



บทที่ 3

วิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.1.1 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

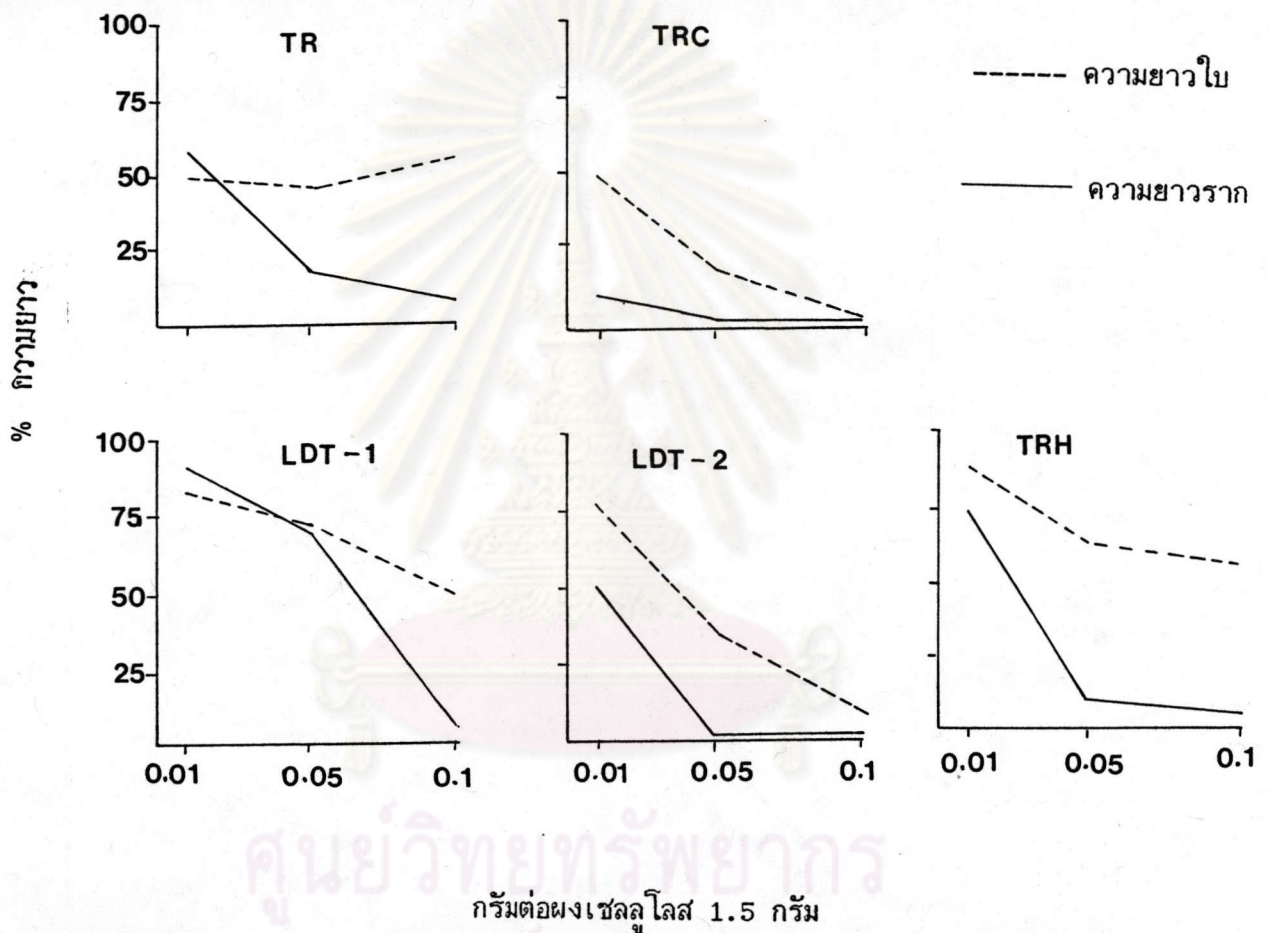
การทดสอบนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ของสิ่งสกัดส่วนรากแห้งด้วย คลอโรฟอร์ม น้ำ ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม ส่วนใบเป็นสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเมทานอล จากการทดสอบพบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวของสิ่งสกัดส่วนรากและใบด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ มีผลดังตารางที่ 31

ตารางที่ 31 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและใบของต้นข้าว

ส่วนของพืช	สิ่งสกัด	ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว (%)	
		ส่วนราก	ส่วนใบ
รากแห้ง	1. คลอโรฟอร์ม (TRC)	91.41-100.00	50.91-100.00
	2. น้ำ (TRH)	25.69-94.20	11.42-43.61
	3. ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม (TR)	41.35-91.88	30.94-54.91
ใบสด	1. เมทานอล (LDT-1)	7.02-93.14	16.26-47.70
	2. คลอโรฟอร์ม (LDT-2)	49.74-100.00	21.81-90.30

จากผลการทดสอบดังตารางที่ 31 พบว่าสิ่งสกัดส่วนรากแห้งด้วยคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลง ไปคือสิ่งสกัดส่วนใบสดด้วยคลอโรฟอร์ม ในขณะที่สิ่งสกัดส่วนใบด้วยเมทานอลมีผลต่อต้นข้าวน้อยที่สุด โดยในปริมาณ 0.01 กรัมต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม แทบจะ ไม่มีผลต่อต้นข้าวที่งอกเลย (ปริมาณสารที่ใช้ในการทดสอบคือ 0.01, 0.05

และ 0.1 กรัมต่อผงเซลลูโลส 1.5 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 11) ส่วนในสิ่งสกัดต่าง ๆ ที่เหลือมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวใกล้เคียงกัน ดังกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของรากและกาบใบข้าว (เป็น % เทียบกับความยาวของรากและกาบใบต้นข้าวที่งอกเมื่อไม่ได้รับสารเหล่านี้) กับปริมาณสิ่งสกัดที่ใช้ โดยเกณฑ์ตั้งเป็นความยาวของรากและใบ ส่วนเกณฑ์อื่นเป็นปริมาณสารที่ใช้



รูปที่ 82 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสิ่งสกัดกับความยาวของรากและกาบใบข้าว

3.1.2 การศึกษาความเป็นพิษกับปลา

การทดสอบความเป็นพิษกับปลานี้เป็นการศึกษาในส่วนรากแห้งถอบแถบน้ำด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ คือ คลอโรฟอร์ม น้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม ส่วนใบที่ใช้ทดสอบสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม และ น้ำ และส่วนลำต้นที่ใช้ทดสอบสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม น้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม ผลการทดสอบเมื่อ 24 ชม. หลังใส่สารลงไปเป็นดังนี้

ส่วนรากแห้งสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม อัตรา 0.01, 0.1 และ 0.3 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ (TRC) และส่วนรากสกัดด้วยน้ำ (TRH) และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม (TR) อัตรา 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ มีพิษทำให้ปลาตาย 100 %

ส่วนใบแห้งสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (TLC) อัตรา 0.01, 0.05 และ 0.1 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่มีพิษต่อปลาเลย และสิ่งสกัดด้วยน้ำ (TLH) อัตรา 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ทำให้ปลาตาย 5 %

ส่วนลำต้นแห้งสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (TSC) อัตรา 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ทำให้ปลาตาย 5, 50 และ 77 % ตามลำดับ สำหรับสิ่งสกัดด้วยน้ำ (TSH) อัตรา 0.01 และ 0.05 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่มีพิษต่อปลาเลย ส่วนอัตรา 0.1 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ทำให้ปลาตาย 4 % และสิ่งสกัดที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม (TS) อัตรา 0.01 และ 0.1 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลาเลย ในขณะที่อัตรา 1.0 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ มีพิษทำให้ปลาตาย 100 %

จากผลดังกล่าวแสดงว่าสิ่งสกัดของรากด้วย คลอโรฟอร์ม น้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำและคลอโรฟอร์ม [(TRC) , (TRH) และ (TR)] มีความเป็นพิษต่อปลามากที่สุด ส่วนสิ่งสกัดจากใบ [(TLC) และ (TLH)] และลำต้นถอบแถบน้ำ [(TSC), (TSH) และ (TS)] มีความเป็นพิษต่อปลาน้อยมากเมื่อเทียบกับสิ่งสกัดจากส่วนรากในอัตราเท่ากัน

