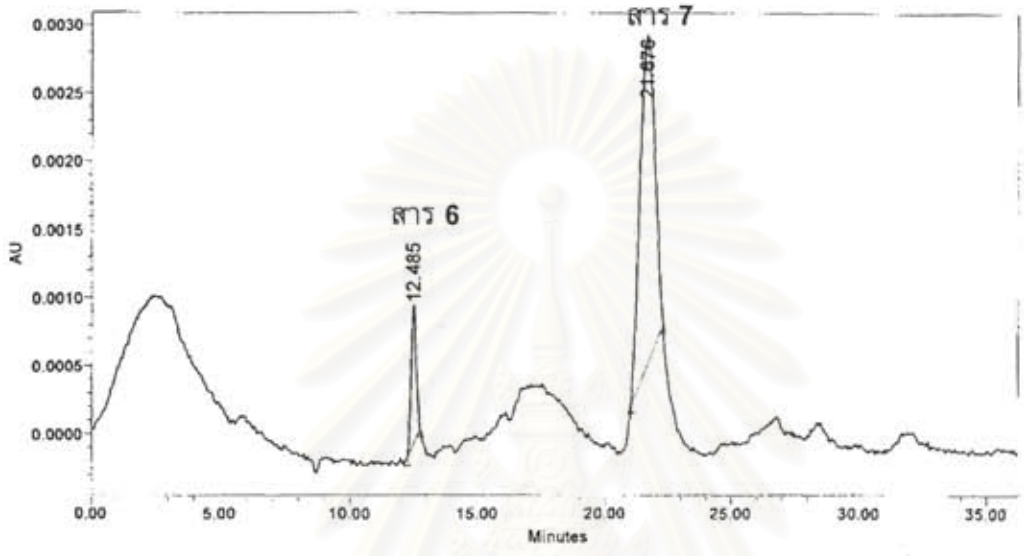
DNJ (std.) = Deoxynojirimycin

ที่ความเข้มข้น 100 µg/mL ให้ % การยับยั้งน้อยกว่า 50 % ซึ่งน้อยกว่าสารมาตราฐาน (DNJ)

2.3 การประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์จากการะชายดำ

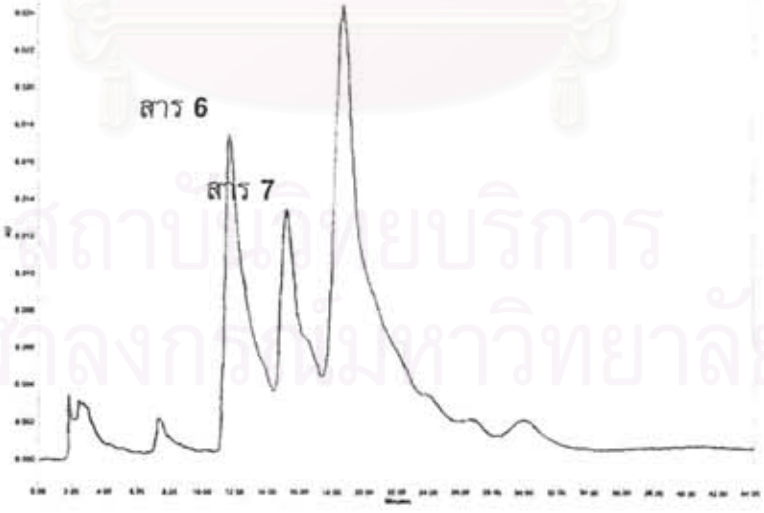
2.3.1 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสาร 6 และ 7 เบื้องต้น

เลือกใช้เทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** ซึ่งเป็นสารสำคัญในกระชายดำ เพื่อใช้เป็นสารอ้างอิงในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ



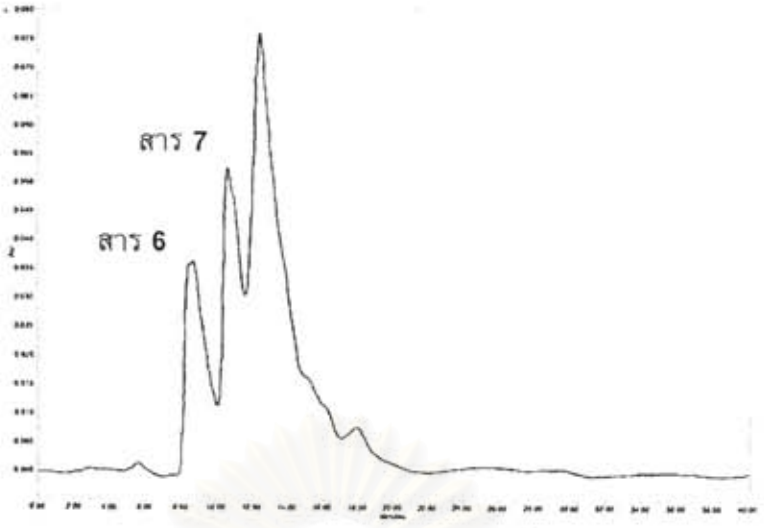
รูปที่ 5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานในการวิเคราะห์สาร 6 และ 7 โดยเครื่อง HPLC

2.3.2 การประเมินประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณสาร 6 และ 7 ในกระชายดำ



รูปที่ 6 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ที่สกัดจากกระชายดำด้วยวิธีที่ 1

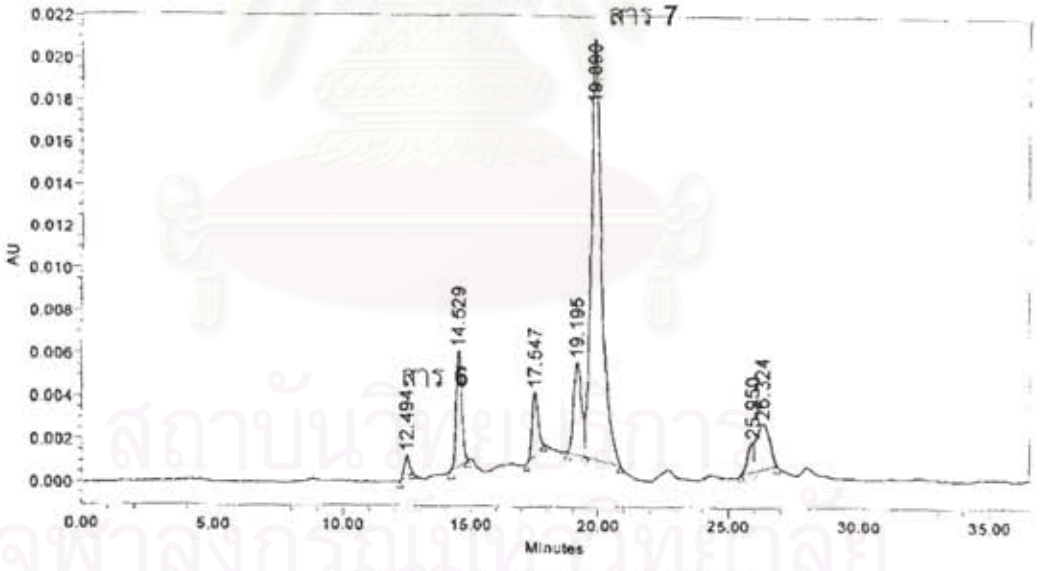
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ที่สกัดจากกระชายดำด้วยวิธีที่ 2

จากการทดลองพบว่าทั้งสองวิธีมีโครมาโทแกรมคล้ายกัน แต่วิธีที่2 มีสิ่งจือปน (impurity) น้อยกว่า ซึ่งจะรบกวนการวิเคราะห์น้อยกว่า จึงเป็นวิธีที่เหมาะสม

เลือกใช้เทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์จากกระชายดำ



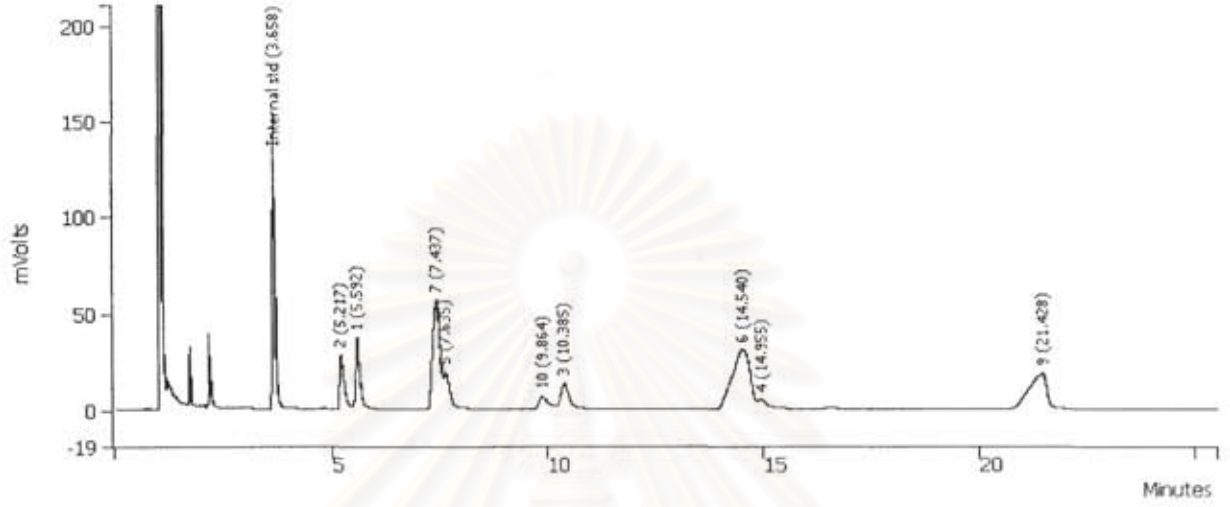
	RT	Area	% Area	Height
1	12.494	13494	1.49	985
2	14.529	81308	9.00	5363
3	17.547	48412	5.36	2888
4	19.195	93546	10.35	4325
5	19.890	567546	62.80	19897
6	25.950	21559	2.39	1391
7	26.324	77939	8.62	2169

รูปที่ 8 โครมาโทแกรมของไวน์กระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากผลของ HPLC พบว่า ในไวน์และชาชงกระชายดำ มีสาร **7** มากกว่า **6** ส่วนในแคปซูล (เชียงใหม่) มีสาร **6** สูงกว่าสาร **7** เล็กน้อย

นอกจากนี้ยังเลือกใช้เทคนิค gas chromatography (GC) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดกระชายดำ

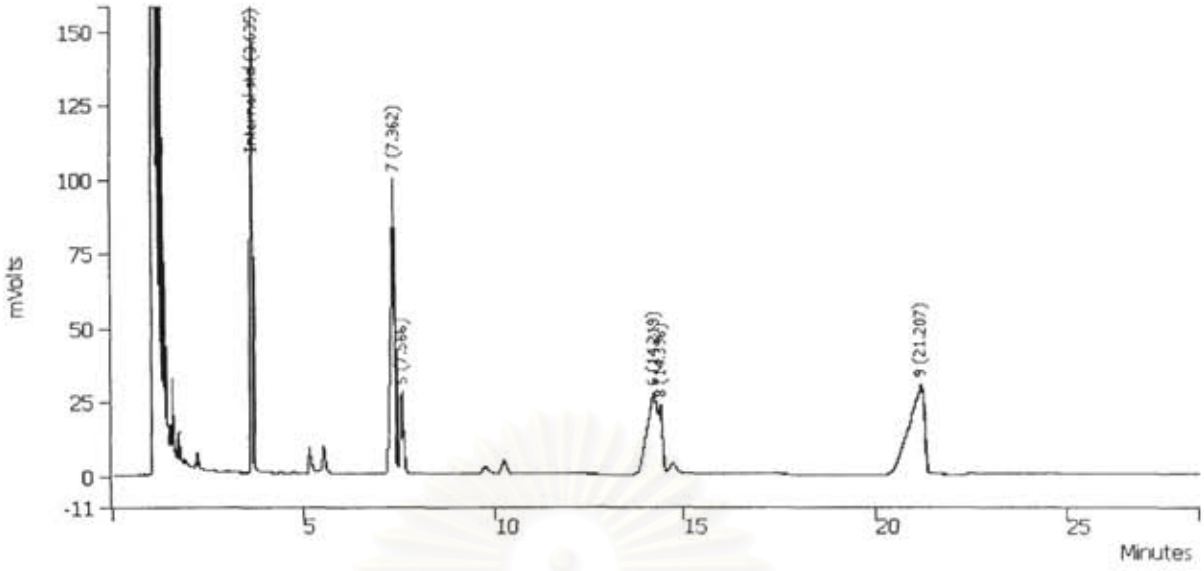


Peak No	Peak Name	Result ()	Ret Time (min)	Time Offset (min)	Peak Area (counts)	Rel Ret Time	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	7.5759	3.658	0.000	598582	0.00	BB	3.4		0
2	2	2.7012	5.217	0.000	213424	0.00	BV	6.7		0
3	1	3.0512	5.592	-0.000	241080	0.00	VB	5.6		0
4	7	4.0238	7.437	-0.000	317925	0.00	VV	11.2		0
5	5	2.2596	7.635	-0.000	178536	0.00	VB	12.4		0
6	10	1.2669	9.864	-0.000	100100	0.00	BV	14.7		0
7	3	2.3042	10.385	0.000	182059	0.00	VB	11.8		0
8	6	11.1955	14.540	0.000	884578	0.00	BV	27.6		0
9	4	1.0394	14.955	0.000	82127	0.00	VB	21.9		0
10	9	6.9326	21.428	0.000	547756	0.00	BB	27.3		0
	Totals	**42.3503**		**0.000**	**3346167**					

รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเชียงใหม่ ในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

จากผลของ GC พบว่า สิ่งสกัดจากกระชายดำ จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และเลย มีปริมาณสาร **6** มากกว่าสาร **7**

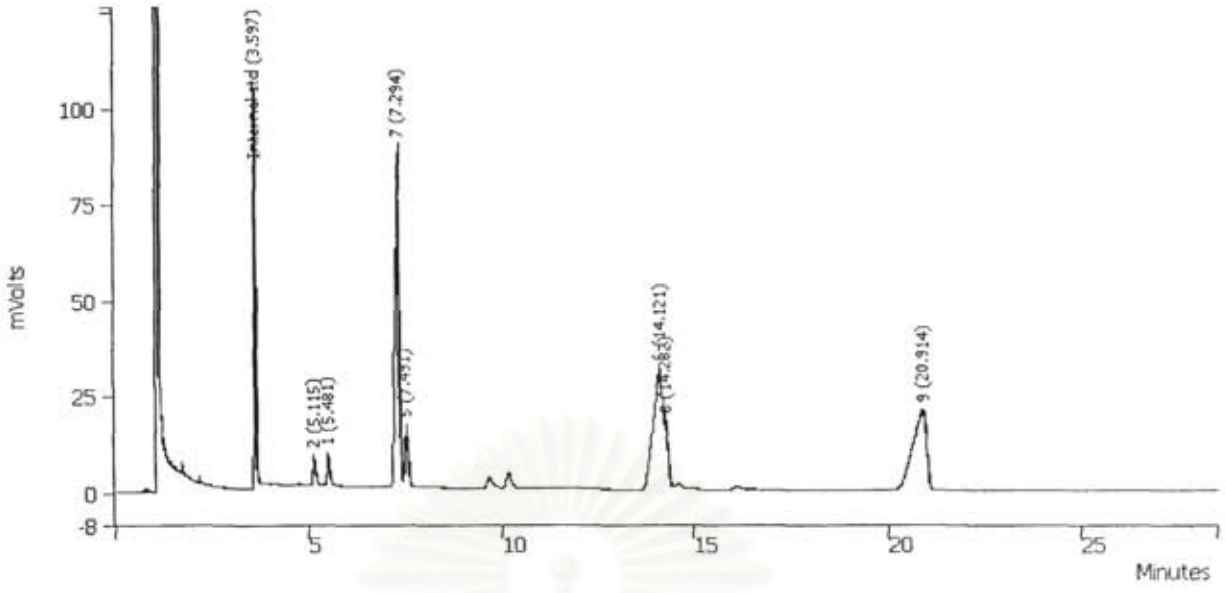
เลือกใช้เทคนิค gas chromatography (GC) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์จากกระชายดำ



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	5.5039	3.635	0.035	0.00	574459	BB	2.5		0
2	7	6.5903	7.362	0.000	0.00	687853	BV	6.7		0
3	5	1.3780	7.566	0.000	0.00	143829	VB	4.7		0
4	6	4.4735	14.219	-0.001	0.00	466918	BV	0.0		0
5	8	1.6413	14.396	0.000	0.00	171305	VB	13.2		0
6	9	8.1487	21.207	-0.000	0.00	850510	BB	27.8		0
	Totals	**27.7357**		**0.034**		**2894874**				

รูปที่ 10 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของไวน์กระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	4.1054	3.597	0.000	0.00	268285	BB	2.3		0
2	2	0.5235	5.115	0.000	0.00	34209	BB	4.0		0
3	1	0.5459	5.481	0.000	0.00	35675	BB	3.9		0
4	7	8.9456	7.294	0.000	0.00	584580	BV	6.3		0
5	5	1.3568	7.491	0.000	0.00	88668	VB	4.9		0
6	6	8.2706	14.121	-0.000	0.00	540468	BV	0.0		0
7	8	1.6146	14.262	-0.000	0.00	105514	VB	10.0		0
8	9	7.8762	20.914	-0.000	0.00	514700	BB	24.0		0
	Totals	**33.2386**		**0.000**		**2172099**				

รูปที่ 11 โครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

เนื่องจากฟลาโวนอยด์ในกระชายดำส่วนใหญ่มีโครงสร้างและความมีขั้วที่ใกล้เคียงกันมาก จึงต้องใช้เครื่องที่มีประสิทธิภาพในการแยกและตรวจวัดสูง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC และ GC ของฟลาโวนอยด์กลุ่มนี้ พบว่าเครื่อง GC จะให้ค่า retention time ที่คงที่กว่า เครื่อง HPLC นอกจากนี้ GC มีผลจากพารามิเตอร์น้อยกว่า ดังนั้น จึงเลือกใช้เครื่อง GC ในการวิเคราะห์หาสารสำคัญ (**6** และ**7**) ในผลิตภัณฑ์เป็นส่วนใหญ่ โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณของสาร **6** และ **7** ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำดังแสดงในตารางที่ 1