3.1.3 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียเบื้องต้น เป็นการทดสอบของสิ่งสกัดจากรากสดด้วยเมทานอล (RDT-1) และคลอโรฟอร์ม (RDT-2) สิ่งสกัดจากรากแห้งด้วยน้ำ (TRH) สิ่งสกัดจากใบสดด้วยเมทานอล (LDT-1) และคลอโรฟอร์ม (LDT-2) จากผลการทดสอบพบว่าสิ่งสกัดจากรากสดและใบสดด้วยเมทานอล รวมทั้งสิ่งสกัดจากรากแห้งด้วยน้ำ [(RDT-1) , (LDT-1) และ (TRH)] ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย ในขณะที่สิ่งสกัดจากรากสดและใบสดด้วยคลอโรฟอร์ม [(RDT-2) และ (LDT-2)] มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา 2 ชนิด คือ Pythium ultimum และ Rhizoctonia solani

3.1.4 การศึกษาความเป็นพิษต่อแมลง

การทดสอบนี้เป็นการศึกษาทดสอบของสิ่งสกัดจากรากแห้งด้วยคลอโรฟอร์ม (TRC) และน้ำ (TRH) สิ่งสกัดจากใบสดด้วยเมทานอล (LDT-1) และคลอโรฟอร์ม (LDT-2) จากผลการทดสอบพบว่าสิ่งสกัดจากรากแห้งด้วยคลอโรฟอร์ม (TRC) แสดงความเป็นพิษต่อแมลงโดยทำให้หนอนใยผักตาย 100 % เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง ในอัตราความเข้มข้น 31.6 มก./ชม.³ (แต่ผู้ทำการทดสอบไม่แน่ใจว่าแมลงตายหมดเพราะความเหนียวของสารหรือความเป็นพิษของสาร) ในขณะที่สิ่งสกัดต่าง ๆ ที่เหลือ (TRH) , (LDT-1) และ (LDT-2) ทำให้หนอนใยผักตาย 0.8 % เท่านั้น

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมดที่กล่าวมาพบว่าสิ่งสกัดส่วนรากด้วยคลอโรฟอร์ม แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับที่น่าสนใจ ดังนั้นจึงทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสิ่งสกัดจากรากอบแถบน้ำด้วยคลอโรฟอร์ม

3.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จากสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของรากอบแถบน้ำ

3.2.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร ก

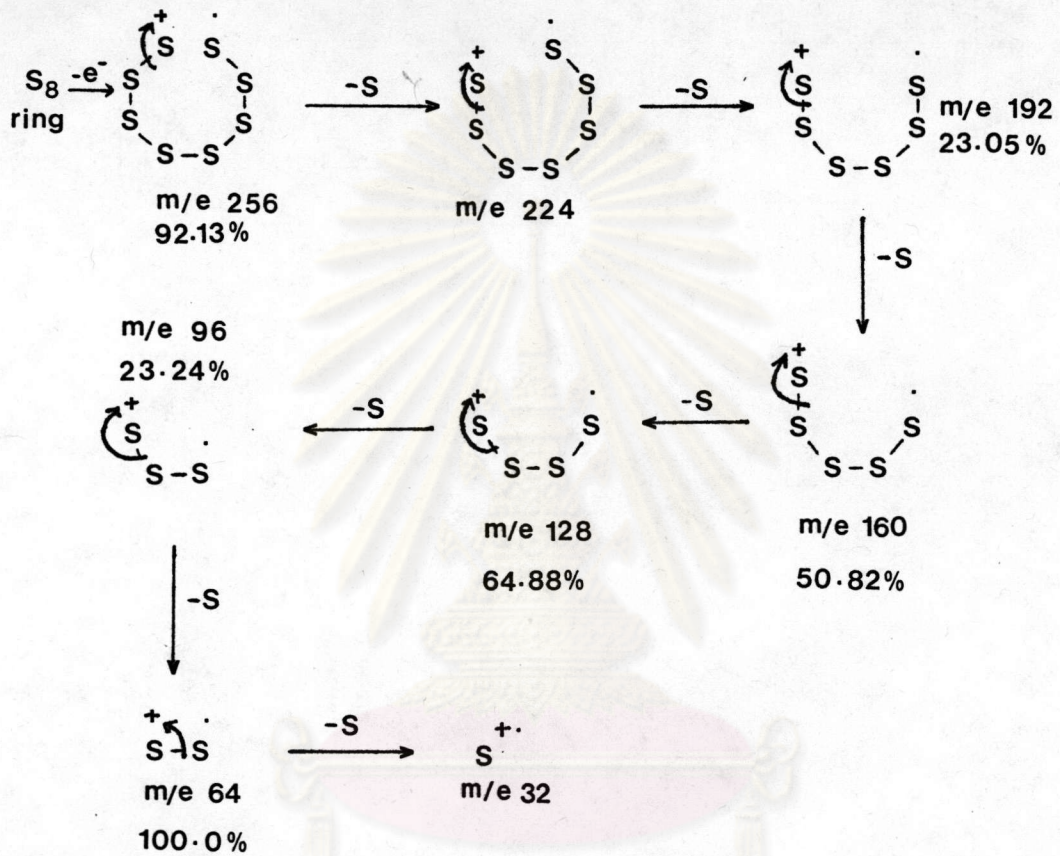
สาร ก เป็นผลึกปรอทอมบิกสีเหลือง จุดหลอมเหลว 114-6 องศาเซลเซียส ปริมาณ 2.6 กรัม (0.02 % ของน้ำหนักรากแห้ง) Rf 0.52 (เฮกเซน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำควิคคอลมันโครมาโทกราฟีชะด้วยเฮกเซน ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทนหลาย ๆ ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, Br₂ ใน CCl₄, 5% FeCl₃ และ 2,4-DNP แสดงว่า สาร ก ไม่ใช่สารประกอบสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์ เป็นสารอิมิตัว ไม่ใช่สารประเภทฟีนอล และไม่มีหมู่คาร์บอนิลอยู่ในโมเลกุล ตามลำดับ

จากข้อมูลทางอินฟราเรดสเปกตรัม แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 1380 ซม.⁻¹ (รูปที่ 12) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพันธะ S-S และไม่มีแถบการดูดกลืนที่ความถี่อื่นปรากฏแสดงถึง สาร ก ไม่มีอะตอมอื่นเป็นองค์ประกอบนอกจากอะตอมของซัลเฟอร์

สารประกอบที่อยู่ในสถานะของแข็งที่มีอะตอมซัลเฟอร์เพียงชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบ พบว่าจะอยู่ในรูปของสารประกอบ S_n ที่ต่อกันเป็นวง (ring) เมื่อ n คือจำนวนอะตอมของซัลเฟอร์ โดย n มีค่าเท่ากับ 6-12, 18 และ 20 (46) ดังนั้นจึงทำการยืนยันสูตรโครงสร้างโดยการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลจากข้อมูลทางแมสสเปกตรัม (รูปที่ 13) จากข้อมูลทางแมสสเปกตรัมพบไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) เท่ากับ 256 ซึ่งจากการคำนวณพบว่าตรงกับน้ำหนักโมเลกุลของ S₈ นอกจากนี้พบพีคที่แสดงการแตกตัวออกของอะตอมซัลเฟอร์ที่ m/e 64 (M⁺-192 = S₂) ซึ่งเป็นพีคที่มีความเข้มสูงสุด m/e 96 (S₃), 128 (S₄), 160 (S₅) และ

192 (S_6) ส่วนที่ m/e 224 (S_7) นี้มีความเข้มข้นมากแทบจะวัดไม่ได้ รูปแบบการแตกตัวของ สาร ก แสดงดังแผนภาพที่ 3 (47)

แผนภาพที่ 3 รูปแบบการแตกตัวของ สาร ก



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร ข

สาร ข เป็นของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 70-2 องศาเซลเซียส ปริมาณ 0.02 กรัม (1.54×10^{-4} % ของน้ำหนักแรกแห้ง) Rf 0.9 (ไดคลอโรมีเทน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (4:1) จากนั้นทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ข จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (4:1) ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเมทานอล-ไดคลอโรมีเทนหลาย ๆ ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีด้วยปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ให้สารละลายสีเขียว แสดงว่า สาร ข มีโครงสร้างเป็นสเตอรอยด์

อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่คาร์บอนิลของเอสเทอร์ที่มีความถี่ 1740 cm^{-1} และของโซ่ตรง (long chain) ที่ $730, 720 \text{ cm}^{-1}$ (รูปที่ 14) ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ข แสดงดังตารางที่ 32

ตารางที่ 32 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ข (48)