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร 6 และ 7 ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของกระชายดำ

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร 6 และ 7 ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของกระชายดำด้วยเทคนิค GC

Sample	%Yield	Flavonoid content (mg/g dried powder) (compound nos.)										Total (mg)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
เครื่องดื่มกระชายดำ[a]	1.03	-	-	-	-	-	-	0.846	-	-	-	0.846
ชาชงกระชายดำ[b]	0.16	-	-	-	-	0.663	3.154	3.937	1.428	5.790	-	14.972
แคปซูลกระชายดำ[a]	1.38	2.961	2.473	2.634	-	5.016	26.454	26.853	7.568	26.154	-	100.113
แคปซูลกระชายดำ[d]	0.46	0.771	0.665	-	-	2.007	12.232	11.958	2.618	13.889	-	44.140
น้ำกระชายดำสกัด[c]*	3.83	-	-	-	-	9.767	19.856	38.006	10.314	64.661	-	142.604
ไวน์กระชายดำ[b] *	51.73	12.493	11.258	-	-	51.687	167.793	223.420	67.480	364.418	-	898.549
ชาชงกระชายดำ[b1]	7.45	34.314	24.454	33.814	11.987	22.803	106.933	86.373	23.448	102.868	16.088	463.082
เครื่องดื่มกระชายดำ[a1]	5.24	25.216	19.220	27.886	9.782	19.131	71.986	78.850	32.760	73.632	12.437	370.900
แคปซูลกระชายดำ[a1]	7.73	37.260	28.778	45.834	19.658	33.698	126.692	119.606	58.114	135.309	23.803	628.752
แคปซูลกระชายดำ[d1]	6.88	32.285	23.638	35.602	15.246	24.255	114.337	89.121	33.561	122.768	21.068	511.881

a = อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย

b = ตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย

c = บ้านอโรคยา กรุงเทพฯ

d = ตำบลครึ่งเย็น อำเภอไชยปราการ จังหัดเชียงใหม่

a1 = อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน)

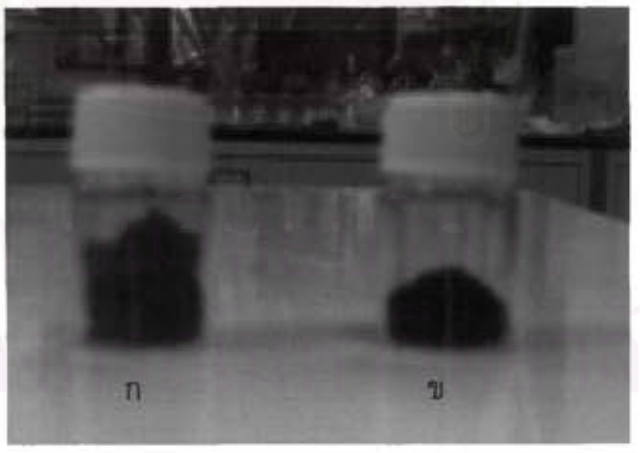
b1 = ตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน)

d1 = ตำบลครึ่งเย็น อำเภอไชยปราการ จังหัดเชียงใหม่ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน)

Flavonoid nos. **1** = 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone; **2** = 5-hydroxy-7-methoxyflavone; **3** = 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone; **4** = 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone; **5** = 3,5,7-trimethoxyflavone; **6** = 5,7,4'-trimethoxyflavone; **7** = 5,7-dimethoxyflavone; **8** = 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone; **9** = 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone; **10** = 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone

Note: - = non detected * = mg/mL KD extract

รูปที่ 12 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากการะชายดำที่นำมาวิเคราะห์



รูปที่ 13 ตัวอย่างกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) ก: วิธีที่ 1 ข: วิธีที่ 2

3. วิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 พบว่า สาร **6** และ **7** แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส เท่ากับ 56.20 และ 44.20 % ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ส่วนฟลาโวนสังเคราะห์เบื้องต้น 4 ชนิด (สาร **11 - 14**) มีเพียงสาร **11, 13** และ **14** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส แต่น้อยกว่าสาร **6** และ **7** จึงจำเป็นต้องสังเคราะห์สารในกลุ่มนี้ ให้มีตำแหน่งและหมู่แทนที่หลากหลายขึ้น

3.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากกระชายดำ (สาร **1-10**) เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ จะให้ฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ แต่มีเฉพาะสาร **1** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์ *Sacchoromyces cerevisiae* กลายพันธุ์

3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC และ GC เพื่อใช้วิเคราะห์สิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ของกระชายดำ พบว่า วิธีทาง GC ให้ค่า retention time คงที่กว่าเนื่อง GC สะดวก รวดเร็ว และมีตัวแปรน้อยกว่า นอกจากนี้ สารในกลุ่มนี้ไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ส่วนการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** พบว่า ในไวน์ จะมีปริมาณสารสองตัวนี้ในปริมาณสูงสุด เนื่องจากแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่ดี และค่อนข้างมีขั้ว จึงจะสกัดสารอินทรีย์ส่วนใหญ่ออกมา จากผลของการสกัดผลิตภัณฑ์ของกระชายดำด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่ามีสาร **6** และ **7** เป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณสารสำคัญที่ไม่แน่นอนในแต่ละตัวอย่าง จะสอดคล้องกับรายงานวิจัยของแคทรียา และคณะ [2] นอกจากนี้ เซีย และคณะ[18] ยัง ได้รายงานว่า สาร **7** อาจมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็งตับที่มีสาเหตุมาจากสารเคมี

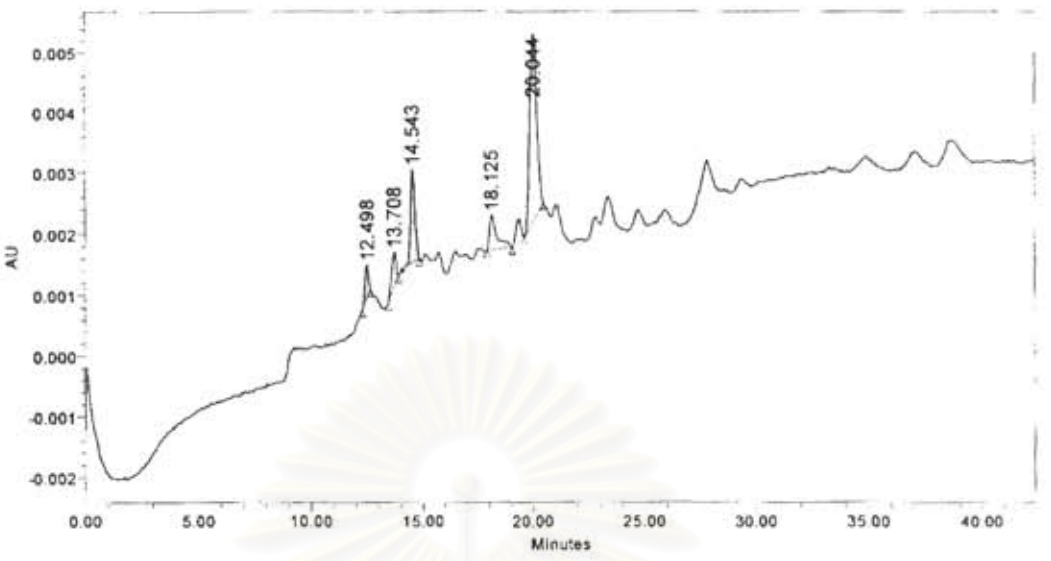
3.4 การแปรรูปกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า วิธี ก จะดีกว่าวิธี ข เนื่องจากวิธี ข จะดูดความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้ เพราะวิธีนี้จะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ถึง 50 เปอร์เซ็นต์

4. สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้

- ควรมีการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ในกลุ่มนี้ ให้มีอนุพันธ์หลากหลายขึ้น
- ควรมีการปรับปรุงวิธีการแปรรูปและวิเคราะห์สารสำคัญในกระชายดำผง โดยการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) หรือโดยวิธีการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (spray-dry)
- เนื่องจากความไม่แน่นอนในปริมาณสารสำคัญแต่ละตัวอย่าง ดังนั้น จึงควรตรวจสอบคุณภาพทั้งในด้านของแหล่งที่ได้มาของวัตถุดิบ และขบวนการผลิต ซึ่งจะนำไปสู่การคุ้มครองผู้บริโภคที่มีประสิทธิภาพ

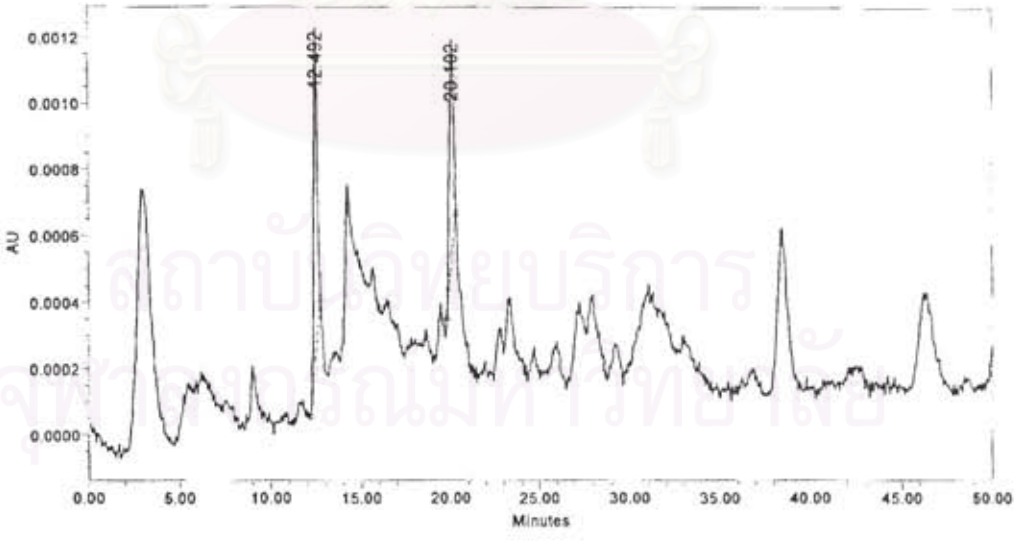
ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



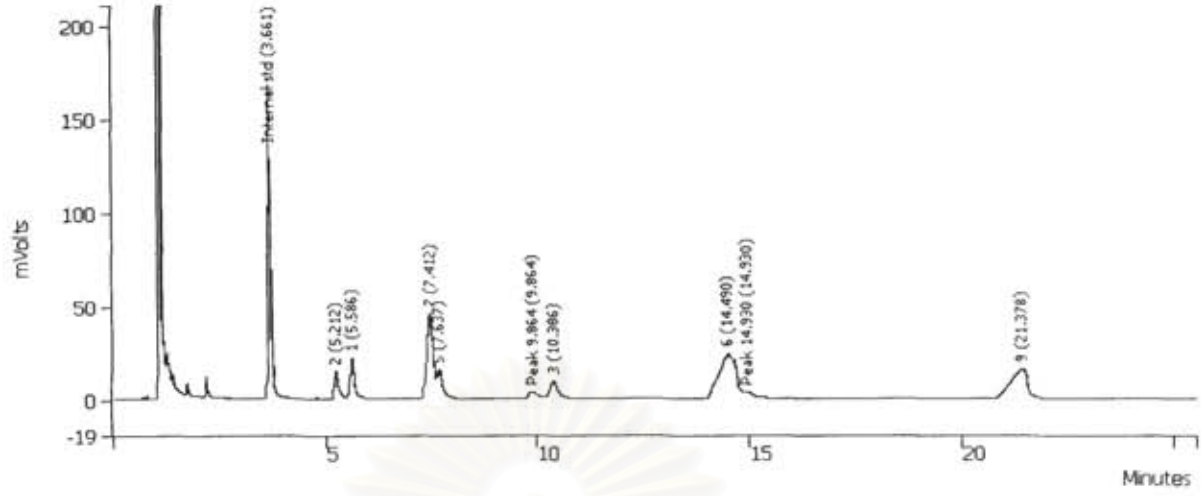
	RT	Area	% Area	Height
1	12.498	6416	5.41	549
2	13.708	7732	6.52	573
3	14.543	22111	18.65	1525
4	18.125	13398	11.30	566
5	20.044	68890	58.11	3104

รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของชาชงกระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC



	RT	Area	% Area	Height
1	12.492	13064	54.31	982
2	20.102	10989	45.69	654

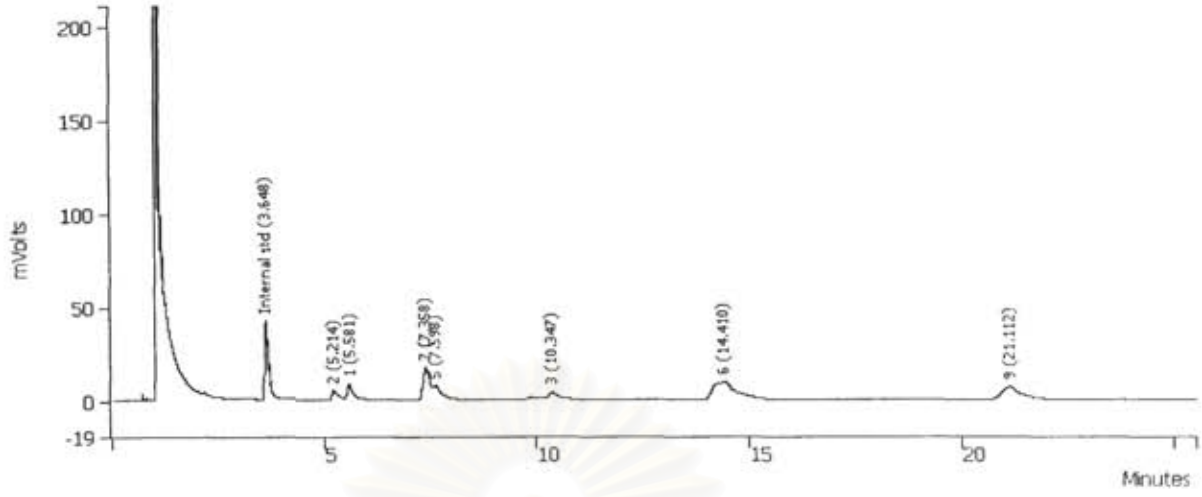
รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง HPLC



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret Time (min)	Time Offset (min)	Peak Area (counts)	Rel Ret Time	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	9.6950	3.661	0.013	664496	0.00	BB	3.2		0
2	2	1.5739	5.212	-0.002	107874	0.00	BV	6.3		0
3	1	2.0745	5.586	0.005	142189	0.00	VB	5.6		0
4	7	6.8842	7.412	0.054	471846	0.00	BV	10.0		0
5	5	2.1650	7.637	0.039	148391	0.00	VB	12.4		0
6	Peak 9.864	0.8346	9.864	0.000	57205	0.00	BV	14.2		0
7	3	1.8632	10.386	0.039	127705	0.00	VB	11.1		0
8	6	9.8240	14.490	0.080	673336	0.00	BV	27.5		0
9	Peak 14.930	0.8641	14.930	0.000	59227	0.00	VB	0.0		0
10	9	6.6263	21.378	0.266	454166	0.00	BB	25.7		0
	Totals	**42.4048**		**0.494**	**2906435**					

รูปที่ 3 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเชียงราย ในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

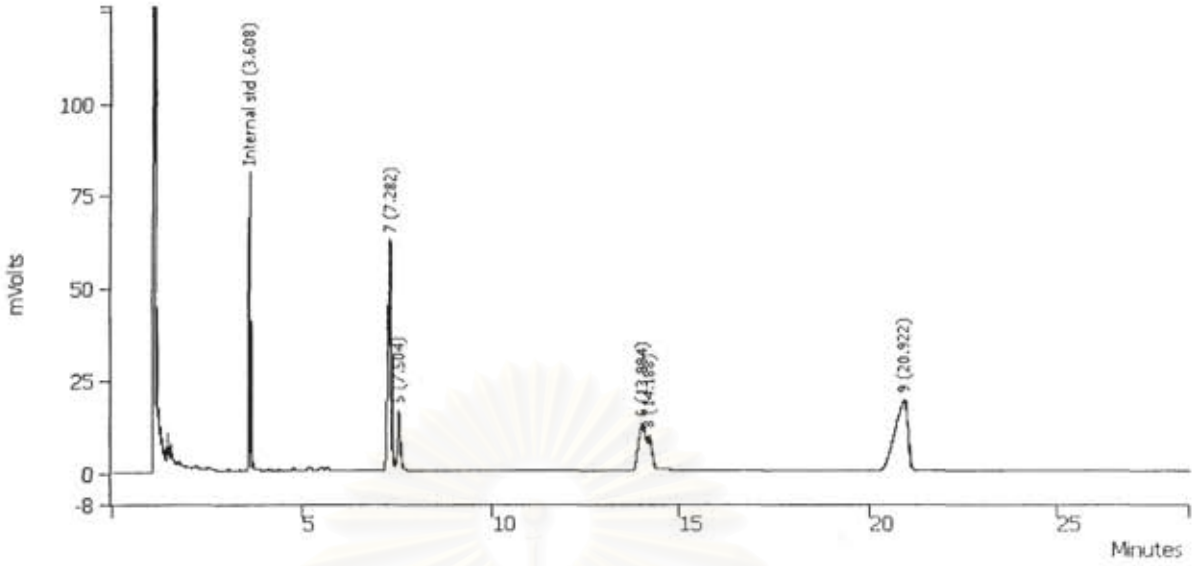
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret Time (min)	Time Offset (min)	Peak Area (counts)	Rel Ret Time	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	3.9219	3.648	-0.000	255606	0.00	BB	5.5		0
2	2	0.6589	5.214	0.000	42942	0.00	BB	8.7		0
3	1	0.9478	5.581	-0.000	61776	0.00	BB	6.8		0
4	7	2.8091	7.358	0.000	183085	0.00	BV	10.6		0
5	5	1.6101	7.598	0.000	104938	0.00	VB	0.0		0
6	3	0.7736	10.347	-0.000	50419	0.00	BB	11.3		0
7	6	3.8093	14.410	-0.000	248272	0.00	BB	31.9		0
8	9	3.1776	21.112	-0.000	207097	0.00	BB	26.7		0
	Totals	**17.7083**		**0.000**	**1154135**					

รูปที่ 4 โครมาโทแกรมของสิ่งสกัดที่แยกได้จากกระชายดำที่เก็บได้จากจังหวัดเลยในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