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
2920, 2850	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1740	สูง	C=O สั่นแบบยืดของเอสเทอร์
1470	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_3, CH_2
1180	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด
730, 720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโค้งของ $(-\text{CH}_2-)_n, n \geq 4$

จากข้อมูลดังกล่าวมาแล้ว สาร ข น่าเป็นสารประกอบเอสเทอร์ที่มีโครงสร้างส่วนหนึ่งเป็นสเตอรอยด์ จึงทำการยืนยันโครงสร้างโดยการไฮโดรไลส์ สาร ข ออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนแอลกอฮอล์และส่วนกรดด้วย 10% KOH ในเมทิลแอลกอฮอล์ ได้ส่วนของแอลกอฮอล์คือ

สาร 1ข

สาร 1ข เป็นผลึกอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 73-4 องศาเซลเซียส ให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard จากการทำทินเนอร์โครมาโทกราฟีเปรียบเทียบกับแอลกอฮอล์โซ่ตรงพบว่ามีค่า Rf เท่ากัน จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีของ สาร 1ข เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง สาร 1ข (รูปที่ 15) ให้ค่า retention time เท่ากับ 1.41, 2.08, 4.15, 5.19, 11.26 และ 13.56 นาที จากการเปรียบเทียบ

มาตรฐาน (รูปที่ 16) พบว่า สาร 1x เป็นของผสมของแอลกอฮอล์ไฮโดรเจนที่มีสูตรโมเลกุลดังนี้

$C_{16}H_{35}O$	hexadecanol	มีปริมาณ	0.75 %
$C_{18}H_{39}O$	octadecanol	มีปริมาณ	3.89 %
$C_{22}H_{47}O$	docosanol	มีปริมาณ	0.90 %
$C_{23}H_{49}O$	tricosanol	มีปริมาณ	20.84 %
$C_{27}H_{57}O$	heptacosanol	มีปริมาณ	4.19 %
$C_{28}H_{59}O$	octacosanol	มีปริมาณ	43.06 %

เนื่องจากการไฮโดรไลส์ สาร 1x ออกเป็น 2 ส่วนพบว่าส่วนแอลกอฮอล์คือ สาร 1x ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ไฮโดรเจน แต่ สาร 1x ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่ามีโครงสร้างเป็นแบบสเตอรอยด์ จึงแสดงว่าส่วนกรดที่ได้จากการไฮโดรไลส์น่าจะมีโครงสร้างแบบสเตอรอยด์แต่ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างในส่วนกรดได้เพราะสารที่ได้จากการไฮโดรไลส์มีปริมาณน้อยมาก

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด สรุปได้ว่า สาร 1x เป็นสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์ไฮโดรเจนกับสเตอรอยด์ที่มีหมู่คาร์บอกซิล แต่ไม่สามารถระบุได้ว่า สาร 1x มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

3.2.3 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร ค

สาร ค เป็นของแข็งอัลฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 65-6 องศาเซลเซียส ปริมาณ 0.2 กรัม (1.54×10^{-3} % ของน้ำหนักรากแห้ง) Rf 0.20 (โตคอลโรมีเทน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม โดยทำควิคคอลมันโครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน:โตคอลโรมีเทน (4:1) และ (2:3) จากนั้นทำคอลมันโครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ค จากส่วนที่ชะด้วยโตคอลโรมีเทน และโตคอลโรมีเทน:เมทานอล (49:1) ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเมทานอล-โตคอลโรมีเทนหลาย ๆ ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, 5% $FeCl_3$, 2,4-DNP และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ค ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์ ไม่ใช่สารประเภทเอนอล ไม่มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล และเป็นสารอิ่มตัว ตามลำดับ

อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่คาร์บอกซิล ที่ 3300-2500 และ 1700 cm^{-1} และของไฮโดรเจน (long chain) ที่ 730, 720 cm^{-1}

(รูปที่ 17) ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ค แสดงดังตารางที่ 33

ตารางที่ 33 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ค

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3300-2500	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของหมู่คาร์บอกซิล
2920, 2850	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
1700	สูง	C=O สั่นแบบยืดของหมู่คาร์บอกซิล
1470, 1465	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1410	ปานกลาง	C-O-H สั่นแบบงอในระนาบ
1300	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด
940	ต่ำ	O-H สั่นแบบงอนอกระนาบ
730, 720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโค้งของ (-CH ₂ -) _n , n>4

จากข้อมูลดังกล่าวมาแล้ว สาร ค น่าจะเป็นสารประเภทกรดไขมันตรง จึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ค โดยการทำให้สโครมาโทกราฟีเปรียบเทียบ เนื่องจากสารประเภทกรดไขมันตรงไม่สามารถทำการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีได้โดยตรงจึงทำ methylation สาร ค ด้วย diazomethane ให้อยู่ในรูปของ methyl ester (สาร 1ค) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีของ สาร 1ค (รูปที่ 18) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน methyl ester ของกรดไขมันตรง สาร 1ค ให้อัตรา retention time เท่ากับ 1.92, 2.43, 2.96, 3.75, 4.69, 6.08, 7.78, 10.23 และ 13.26 นาที จากกราฟการเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 19) พบว่า สาร ค เป็นของผสมของกรดไขมันตรงที่มีสูตรโมเลกุลดังนี้

C ₂₀ H ₄₀ O ₂	eicosanoic acid	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	pentacosanoic acid
C ₂₁ H ₄₂ O ₂	heneicosanoic acid	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	hexacosanoic acid
C ₂₂ H ₄₄ O ₂	docosanoic acid	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	heptacosanoic acid
C ₂₃ H ₄₆ O ₂	tricosanoic acid	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	octacosanoic acid
C ₂₄ H ₄₈ O ₂	tetracosanoic acid		

3.2.4 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร ง

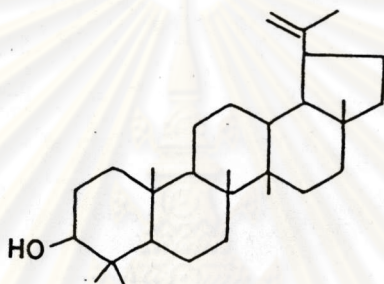
สาร ง ปริมาณ 1.16 กรัม (8.92×10^{-3} % ของน้ำหนักแรกแห้ง) ได้จากการแยกสิ่งสกปรกด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำควิคคอลลันโครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) จากนั้นทำคอลลันโครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ง จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (7:3) และ (1:1) ตามลำดับ เมื่อนำมาตกผลึกด้วยเมทานอล-ไดคลอโรมีเทนได้ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 207-12 องศาเซลเซียสซึ่งยังไม่บริสุทธิ์ จึงเตรียมเป็นอนุพันธ์แอสีเตต (สาร 1ง) ซึ่งตกผลึกได้ง่ายด้วยเมทานอล-ไดคลอโรมีเทนได้ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 216-7 องศาเซลเซียส Rf 0.74 (ไดคลอโรมีเทน) จากนั้นไฮโดรไลส์ สาร 1ง ด้วย 10% KOH ในเมทิลแอลกอฮอล์จะได้ สาร 2ง ซึ่งมีโครงสร้างเหมือน สาร ง สาร 2ง เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 212-4 องศาเซลเซียส Rf 0.4 (ไดคลอโรมีเทน) ตกผลึกด้วยเมทานอล-ไดคลอโรมีเทน 2 ครั้ง สาร 2ง ให้สารละลายสีม่วงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และสามารถฟอกจางสีสารละลาย Br_2 ใน CCl_4 ได้ แสดงว่า สาร 2ง เป็นสารประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ที่ไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ -OH ที่ 3600-3100 (OH) และ 1040, 1010 ($\text{C}-\text{O}$) cm^{-1} และหมู่ vinylidene ($\text{CH}_2=\text{C}-$) ที่ 3080 ($\text{C}=\text{H}$), 1640 ($\text{C}=\text{C}$) และ 880 ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$) cm^{-1} นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะของหมู่ gem-dimethyl ที่ 1380 และ 1180 cm^{-1} (รูปที่ 22) แสดงดังตารางที่ 34

ตารางที่ 34 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 2ง

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3100	สูง	O-H สั่นแบบยืด
3080	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดแบบไม่สมมาตรของ $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{CH}_2$
2940, 2860	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1640	ปานกลาง	C=C สั่นแบบยืดของ C=C nonconjugate
1480, 1430	สูง	C-H สั่นแบบงอของ CH_3, CH_2
1380	สูง	C-H สั่นแบบงอของ gem-dimethyl
1180	ปานกลาง	skeleton vibration ของ $(\text{CH}_3)_2-\text{C}$ โดยอะตอม C ที่เป็นจุดศูนย์กลางไม่มี H ต่อ
1040, 1010	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดของ OH ที่ต่อกับวง (ring)
880	สูง	C-H สั่นแบบงอนอกกระนาบของ $=\text{CH}_2$