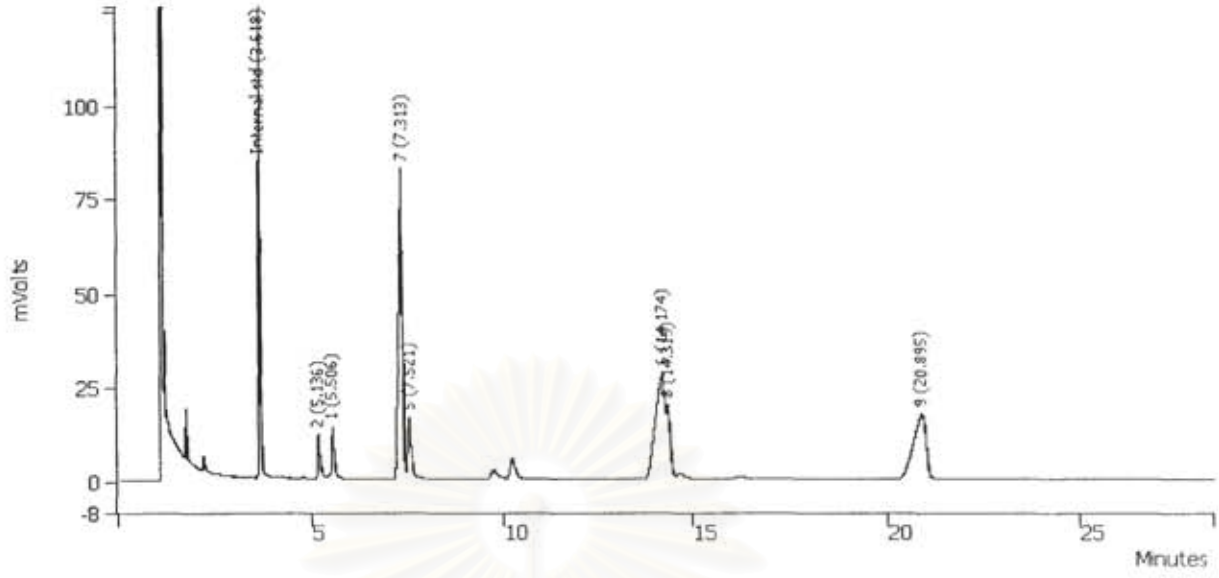
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	3.4805	3.608	-0.000	0.00	194889	BB	2.2		0
2	7	6.3464	7.282	0.000	0.00	355368	BV	5.3		0
3	5	1.4741	7.504	0.000	0.00	82543	VB	4.5		0
4	6	2.9968	13.994	0.000	0.00	167808	BV	14.5		0
5	8	1.4201	14.188	0.000	0.00	79518	VB	22.0		0
6	9	8.1850	20.922	-0.000	0.00	458319	BB	22.5		0
	Totals	**23.9029**		**0.000**		**1338445**				

รูปที่ 5 โครมาโทแกรมของน้ำกระชายดำสกัด จากบ้านอโรคยา กรุงเทพฯ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

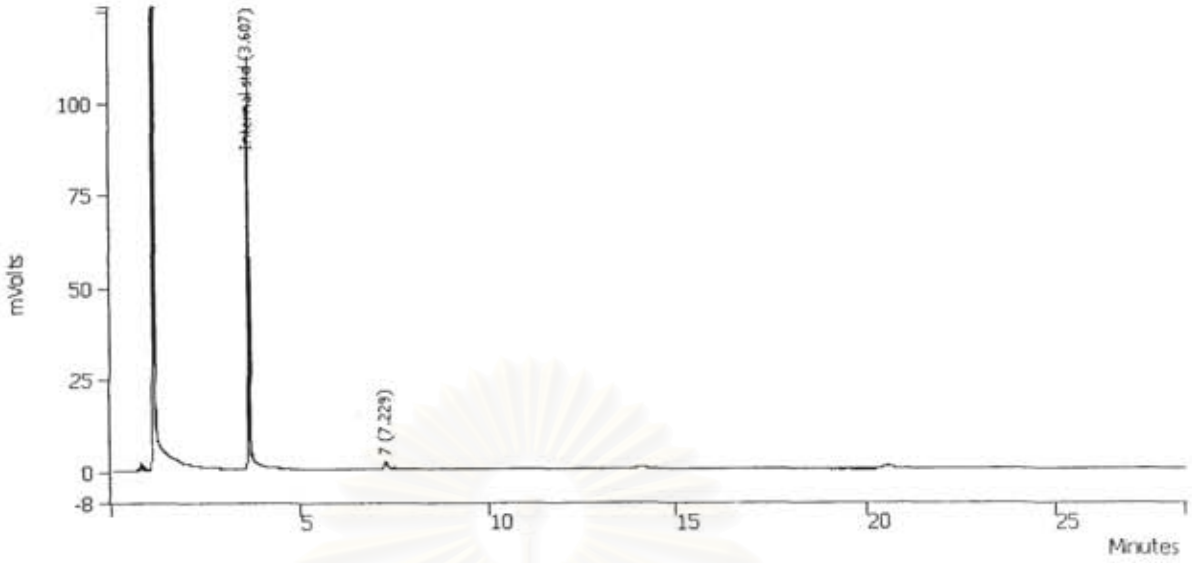
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	5.9448	3.618	0.021	0.00	345215	BB	2.4		0
2	2	0.9034	5.136	0.021	0.00	52461	BB	4.0		0
3	1	0.9727	5.506	0.025	0.00	56483	BB	3.7		0
4	7	9.3229	7.313	0.019	0.00	541377	BV	6.2		0
5	5	1.5741	7.521	0.030	0.00	91406	VB	5.0		0
6	6	8.3011	14.174	0.052	0.00	482046	BV	26.2		0
7	8	2.1666	14.315	0.053	0.00	125816	VB	9.4		0
8	9	6.8835	20.895	-0.019	0.00	399724	BB	21.7		0
	Totals	**36.0691**		**0.202**		**2094528**				

รูปที่ 6 โครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

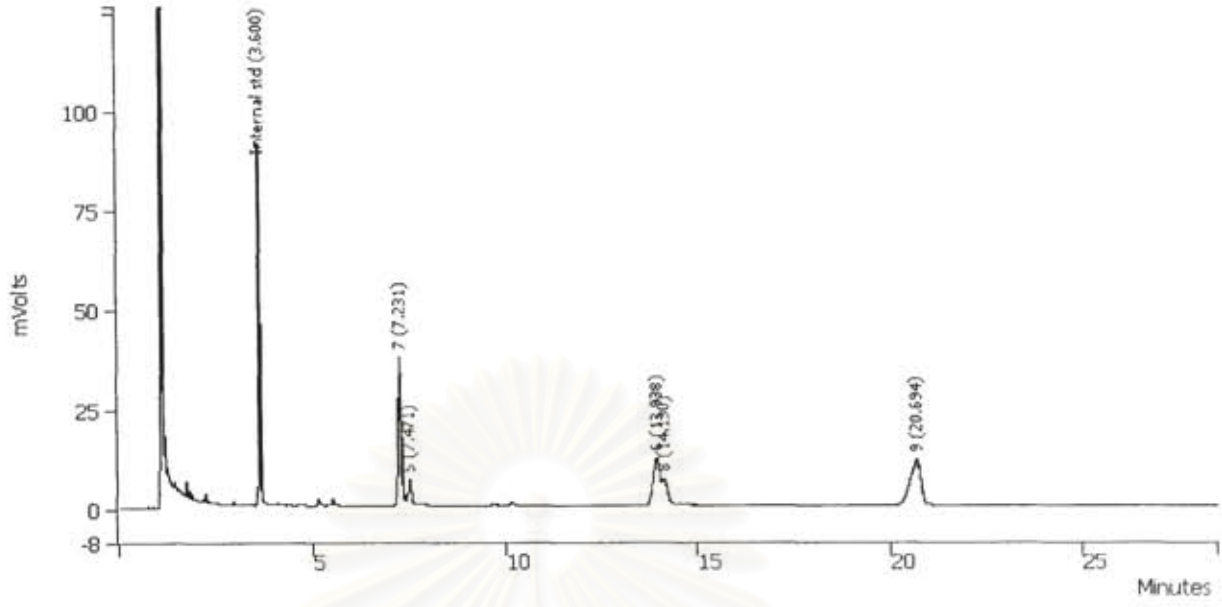
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	7.0896	3.607	-0.000	0.00	277720	BB	2.2		0
2	7	0.2825	7.229	-0.001	0.00	11068	BB	5.3		0
	Totals	**7.3721**		**-0.001**		**288788**				

รูปที่ 7 โครมาโทแกรมของเครื่องดื่มกระชายดำ จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

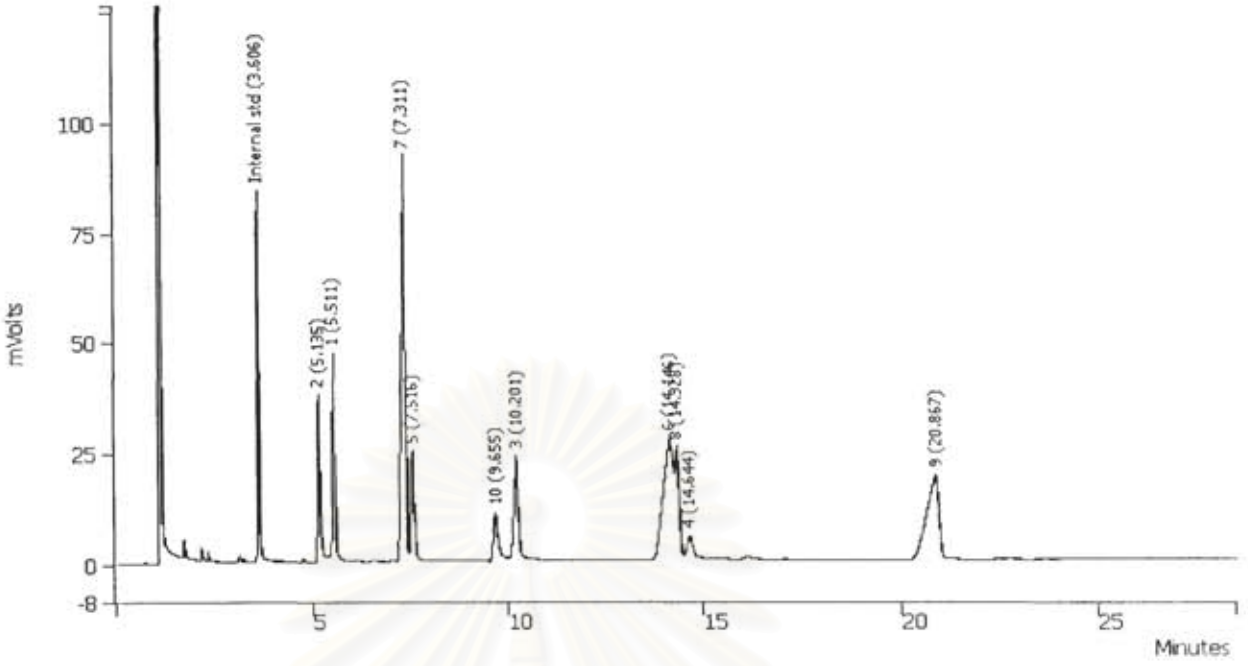
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	4.7222	3.600	0.000	0.00	220481	BB	2.2		0
2	7	4.1211	7.231	-0.000	0.00	192415	BB	4.8		0
3	5	0.5989	7.471	-0.001	0.00	27963	BB	4.4		0
4	6	2.9836	13.938	0.000	0.00	139306	BV	12.4		0
5	8	1.2324	14.130	0.000	0.00	57544	VB	0.0		0
6	9	4.5940	20.694	-0.000	0.00	214495	BB	18.2		0
	Totals	**18.2522**		**-0.001**		**852204**				

รูปที่ 8 โครมาโทแกรมของซาซงกระชายดำ จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

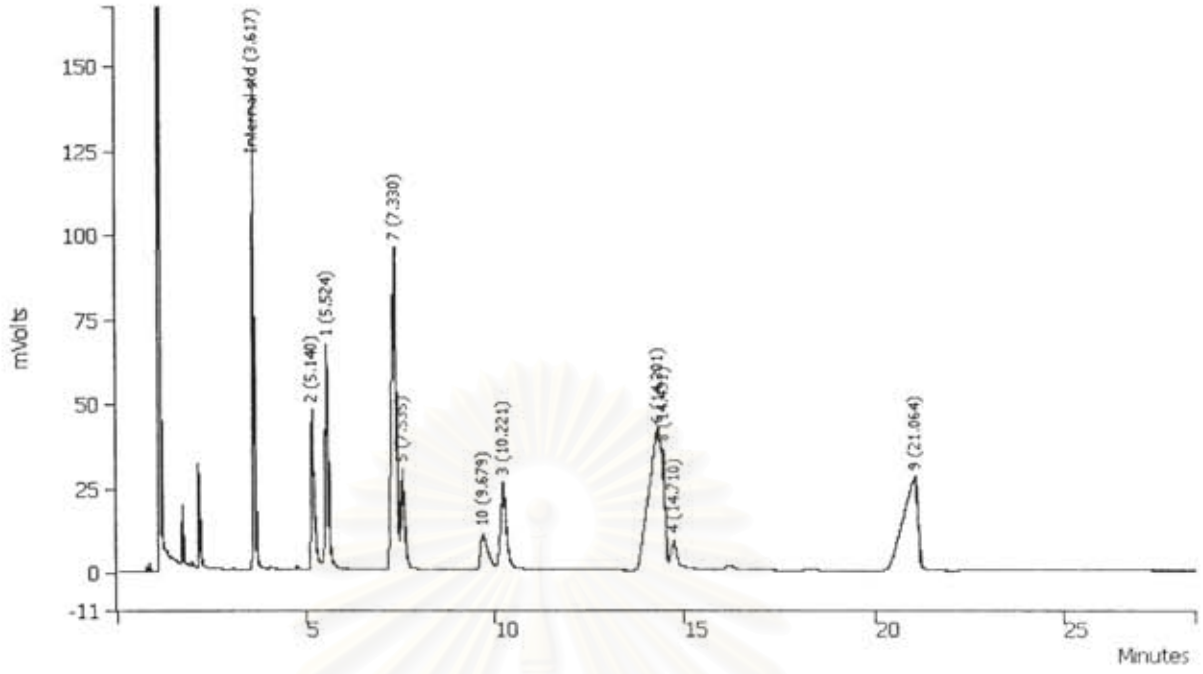
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	3.1698	3.606	-0.000	0.00	219569	BB	2.4		0
2	2	2.1297	5.135	0.000	0.00	147523	BB	3.5		0
3	1	2.5128	5.511	0.000	0.00	174059	BB	3.5		0
4	7	8.3034	7.311	-0.000	0.00	575170	BV	5.9		0
5	5	1.8209	7.516	-0.000	0.00	126131	VB	4.6		0
6	10	1.2394	9.655	-0.000	0.00	85850	BB	7.1		0
7	3	2.5247	10.201	0.000	0.00	174883	BB	6.8		0
8	6	6.8516	14.146	0.000	0.00	474605	BV	23.9		0
9	8	2.8446	14.328	0.000	0.00	197044	VV	10.5		0
10	4	0.8114	14.644	-0.000	0.00	56204	VB	9.8		0
11	9	5.8779	20.867	-0.000	0.00	407162	BB	21.0		0
	Totals	**38.0862**		**0.000**		**2638200**				

รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของเครื่องดื่มกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

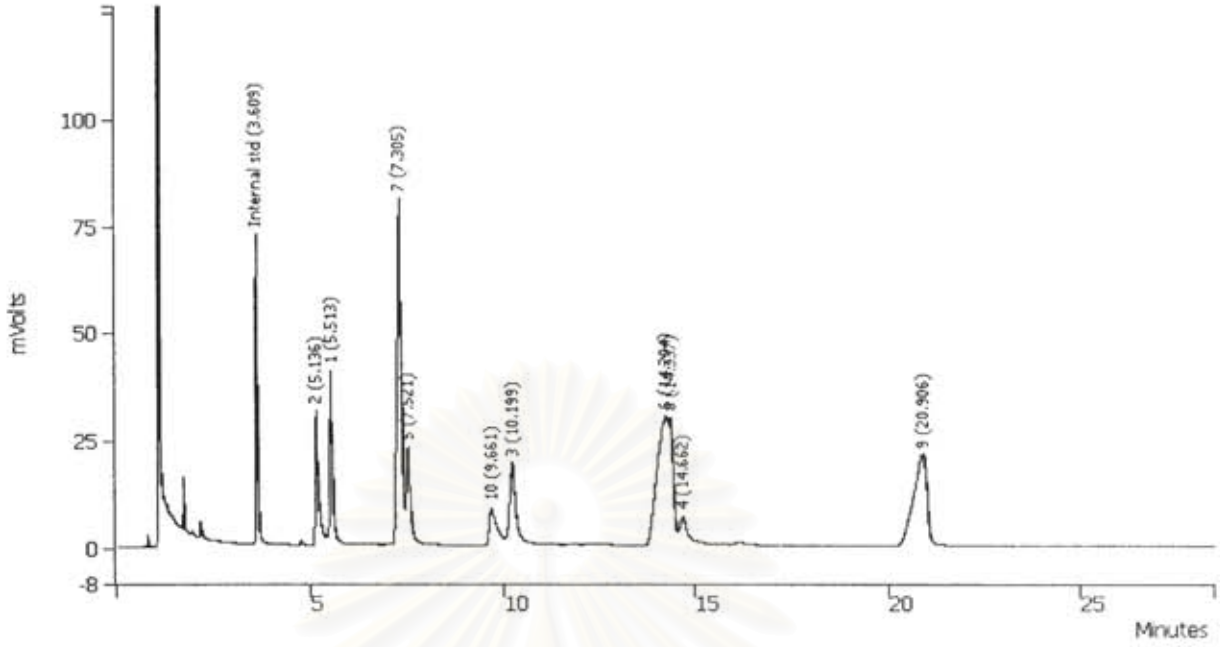
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	5.2066	3.617	0.000	0.00	456454	BB	2.8		0
2	2	2.8407	5.140	0.000	0.00	249036	BB	4.6		0
3	1	3.5848	5.524	0.000	0.00	314271	BB	4.2		0
4	7	9.5353	7.330	0.000	0.00	835938	BV	8.3		0
5	5	2.2753	7.535	-0.000	0.00	199470	VB	5.9		0
6	10	1.6807	9.679	-0.000	0.00	147343	BV	13.0		0
7	3	3.2094	10.221	-0.000	0.00	281362	VB	9.4		0
8	6	10.6699	14.301	-0.000	0.00	935411	BV	32.2		0
9	8	2.1344	14.431	-0.000	0.00	187121	VV	8.6		0
10	4	1.0424	14.710	0.000	0.00	91381	VB	10.3		0
11	9	8.6088	21.064	0.000	0.00	754714	BB	26.7		0
	Totals	**50.7883**		**0.000**		**4452501**				