จากข้อมูลดังกล่าวมาแล้วพบว่า จุดหลอมเหลวและลักษณะของสาร 1ง และ สาร 2ง ใกล้เคียงกับ lupeyl acetate และ lupeol ซึ่งมีจุดหลอมเหลว 216-217.5 องศาเซลเซียส และ 212-213.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (45) และ lupeol เป็นสารประเภทไตรเทอร์ปีนอยด์ที่มีหมู่ OH และมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุล โดยลักษณะอินฟราเรดสเปกตรัมมีลักษณะเช่นเดียวกับ สาร 2ง ดังนั้นจึงทำการยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร 1ง ด้วยการทำแก๊สโครมาโทกราฟี เปรียบเทียบ สาร 1ง กับ lupeyl acetate (รูปที่ 21) และ สาร 2ง กับ lupeol (รูปที่ 23) จากการวิเคราะห์พบว่าค่า retention time ของ สาร 1ง เท่ากับ 33.27 นาที และ สาร 2ง เท่ากับ 26.32 นาที ซึ่งสอดคล้องกับ lupeyl acetate และ lupeol ตามลำดับ จากหลักฐานทั้งหมดที่กล่าวมาจึงสรุปได้ว่า สาร 1ง คือ lupeol มีสูตรโครงสร้างดังนี้



3.2.5 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร จ

สาร จ เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 147-9 องศาเซลเซียส ปริมาณ 2.8 กรัม (0.022 % ของน้ำหนักแรกแห้ง) Rf 0.25 (ไดคลอโรมีเทน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) และ ไดคลอโรมีเทน จากนั้นทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร จ จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (7:3), (1:1) และ (2:3) ตามลำดับ ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซนหลาย ๆ ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีด้วยปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ให้สารละลายสีเขียวแสดงว่า สาร จ เป็นสารประเภทสเตอรอยด์ และสามารถฟอกจางสี Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร จ เป็นสารไม่อิ่มตัว

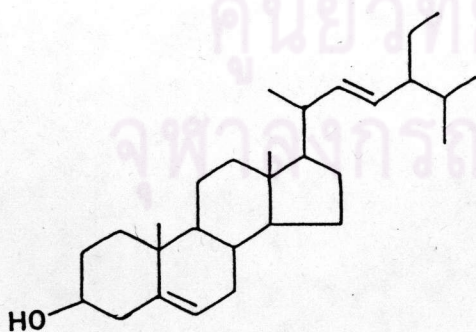
อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ OH ที่ 3600-3200 (O-H) และ 1060-1040 (C-O) ซม.⁻¹ และของ disubstituted vinyl ที่ 970, 960 ซม.⁻¹ และ trisubstituted vinyl ที่ 840, 800 ซม.⁻¹ (รูปที่ 24) แสดงดังตารางที่ 35

ตารางที่ 35 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร จ

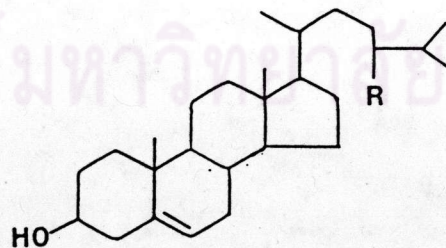
แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3200	ปานกลาง	O-H สัมเบบยืดของ R-OH
2940, 2860	สูง	C-H สัมเบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
1640	ต่ำ	C=C สัมเบบยืดของแอลคีน
1465	ปานกลาง	C-H สัมเบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1380, 1370	ปานกลาง	C-H สัมเบบงออย่างมีสมมาตรของ CH ₃
1060-1040	ปานกลาง	C-O สัมเบบยืดและ O-H สัมเบบงอ
970, 960	ต่ำ	C-H สัมเบบงอนอกระนาบของ R ₁ CH=CHR ₂
840, 800	ต่ำ	C-H สัมเบบงอแบบนอกระนาบของ R ₁ R ₂ C=CHR ₃

จากข้อมูลทางอินฟราเรดสเปกตรัมมีลักษณะใกล้เคียงกับสารประเภทสเตอรอยด์มาก คือ stigmasterol และ β -sitosterol จึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร จ ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของสเตอรอยด์ (รูปที่ 25) พบว่า สาร จ ให้ค่า retention time เท่ากับ 20.09, 21.09 และ 24.06 นาที ซึ่งตรงกับ retention time ของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol ตามลำดับ

จากหลักฐานทั้งหมดที่กล่าวมา สรุปได้ว่า สาร จ เป็นของผสมของ campesterol 2.13 % , stigmasterol 70.94 % และ β -sitosterol 26.93 %

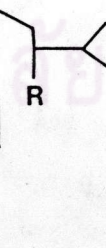


stigmasterol



campesterol

(III.)



β -sitosterol

(I.)

I. R=Et

III. R=Me

3.2.6 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ฉ

สาร ฉ เป็นของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 73-4 องศาเซลเซียส ปริมาณ 0.03 กรัม (2.3×10^{-4} % ของน้ำหนักรากแห้ง) Rf 0.28 (ไดคลอโรมีเทน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) จากนั้นทำคอลลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ฉ จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (1:1) ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล 2 ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, 2,4-DNP, Br_2 ใน CCl_4 และ 5% FeCl_3 แสดงว่า สาร ฉ ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์ ไม่มีหมู่คาร์บอนิล เป็นสารอิ่มตัว และไม่ใช่สารประเภทฟีนอลตามลำดับ อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ OH ที่ 3600-3100 (O-H) และ 1060 (C-O) cm^{-1} และโซ่ตรง (long chain) ที่ 730, 720 cm^{-1} (รูปที่ 26) ดังแสดงในตารางที่ 36

ตารางที่ 36 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ฉ

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3100	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2920, 2850	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3 , CH_2
1470	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_3 , CH_2
1060	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดและ O-H สั่นแบบงอ
730, 720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโค้งของ $(\text{CH}_2)_n, n > 4$

จากข้อมูลทั้งหมดดังกล่าว แสดงว่า สาร ฉ น่าจะเป็นสารประกอบแอลกอฮอล์โซ่ตรง จึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ฉ ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของแอลกอฮอล์โซ่ตรง (รูปที่ 27) พบว่า สาร ฉ ให้ค่า retention time เท่ากับ 3.81, 4.85, 6.16, 7.95, 10.20 และ 12.91 นาที จากกราฟการเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 28) พบว่า สาร ฉ เป็นของผสมของแอลกอฮอล์โซ่ตรง ซึ่งมีสูตรโมเลกุลดังนี้

สูตรโมเลกุลของแอลกอฮอล์ใช้ตรงมีดังนี้

$C_{21}H_{45}O$	heneicosanol	มีปริมาณ	2.09 %
$C_{22}H_{47}O$	docosanol	มีปริมาณ	1.91 %
$C_{23}H_{49}O$	tricosanol	มีปริมาณ	43.71 %
$C_{24}H_{51}O$	tetracosanol	มีปริมาณ	9.05 %
$C_{25}H_{53}O$	pentacosanol	มีปริมาณ	14.08 %
$C_{26}H_{55}O$	hexacosanol	มีปริมาณ	29.16 %

3.2.7 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ซ

สาร ซ เป็นผลึกรูปแท่งสีขาว จุดหลอมเหลว 163-5 องศาเซลเซียส ปริมาณ 0.18 กรัม (1.38×10^{-3} % ของน้ำหนักแห้ง) Rf 0.8 (2% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) จากนั้นทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ซ จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) และ (3:7) ทำให้บริสุทธิ์โดยการทำให้ HPLC (คอลัมน์ Si 83-121 C, ตัวทำละลายที่ใช้พาสารคือ 40 % เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน, อัตราการไหลของตัวทำละลาย 6 ซม.³ / นาที, ความดัน 6 บาร์ โครมาโทแกรมดังรูปที่ 29) แล้วตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล 2 ครั้ง จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และ 5% FeCl₃ แสดงว่า สาร ซ ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์ หรือไตรเทอร์พีนอยด์ และไม่ใช่สารประเภทฟีนอลตามลำดับแต่เมื่อทดสอบกับ Br₂ ใน CCl₄ สามารถฟอกจางสีได้ และเมื่อทดสอบกับ 2,4-DNP ได้ตะกอนสีเหลือง แสดงว่า สาร ซ เป็นสารประเภทไม่อิ่มตัวและมีหมู่คาร์บอนิลอยู่ในโมเลกุลตามลำดับ

อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่คาร์บอนิลที่ต่อกับพันธะคู่ที่ความถี่ 1670 และ 1180 (C=O) ซม.⁻¹ และของแอมไรม์ที่ 1610 และ 1520 ซม.⁻¹ ของอีเทอร์ที่ 1240, 1070, 1050 และ 1010 ซม.⁻¹ (รูปที่ 30) ดังแสดงในตารางที่ 37

ตารางที่ 37 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ช

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3080, 3005	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของแอลคีนและแอโรแมติก
2920	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
2850	ต่ำ	O-CH ₃ สั่นแบบยืดสมมาตรเมื่อเทียบกับแอโรแมติก
1670	สูง	C=O สั่นแบบยืดเมื่อเทียบกับพันธะคู่
1610, 1520	สูง	C=C สั่นแบบยืดของแอลคีนและแอโรแมติก
1460, 1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1410, 1310	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอในระนาบของ R-CH=CH ₂
1220, 1090	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอในระนาบของแอโรแมติก
1240	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1070, 1050, 1010	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
910	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ R-CH=CH ₂
870	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรแมติกที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง 1, 2, 4 และ 5
800	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรแมติกที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง 1, 2, 3 และ 4

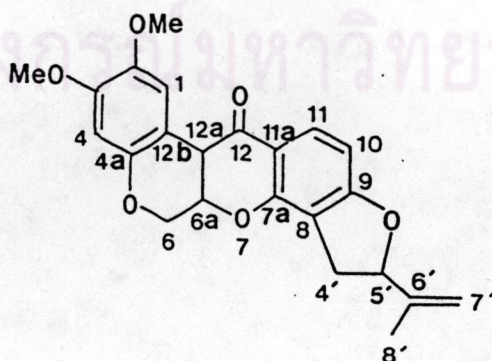
โปรตอนเอนเอมอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 31) ปรากฏสัญญาณของ 22 โปรตอนของหมู่เมทิล 1 หมู่ หมู่เมทอกซี 2 หมู่ โปรตอนของแอลคีนและแอโรแมติก 6 โปรตอน โดยสัญญาณที่ δ 1.74 ppm (s, 3H) เป็นสัญญาณของหมู่เมทิลที่ติดกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ซึ่งอาจเป็นแอลคีนหรือแอโรแมติก ส่วนสัญญาณเมทอกซีปรากฏที่ δ 3.77 (s, 3H) และ 3.75 ppm (s, 3H) ซึ่งแสดงถึงการติดกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ ส่วนโปรตอนของแอลคีน 2 โปรตอนให้สัญญาณที่ δ 5.04 (s, 1H) และ 4.91 ppm (s, 1H) ส่วน 4 โปรตอนของแอโรแมติกให้สัญญาณที่ δ 6.76 (s, 1H), 7.81 (d, 1H), 6.47 (d, 1H) และ 6.42 ppm (s, 1H) และโปรตอนที่เหลืออีก 7 โปรตอนให้สัญญาณที่ δ 5.20 (t, 1H) ติดกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ 4.91 (s, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.30 (q, 1H), 2.90 (q, 1H), 4.58 (q, 1H) และ 4.13 ppm (d, 1H)

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 32) ปรากฏสัญญาณของ 23 คาร์บอน จากผลการทำออฟพีซีแชนซ์พบว่า มี quaternary คาร์บอน 10 อะตอม ปรากฏสัญญาณ singlet ที่ δ 188.85 (C=O), 167.34, 157.91, 149.52, 147.46, 143.88, 143.07, 113.33, 112.95 และ 104.82 ppm มี methinic คาร์บอน 7 อะตอม ปรากฏสัญญาณ doublet ที่ δ 129.91, 110.57, 104.93, 100.98, 87.81, 72.26 และ 44.58 ppm มีเมทิลคาร์บอน 1 อะตอม ปรากฏสัญญาณ quartet ที่ δ 17.11 ppm ส่วนเมทอกซีคาร์บอนมี 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณ quartet ที่ δ 56.34 และ 55.79 ppm และมีสัญญาณ triplet เกิด 3 สัญญาณ ที่ δ 112.46, 66.25 และ 31.25 ppm แสดงถึงการมี methylene คาร์บอน

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 33) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) ที่ m/e 394 จากการคำนวณได้ $C_{23}H_{22}O_6$ ซึ่งจำนวนของโปรตอนและคาร์บอนสอดคล้องกับที่ได้จากข้อมูลของโปรตอนเอนเอมอาร์สเปกตรัม และ คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปกตรัม คือ 22 โปรตอน และ 23 คาร์บอน ตามลำดับ จากสูตรโมเลกุล $C_{23}H_{22}O_6$ คำนวณได้จำนวนความไม่อิ่มตัว (วงแหวน + พันธะคู่) เท่ากับ 13

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด สาร ซ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทเฟลโวนอยด์ จึงทำการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพกับสารประเภทเฟลโวนอยด์ที่พบในพืชสกุล derris พบว่าลักษณะพลิกและจุดหลอมเหลวของ สาร ซ ใกล้เคียงกับ rotenone ($C_{23}H_{22}O_6$) มาก จึงทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกตรัมของ สาร ซ กับ rotenone เพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร ซ ดังแสดงในตารางที่ 38 และ 39

สูตรโครงสร้างของ rotenone เป็นดังนี้



ตารางที่ 38 โปรตอนเอนเอมอาร์สเปกตรัมของ สาร ๗ เทียบกับ rotenone (49)

ตำแหน่งโปรตอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	rotenone	สาร ๗
11	7.84 (d, 1H)	7.81 (d, 1H)
1	6.77 (s, 1H)	6.76 (s, 1H)
10	6.50 (d, 1H)	6.47 (d, 1H)
4	6.45 (s, 1H)	6.42 (s, 1H)
5	5.22 (t, 1H)	5.20 (t, 1H)
7	5.06 (s, 1H)	5.04 (s, 1H)
	4.90 (s, 1H)	4.91 (s, 1H)
6a	4.90 (s, 1H)	4.91 (s, 1H)
6	4.59 (q, 1H)	4.58 (q, 1H)
	4.15 (d, 1H)	4.13 (d, 1H)
12a	3.80 (s, 1H)	3.88 (s, 1H)
OCH ₃	3.79 (s, 3H)	3.77 (s, 3H)
OCH ₃	3.75 (s, 3H)	3.75 (s, 3H)
4	3.32 (q, 1H)	3.30 (q, 1H)
	2.93 (q, 1H)	2.90 (q, 1H)
8	1.77 (s, 3H)	1.74 (s, 3H)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

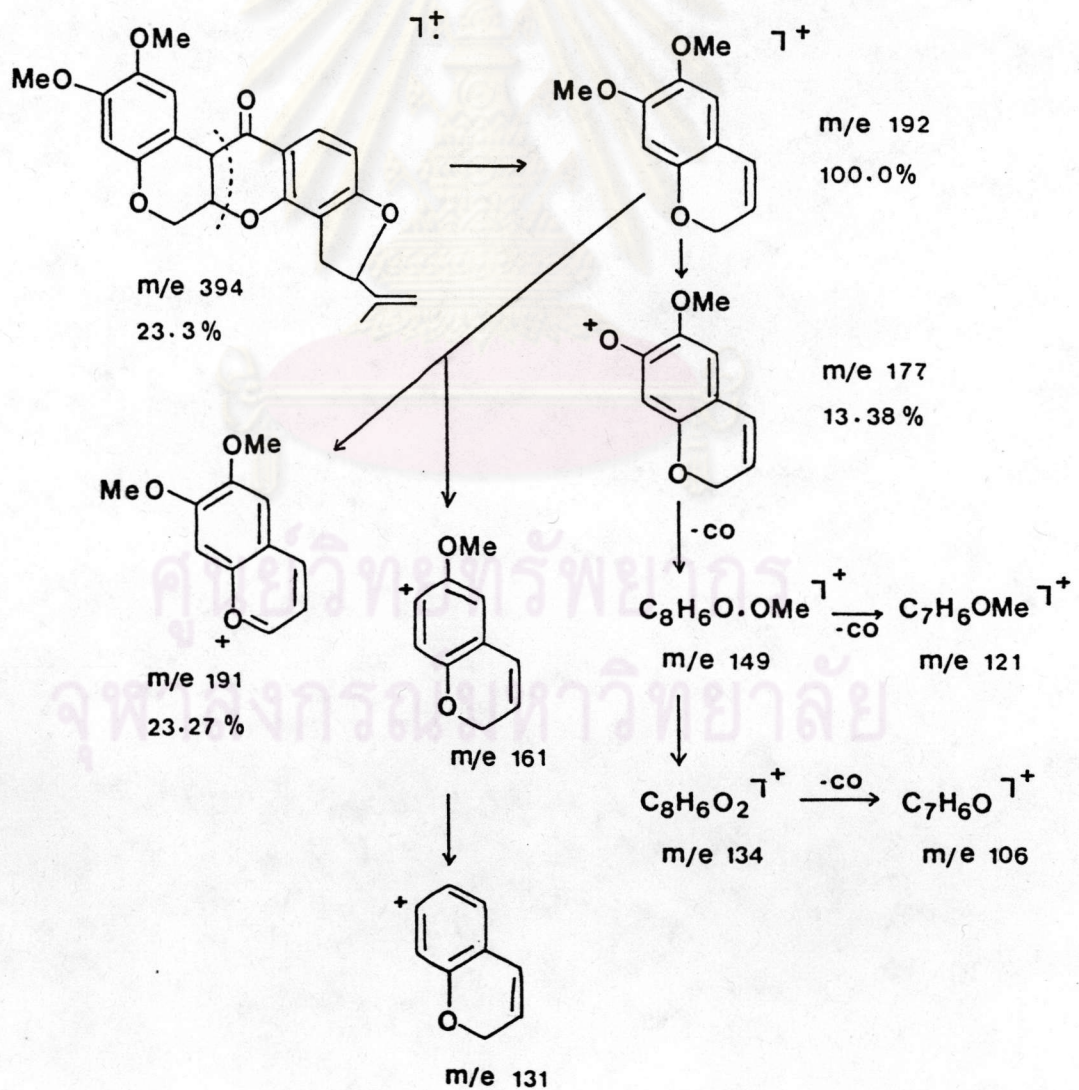
ตารางที่ 39 คาร์บอน-13 เอเนมอาร์สเปกตรัมของ สาร ๕ เทียบกับ rotenone

ตำแหน่งคาร์บอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)		
	rotenone		สาร ๕
	(50)	(51)	
12	188.9 (s)	188.9 (s)	188.85 (s)
9	167.4 (s)	167.3 (s)	167.34 (s)
7a	156.1 (s)	157.9 (s)	157.91 (s)
3	149.5 (s)	149.4 (s)	149.52 (s)
4a	147.4 (s)	147.3 (s)	147.46 (s)
2	143.9 (s)	143.8 (s)	143.88 (s)
6	143.0 (s)	143.0 (s)	143.07 (s)
11	130.0 (d)	129.9 (d)	129.91 (d)
11a	114.7 (s)	113.3 (s)	113.33 (s)
8	113.0 (s)	112.9 (s)	112.95 (s)
7	112.6 (t)	112.5 (t)	112.46 (t)
1	110.4 (d)	110.4 (d)	110.57 (d)
10	104.7 (d)	104.8 (d)	104.93 (d)
12b	104.7 (s)	104.8 (s)	104.82 (s)
4	100.9 (d)	100.8 (d)	100.98 (d)
5	87.8 (d)	87.8 (d)	87.81 (d)
6a	72.2 (d)	72.1 (d)	72.26 (d)
6	66.3 (t)	66.2 (t)	66.25 (t)
OCH ₃	56.3 (q)	56.2 (q)	56.34 (q)
OCH ₃	55.8 (q)	55.8 (q)	55.79 (q)
12a	44.6 (d)	44.5 (d)	44.58 (d)
4	31.3 (t)	31.2 (t)	31.25 (t)
8	17.2 (q)	17.1 (q)	17.11 (q)

จากตารางที่ 38 และ 39 แสดงให้เห็นว่าโปรตอนเอนเอมอาร์และคาร์บอน-13 เอนเอมอาร์ของ สาร ช กับ rotenone มีค่าใกล้เคียงกันมาก

สำหรับข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของ rotenone ได้มีการศึกษาโดย R. I. Reed และ J. M. Wilson (52) พบว่าสารประกอบประเภทโรติโนอยด์ที่มีหมู่เมทอกซีที่ตำแหน่ง 2 และ 3 จะมีการแตกตัวของ 2 ฝั่งชนพร้อมกัน คือฝั่งหนึ่งที่แอลฟาของคาร์บอนิลและเบ็นซิลิก และอีกฝั่งหนึ่งที่แอลฟาของอีเทอร์ออกซิเจนอะตอม ซึ่งจะก่อให้เกิดพันธะคู่ขึ้นในตำแหน่งเชื่อมต่อกับวงเบ็นซีน (conjugate) ได้พีคที่ m/e 192 เป็นพีคที่มีความเข้มสูงสุด นอกจากนี้ยังเกิดพีคที่ m/e 191, 177, 161, 149, 134, 121 และ 106 ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ สารประเภทนี้ จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมของ สาร ช พบว่าเหมือนกัน ซึ่งอาจแสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ช ได้ในแผนภาพที่ 4

แผนภาพที่ 4 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ช



จากการเปรียบเทียบจุดหลอมเหลว โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ คาร์บอน-13เอ็นเอ็มอาร์ และแมสสเปกตรัมของ สาร ซ กับ rotenone พบว่าเหมือนกัน ดังนั้น สาร ซ คือ rotenone ซึ่งเป็นสารที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนว่าพบในพืชชนิดนี้

3.2.8 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ซ

สาร ซ เป็นผลึกรูปเข็มสีเหลือง จุดหลอมเหลว 213 องศาเซลเซียส (จุดสลายตัว) ปริมาณ 0.03 กรัม (2.31×10^{-4} % ของน้ำหนักรากแห้ง) R_f 0.56 (ไดคลอโรมีเทน) ได้จากการแยกสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) จากนั้นทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจะได้ สาร ซ จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) ทำให้บริสุทธิ์โดยการทำให้ HPLC (คอลัมน์ Si 83-121 C, ตัวทำละลายที่ใช้สารคือ 25 % เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน, อัตราการไหลของตัวทำละลาย 9 ซม.³ / นาที, ความดัน 10 บาร์ โครมาโทแกรมดังรูปที่ 34) แล้วตกผลึกด้วย ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่า สาร ซ ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์ปีนอยด์

อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ OH ที่ความถี่ 3600-3300 และ 1300 ซม.⁻¹ หมู่คาร์บอนิลที่ต่อกับพันธะคู่ที่ความถี่ 1670 (C=O) ซม.⁻¹ และของเอโรแมติกที่ 1620, 1590 และ 1520 ซม.⁻¹ ของอีเทอร์ที่ 1205 และ 1050 ซม.⁻¹ (รูปที่ 35) ดังแสดงในตารางที่ 40

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 40 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๗

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3300	สูง	O-H สั่นแบบยืด
3120, 3010	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของแอลคีนและแอโรเมติก
2950, 2870	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
2850	ต่ำ	O-CH ₃ สั่นแบบยืดสมมาตรเมื่อเทียบกับแอโรเมติก
1670	สูง	C=O สั่นแบบยืดเมื่อเทียบกับพันธะคู่
1620, 1590, 1520	สูง	C=C สั่นแบบยืดของแอลคีนและแอโรเมติก
1460, 1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1410	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอในระนาบของ R-CH=CH-R
1205	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1050	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
800	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ R-CH=CH-R

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 38) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุลที่ m/e 408 จากแมสสเปกโตรมิเตอร์แบบ high resolution ได้สูตรโมเลกุลเป็น C₂₃H₂₀O₇ ซึ่งคำนวณได้จำนวนความไม่อิ่มตัว (วงแหวน + พันธะคู่) เท่ากับ 14

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 36) ปรากฏสัญญาณของ 20 โปรตอนของหมู่เมทิล 2 หมู่ หมู่เมทอกซี 2 หมู่ โปรตอนของแอลคีน 2 โปรตอน และของแอโรเมติก 3 โปรตอน โดยสัญญาณที่ δ 1.46 ppm (s, 6H) เป็นสัญญาณของหมู่เมทิลที่ติดกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ ส่วนสัญญาณเมทอกซีปรากฏที่ δ 3.95 (s, 3H) และ 3.88 ppm (s, 3H) ซึ่งแสดงถึงการติดกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ ส่วนโปรตอนของแอลคีน 2 โปรตอนให้สัญญาณที่ δ 6.61 (d, 1H, J=10 Hz) และ 5.58 ppm (d, 1H, J=10 Hz) ซึ่งแสดงว่าเป็นโปรตอนของแอลคีนที่เป็น cis เนื่องจากค่า J=10 Hz ส่วน 3 โปรตอนของแอโรเมติกให้สัญญาณที่ δ 8.24 (s, 1H), 6.52 (d, 1H) และ 6.26 ppm (s, 1H) ซึ่งแสดงถึงโปรตอนทั้ง 3 ไม่ได้อยู่ในตำแหน่งออร์โทหรือเมตากันยืนยันได้จากสัญญาณที่เกิดเป็น singlet ทั้งหมด นอกจากนี้โปรตอนของหมู่ methylene ให้สัญญาณที่ δ 4.97 ppm (s, 2H) และโปรตอนของหมู่ -OH ให้สัญญาณที่ δ 12.98 ppm (s, 1H) จากค่าที่สูงมากแสดงถึงการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของหมู่ -OH กับ หมู่ C=O

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 37) ปรากฏสัญญาณ 22 สัญญาณ ของ 23 คาร์บอน จากผลการทำ deft พบว่ามี quaternary คาร์บอน 13 อะตอม ปรากฏ สัญญาณที่ δ 179.27 (C=O), 162.32, 159.31, 156.84, 150.82, 149.20, 146.25, 144.13, 110.78, 109.66, 105.96, 101.07 และ 78.11 ppm มี methynic คาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 127.73, 114.36, 109.88, 100.63 และ 100.52 ppm มี เมทิลคาร์บอน 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 28.20 ppm ส่วนเมทอกซีคาร์บอนมี 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 56.38 และ 55.92 ppm และมีสัญญาณที่ δ 64.76 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของ methylene คาร์บอน

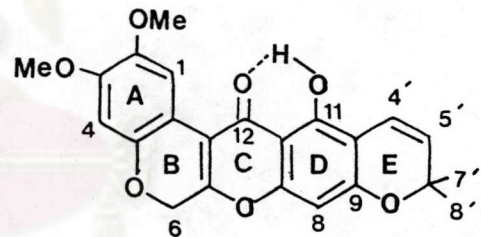
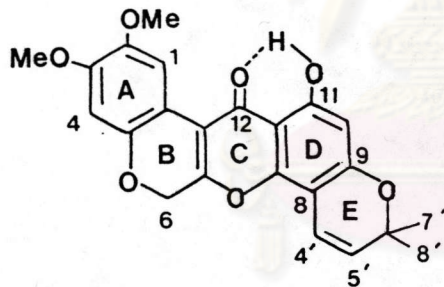
จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด สาร ซึ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทเฟลโวนอยด์ที่มี สูตรโมเลกุล $C_{23}H_{20}O_7$ โดยประกอบด้วยหมู่ -OH 1 หมู่ พันธะคู่ 1 พันธะที่เป็น cis หมู่ เมทิล 2 หมู่ (gem-dimethyl) หมู่เมทอกซี 2 หมู่ แอโรแมติกโปรตอน 3 โปรตอน และหมู่ methylene 1 หมู่ ซึ่งสามารถเขียนสูตรโครงสร้างได้ 2 แบบดังนี้คือ

1. 6a,12a-dehydro- α -toxicarol

2. 6a,12a-dehydro- β -toxicarol

6a,12a-dehydro- α -toxicarol

6a,12a-dehydro- β -toxicarol



จากการค้นข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงพบว่า 6a,12a-dehydro- α -toxicarol มี รายงานกล่าวถึง 4 ฉบับ ดังนี้คือ

1. ค.ศ. 1976 Reisch และคณะ (53) พบสารประกอบโรตินอยด์ตัวใหม่จากผล Amorpha fruticosa ซึ่งเป็นพืชเมืองหนาวประเภทไม้ประดับ คือ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol

2. ค.ศ. 1978 Gombos, Nadassy และคณะ (54) สกัดสาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ได้จากผลของ Amorpha fruticosa และพบว่าสารนี้มีสมบัติเป็นยาฆ่าแมลง

3. ค.ศ. 1978 Gombos, Gasko และคณะ (55) สกัดสาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ได้จากผลของ Amorpha fruticosa และพบว่าสารนี้ทำให้เกิดการตายของ แมลงบางชนิด 100 % หลังจากได้รับสารนี้ 24 ชม.

4. ค.ศ. 1980 Ognyanov และ Somleva (56) สกัดสาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ได้จากผลของ Amorpha fruticosa

ส่วน 6a,12a-dehydro- β -toxicarol ยังไม่มีรายงานมาก่อน

ความแตกต่างของ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol กับ 6a,12a-dehydro- β -toxicarol อยู่ที่การต่อของวง (ring) D กับ วง E ซึ่งจะเป็นแบบ angular ในสารตัวแรก และเป็น linear ในสารตัวที่สอง พบว่าสามารถดูความแตกต่างของการต่อทั้ง 2 แบบได้จากค่าของโปรตอนของแอลคีนในตำแหน่ง 4' และ 5' โดยสัญญาณของโปรตอนทั้งสองจะเกิดที่ δ 6.56 และ 5.48 ppm ตามลำดับ ในการต่อแบบ angular และจะเกิดที่ δ 7.03 และ 5.45 ppm ตามลำดับในการต่อแบบ linear (57) ซึ่งสัญญาณที่เกิดใน สาร ซ มีค่า δ 6.61 และ 5.58 ppm ตามลำดับ จากค่าที่ได้พบว่าใกล้เคียงกับสาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol มากกว่าจึงทำการเปรียบเทียบโปรตอนเอนเออมาร์ของ สาร ซ กับ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ดังแสดงในตารางที่ 41

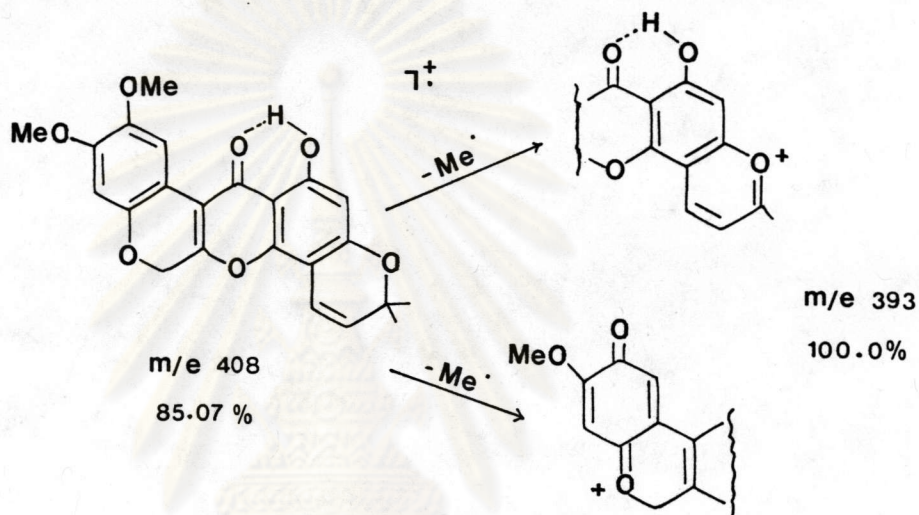
ตารางที่ 41 โปรตอนเอนเออมาร์สเปกตรัมของ สาร ซ เทียบกับ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol (53)

ตำแหน่งโปรตอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	6a,12a-dehydro- α -toxicarol	สาร <u>ซ</u>
11-OH	13.00 (s, 1H)	12.98 (s, 1H)
1	8.25 (s, 1H)	8.24 (s, 1H)
4	6.60 (d, 1H, J=10)	6.61 (d, 1H, J=10)
10	6.55 (s, 1H)	6.52 (s, 1H)
4	6.25 (s, 1H)	6.26 (s, 1H)
5'	5.50 (d, 1H, J=10)	5.58 (d, 1H, J=10)
6	4.95 (s, 2H)	4.97 (s, 1H)
2-OCH ₃	3.92 (s, 3H)	3.93 (s, 3H)
3-OCH ₃	3.85 (s, 3H)	3.85 (s, 3H)
7',8'	1.45 (s, 6H)	1.46 (s, 6H)

จากตารางที่ 41 จะเห็นได้ว่าค่าของโปรตอนเอนเอมอาร์ของ สาร ช กับ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol มีค่าใกล้เคียงกันมาก

สำหรับแมสสเปกตรัมของสาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol กับ สาร ช มีพีคที่ m/e 408-15 โดยมีการแตกให้หมู่เมทิลหลุดออกเกิดพีคที่ m/e 393 เป็นพีคที่มีความเข้มสูงสุด เนื่องจากเกิดไอออน pyrylium ที่เสถียรขึ้น (53) ดังแสดงในแผนภาพที่ 5 ส่วนพีคอื่นๆจะมีความเข้มน้อยมาก

แผนภาพที่ 5

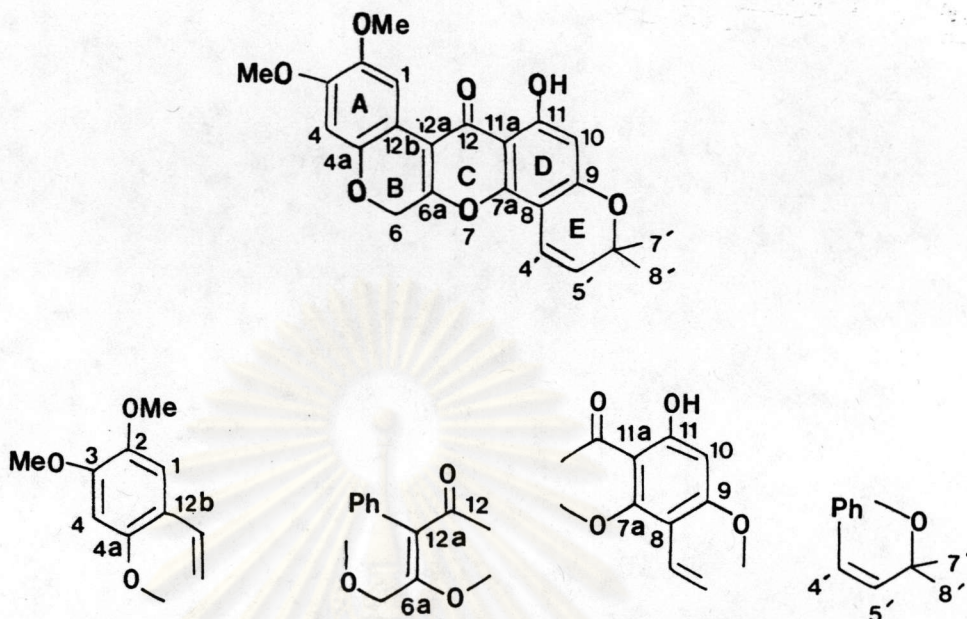


การคำนวณคาร์บอน-13 เอนเอมอาร์เคมีคัลชิฟท์ของสารประกอบ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol

สำหรับคาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สามารถคำนวณโดยใช้ข้อมูลของแอมโรแมติกและแอลคีน ซึ่งนำค่าของการมีหมู่แทนที่ในตำแหน่งต่างๆ (Substituent Chemical Shift = SCS) (58) ของสารมาใช้คำนวณ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบ่งโมเลกุลของ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ออกเป็น 4 ส่วนดังรูป



ตารางที่ 42 แสดงค่า SCS ของหมู่แทนที่ต่าง ๆ ในเอโรแมติก

หมู่แทนที่ในเอโรแมติก	ค่าของเคมีคัลชิฟท์ที่มีผลต่อคาร์บอนในตำแหน่ง (ppm)			
	C-1	C-ออร์โท	C-เมตา	C-พารา
-OH	+26.9	-12.7	+1.4	-7.1
-OCH ₃ , -OR	+31.4	-14.4	+1.0	-7.8
-RC=CR ₂	+9.1	-2.0	+0.2	-0.5
-CO-R	+9.1	+0.1	+0.0	+4.2

ตัวอย่างการคำนวณ

$$\begin{aligned}
 C-1 &= \delta C-1(\text{unsubstituted}) + \text{SCS}(\text{ออร์โท, } 2\text{-OCH}_3) + \text{SCS}(\text{เมตา, } 3\text{-OCH}_3) \\
 &\quad + \text{SCS}(\text{เมตา, } 4\text{a-OR}) + \text{SCS}(\text{ออร์โท, } 12\text{b-RC=CR}_2) \\
 &= 128.5 + (-14.4) + 1.0 + 1.0 + (-2.0) \\
 &= 114.1
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-2 &= \delta C-2(\text{unsubstituted}) + \text{SCS (C-1, 2-OCH}_3) + \text{SCS (ออร์โท, 3-OCH}_3) \\
 &\quad + \text{SCS (พารา, 4a-OR)} + \text{SCS (เมตา, 12b-RC=CR}_2) \\
 &= 128.5 + 31.4 + (-14.4) + (-7.7) + 0.2 \\
 &= 138.0
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-11 &= \delta C-11(\text{unsubstituted}) + \text{SCS (C-1, 11-OH)} + \text{SCS (เมตา, 7a-OR)} \\
 &\quad + \text{SCS (เมตา, 9-OR)} + \text{SCS (พารา, 8-RC=CR}_2) + \text{SCS (ออร์โท,} \\
 &\quad 11a-C=O) \\
 &= 128.5 + 26.9 + 1.0 + 1.0 + (-0.5) + 0.1 \\
 &= 157.0
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-10 &= \delta C-10(\text{unsubstituted}) + \text{SCS (ออร์โท, 11-OH)} + \text{SCS (ออร์โท, 9-OR)} \\
 &\quad + \text{SCS (เมตา, 8-RC=CR}_2) + \text{SCS (พารา, 7a-OR)} + \text{SCS (เมตา,} \\
 &\quad 11a-C=O) \\
 &= 128.5 + (-12.7) + (-14.4) + 0.2 + (-7.7) + 0.0 \\
 &= 93.9
 \end{aligned}$$

สำหรับเคมีคัลชิฟท์ของคาร์บอนตำแหน่งอื่น ๆ ในส่วนที่เป็นเอโรเมติก คำนวณเช่นเดียวกัน ส่วนเคมีคัลชิฟท์ของคาร์บอนในส่วนที่เป็นแอลคีนสามารถคำนวณได้ดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned}
 C-4' &= \delta C-4'(\text{unsubstituted}) + \text{SCS (แอลฟา, -Ph)} + \text{SCS (แอลฟา', -C-)} \\
 &\quad + 2 \text{ SCS (เบตา', -C-)} + \text{SCS (เบตา', -OR)} + \text{SCS (steric ของ} \\
 &\quad \text{cis)} \\
 &= 123.3 + 12.0 + (-7.9) + 2(-1.8) + (-1.0) + (-1.1) \\
 &= 121.7
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-5' &= \delta C-5'(\text{unsubstituted}) + \text{SCS (แอลฟา, -C-)} + \text{SCS (แอลฟา', -Ph)} \\
 &\quad + 2 \text{ SCS (เบตา, -C-)} + \text{SCS (เบตา, -OR)} + \text{SCS (steric ของ cis)} \\
 &= 123.3 + 10.6 + (-11.0) + 2(7.2) + 2.0 + (-1.1) \\
 &= 138.2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-6a &= \delta \text{ C-6a(unsubstituted)} + \text{SCS (แอลฟา, -C-)} + \text{SCS (แอลฟา', -C=O)} \\
 &+ \text{SCS (เบตา, -OR)} + \text{SCS (แอลฟา, -OR)} + \text{SCS (แอลฟา', -Ph)} \\
 &+ \text{SCS (steric ของ แอลฟา, แอลฟา)} + \text{SCS (steric ของ แอลฟา',} \\
 &\text{แอลฟา')} \\
 &= 123.3 + 10.6 + 6.0 + 2 + 29 + (-11.0) + (-4.8) + 2.5 \\
 &= 152.4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 C-12a &= \delta \text{ C-12a(unsubstituted)} + \text{SCS (แอลฟา, -Ph)} + \text{SCS (แอลฟา, -C=O)} \\
 &+ \text{SCS (เบตา', -OR)} + \text{SCS (แอลฟา', -OR)} + \text{SCS (แอลฟา', -C-)} \\
 &+ \text{SCS (steric ของ แอลฟา, แอลฟา)} + \text{SCS (steric ของ แอลฟา',} \\
 &\text{แอลฟา')} \\
 &= 123.3 + 12.0 + 15.0 + (-1) + (-39) + (-7.9) + (-4.8) + 2.5 \\
 &= 100.1
 \end{aligned}$$

ผลการคำนวณคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์เคมีคัลชิฟท์ของ สาร ซี ในโครงสร้างแบบ
6a,12a-dehydro- α -toxicarol