รูปที่ 10 โครมาโทแกรมของชาชงกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

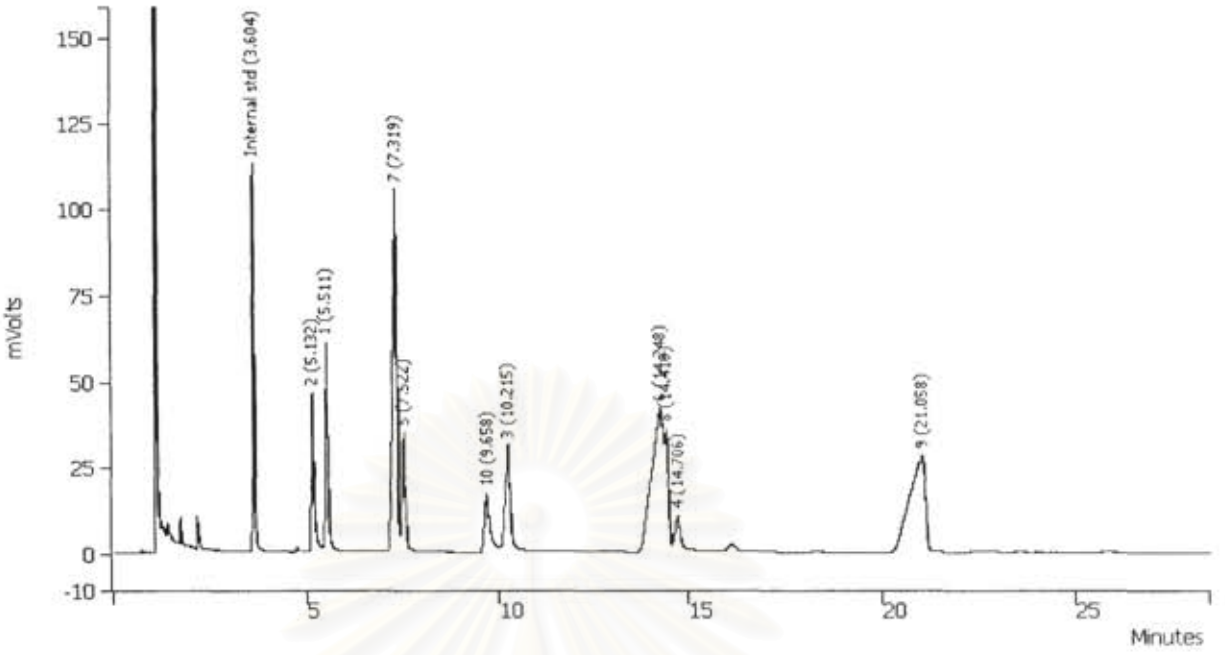
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	3.0900	3.609	0.000	0.00	208785	BB	2.4		0
2	2	2.3023	5.136	-0.001	0.00	155564	BB	4.2		0
3	1	2.6808	5.513	0.000	0.00	181137	BB	4.0		0
4	7	9.0938	7.305	-0.000	0.00	614448	BV	6.7		0
5	5	2.3158	7.521	0.000	0.00	156471	VB	6.0		0
6	10	1.7126	9.661	0.000	0.00	115719	BV	11.7		0
7	3	2.9960	10.199	0.000	0.00	202437	VB	8.9		0
8	6	8.7063	14.204	-0.000	0.00	588268	BV	29.1		0
9	8	3.6433	14.337	-0.000	0.00	246171	VV	10.5		0
10	4	1.1773	14.662	0.000	0.00	79550	VB	12.2		0
11	9	7.7987	20.906	-0.000	0.00	526942	BB	23.4		0
	Totals	**45.5169**		**-0.001**		**3075492**				

รูปที่ 11 โครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากอำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Peak No	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Rel Ret Time	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes	Group
1	Internal std	3.8517	3.604	-0.000	0.00	316843	BB	2.5		0
2	2	2.5587	5.132	0.000	0.00	210481	BB	3.9		0
3	1	3.1429	5.511	0.000	0.00	258534	BB	3.9		0
4	7	9.1681	7.319	-0.000	0.00	754174	BV	6.8		0
5	5	2.2552	7.522	-0.000	0.00	185517	VB	4.7		0
6	10	1.8633	9.658	-0.001	0.00	153279	BB	8.2		0
7	3	3.1488	10.215	-0.000	0.00	259026	BB	7.8		0
8	6	10.6311	14.248	0.000	0.00	874523	BV	28.8		0
9	8	2.8468	14.418	-0.000	0.00	234179	VV	9.3		0
10	4	1.2354	14.706	-0.000	0.00	101627	VB	9.2		0
11	9	9.5739	21.058	0.000	0.00	787554	BB	28.6		0
	Totals	**50.2759**		**-0.001**		**4135737**				

รูปที่ 12 โครมาโทแกรมของแคปซูลกระชายดำ (สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน) จากตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์สาร **6** และ **7** โดยเครื่อง GC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บรรณานุกรม

1. Jaipetch, T. ; Reutrakul, V. ; Tuntiwachwuttikul, P., and Santisuk, T. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 625-626.
2. Sutthanut, K.; Sripanidkulchai, B.; Yenjai, C., and Jay. *Journal of Chromatography A* **2007**, *1143*, 227-233.
3. Ruijjanawate, C.; Kanjanapothi, D.; Amornlerdpison, D., and Pojanagaroon, S. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *102*, 120-122.
4. Yenchai, C.; Prasanphen, K.; Doodee, S.; Wongpanich, V., and Kittakoop, P. *Fitoterapia* **2004**, *75*, 89-92.
5 Wattanapitayakul, S.K., Chularojmaontri, L.: Herunsalee, A. Charuchongkdwongse, S., and Chansuvanich, N. *Fitoterapia* **2008**, 214-216.
6. Ellman, G. L.; Coutney, K. D.; Valentino, C.; Zarzuelo, A. Jr., and Feathertone, R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88-95.
7. Rhee, K.; Meent, M.; Ingkaninan, K., and Verpoorte, R. *Journal of Chromatography A* **2001**, *915*, 217-223.
8. Fulton, B., and Benfield, P. *Drugs Aging* **1996**, *9*, 60-65.
9. Zarotsky, V.; Sramek, J.J., and Cutler, N.R. *Journal of Health-System Pharmacist* **2003**, *60*, 446-452.
10. เกษร นันทจิต, ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์, พิมพ์ที่คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่, 2548.
11. Ingkaninan, K.; Temkitthawon, P.; Chuenchom, K.; Yuyaem, T., and Thongnoi, W. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *89*, 261-264.
12. Wheeler, T.S. *Org. Syntheses Coll.* **1943**, *2*, 545; *Org.Syntheses Coll.* **1955**, *3*, 389.
13. Gobbi, S., Rampa, A., Bisi, A.; Belluti, F.; Piazzi, L.; Valenti, P.; Caputo, A.; Zampiron, A., and Carrara, M., *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3662-3669.
14. In K., R., Michiel M., Kornkanok I., and Robert V. *Journal of Chromatography A.* ***2001***, *915, 217-223.*
15. Miliauskas, G.; Venskutonis, R.P.; Beek., and T.A. van. *Food Chemistry,* **2004**,*85 , 231 - 237.*
16. Cheung, K. T., Thomasson, W. R., Wu-Yuan, C.D. *J. Applied Bacteriology*,**1990**, *69*, 498.
17. Srinivas V. P., Ashok K. T., UmaMaheswara S. V., Anuradha V., Hari B. T., Krishna R. D., Ikhlas A. K., and Madhusudana R. *J. Journal of Ethanopharmacology*, **2006**, *108*, 445-449.
18. Xia W., U.Kristina W., and Thomas W. *Carcinogenesis*, **2005**, *26*, 803-809.

ประวัตินักวิจัยและคณะ

1. หัวหน้าโครงการ

(ภาษาไทย) สันติ ทิพยางค์ ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Santi Tip-pyang

ภาควิชา เคมี คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2218-7625

ที่อยู่ปัจจุบัน 454/58 หมู่บ้านทิวสน ลาดพร้าว 87 บางกะปิ กทม. 10310 โทรศัพท์ 0-2538-6766

ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
PhD	อินทรีย์เคมี	Mississippi State University	2533

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. P. Phuwapraisirisan, P. Sowanthip, D.H. Miles, **S.Tip-pyang**. *Phytother. Res.* **2006**, *20*, 458-461.

2. P. Phuwapraisirisan, S. Surapinit, S. Sombund, P. Siripong, **S.Tip-pyang**. *Tetrahedron lett.*, **2006**, *47*, 3685-4688.

3. P. Phuwapraisirisan, S. Surapinit, **S. Tip-pyang**. *Phytother. Res.* **2006**, *20*, 708-710.

4. P. Phuwapraisirisan, A. Poapolathep, S. Poapolathep, **S. Tip-pyang**. *ACGC Chem. Res. Comm.*, **2006**, *20*,17-19.

5. P. Phuwapraisirisan, J. Rangsan, P. Siripong, **S. Tip-pyang**. *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*, 1321-1325.

6. P. Phuwapraisirisan, S. Udomchotphruet, S. Surapinit, **S. Tip-pyang**. *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*,1332-1337.

7. P. Phuwapraisirisan, S.Surapinit, P.Siripong ,**S.Tip-pyang** and U.kokpol. *Tetrahedron lett.*, **2007**, *48*, 527-530.

8. P. Phuwapraisirisan, S. Surapinit, R. Jeenapongsa, **S. Tip-pyang**, U.kokpol. *Phytother. Res.*, **2007**, *21*, 485-487.

9. P. Phuwapraisirisan, K. Swang, P. Siripong, **S. Tip-pyang**. *Tetrahedron lett* ., **2007**, *48*, 527-530.

10. C.Phoopichayanun, P. Phuwapraisirisan, **S.Tip-pyang**, J.Jongaramruong. *Natural Product Research*.**2008,** *in press.*

11. Y.Limpipatwattana, **S.Tip-pyang**, S.Khumkratok. *Biochemical Systematics and Ecology*. **2008**,*in press*

12. P. Phuwapraisirisan,J.Rangsan, P.Siripong and **S.Tip-pyang** . *Natural Product Research.***2008,** *in press.*

2. ผู้วิจัย

(ภาษาไทย) วรินทร ชวศิริ ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Warinthorn Chavasiri

ภาควิชา เคมี คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2218-7625

ที่อยู่ปัจจุบัน 160/26 ซ. กิตติชัย ถ. บางกอกน้อย-ตลิ่งชัน บางกอกน้อย กรุงเทพ 10700 โทรศัพท์ 02-4332578

ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
Ph.D.	เคมี	Texas A&M University, U.S.A.	2536
วท.ม.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2531
วท.บ.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2528

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. Pluempanupat, W., Chantarasriwong, O., Taboonpong, P., Jang, D.O., **Chavasiri, W.** "Reactivity of chlorinating agents/PPh_3 for the chlorination of alcohols and carboxylic acids: a comparative study" *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 223-226.

2. Kang, D.H., Joo, T.Y., **Chavasiri, W.**, Jang, D.O. "Radical mediated-direct conversion of aldehydes into acid bromides" *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, *285-287.*

3. Intaranongpai, J., **Chavasiri,W.**, Gritsanapan, W. "Anti-head lice effect of *Annona squamosa* seeds" *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health* **2006**, *37*, 532-535.

4. Chantarasriwong, O., Jang, D.O., **Chavasiri, W.** "A practical and efficient method for the preparation of sulfonamides utilizing Cl_3CCN/PPh_3" *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7489-7492.

5. Pluempanupat, W., **Chavasiri, W.** "An efficient method for chlorination of alcohols using PPh_3/Cl_3CCONH_2" *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6821-6823.

6. Morimoto, M., Fukumoto, H., Hiratani, M., **Chavasiri, W.**, Komai, K. "Insect antifeedants, pterocarpans and pterocarpol, in heartwood of *Pterocarpus macrocarpus* Kruz" *Biosci. Biotech. Biochem.* **2006**, *70*, 1864-1868.

7. Kang, D.H., Joo, T.Y., Lee, E.H., Chaysripongkul, S., **Chavasiri, W.**, Jang, D.O. "A mild and efficient reaction for conversion of carboxylic acids into acid bromides with ethyl tribromoacetate/triphenylphosphine under acid-free conditions" *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5693-*5696.*

8. Munbunjong, W., Lee, E.H., **Chavasiri, W.**, Jang, D.O. "Indium-mediated mild and efficient one-pot synthesis of alkyl phenyl selenides" *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8769-8771.

3. ผู้วิจัย

(ภาษาไทย) ปรีชา ภูวไพรศิริศาล ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Preecha Phuwapraisirisan

ภาควิชา เคมี คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-2187624

ที่อยู่ปัจจุบัน 40/2580 ต.ท่าทราย อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000 โทรศัพท์ 02-5914172

ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
PhD	Aquatic Bioscience	University of Tokyo	2546
วท.ม.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2541
วท.บ. (เกียรตินิยม)	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2539

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. **Phuwapraisirisan, P.**; Sawang, K.; Siripong. P.; Tip-pyang, S. "Anhydrocochlioquinone A, a new antitumor compound from *Bipolaris oryzae*" *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5193-5195.
2. **Phuwapraisirisan, P.**; Surapinit, S.; Jeenapongsa, R.; Tip-pyang, S.; Kokpol, U. "Feroniellin B, a new highly potent human platelet aggregation inhibitor from *Feroniella lucida*" *Phytother. Res.* **2007**, *21*, 485-487.
3. **Phuwapraisirisan, P.**; Surapinit, S.; Siripong. P.; Tip-pyang, S.; Kokpol, U. "Feroniellides A and B, apotirucallane triterpenes with novel cyclic acetals from *Feroniella lucida*" *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 527-530.
4. **Phuwapraisirisan, P.**; Rangsan, J.; Siripong. P.; Tip-pyang, S. "9-*epi*-Viridiol, a novel cytotoxic furanosteroid from soil fungus *Trichoderma virens*" *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*, 1321-1325.
5. **Phuwapraisirisan, P.**; Udomchotphruet, S.; Surapinit, S.; Tip-pyang, S. "Antioxidant xanthones from *Cratoxylum cochinchinense*" *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*, 1332-1337.
6. **Phuwapraisirisan, P.**; Surapinit, S.; Tip-pyang, S. "A Novel Furanocoumarin from *Feroniella lucida* Exerts Protective Effect against Lipid Peroxidation" *Phytother. Res.* **2006**, *20*, 708-710.

7. **Phuwapraisirisan, P.**; Surapinit, S.; Sombund, S.; Siripong. P.; Tip-pyang, S. "Feroniellins A-C, novel cytotoxic furanocoumarins with highly oxygenated C_{10} moieties from *Feroniella lucida*" *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3685-3688.
8. **Phuwapraisirisan, P.**; Poapolathep, A.; Poapolathep, S.; Tip-pyang, S. "In *vivo* Oxytoxin Antagonistic Effects of Pyrolizidine Alkaloids from *Stemona* sp. and *Asparagus racemosus*" *ACGC Chem. Res. Comm.* **2006**, *20*, 17-19.
9. **Phuwapraisirisan, P.**; Sowanthip, P.; Miles, D. H.; Tip-pyang, S. "Reactive Radical Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibition of Proanthocyanidins from *Carallia brachiata*" *Phytother. Res.* **2006**, *20*, 458-461.
10. **Phuwapraisirisan, P.**; Matsunaga, S.; Fusetani, N. "Mycapolyols A-F, Novel Cytotoxic Metabolites of Mixed Biogenesis from the Marine Sponge *Mycale izuensis*" *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2233-2236.

4. ผู้วิจัย

(ภาษาไทย) พัฒทรา สวัสดี ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์
(ภาษาอังกฤษ) Pattara Sawasdee
ภาควิชา เคมี คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-2187624
ที่อยู่ปัจจุบัน 2/1 ม. 8 ซอยอุดมทรัพย์ ถนนจรัญฯ 13 บางแค กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 081-2961475

ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
วท.บ.	เคมี (เกียรตินิยม)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2538
วท.ด.	เคมีอินทรีย์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2546

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

.....ไม่มี.....

5. ผู้วิจัย

(ภาษาไทย) ไพฑูรย์ รัชตะสาคร ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์
(ภาษาอังกฤษ) Paitoon Rashatasakhon
ภาควิชา เคมี คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-2187633
ที่อยู่ปัจจุบัน 69/2 หมู่ 1 ต.ท่าจีน อ.เมือง จ.สมุทรสาคร 74000 โทรศัพท์ 034-423463

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
วท.บ.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2540
PhD	เคมี	University of Missouri	2545

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. Padwa, A.; Boonsombat, J.; **Rashatasakhon, P.** "An approach toward oxidopyrylium ylides using Rh(II)-catalyzed cyclization chemistry" *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5938-5941.
2. Rose, M.D.; Cassidy, M.P.; **Rashatasakhon, P.**; Padwa, A. "Acid-Promoted Cyclization Reactions of Tetrahydroindolinones. Model Studies for Possible Application in a Synthesis of Selaginoidine" *J. Org. Chem.* **2007,** 72, 538-549.
3. Padwa,A.; Boonsombat, J.; **Rashatasakhon, P.**; Willis, J. "Efficient Construction of the Oxatricyclo[6.3.1.$0^{0,0}$]dodecane Core of Komaroviquinone Using a Cyclization/Cycloaddition Cascade of a Rhodium Carbenoid Intermediate" *Org. Lett.* **2005**, 7, 3725-3727.
4. Padwa, A.; **Rashatasakhon, P.**; Ozdemir, A.D.; Willis, J. "A Study of Vinyl Radical Cyclization Using *N*-Alkenyl-7-bromo-Substituted Hexahydroindolinones" *J. Org. Chem.* **2005,** *70*, 519-528.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย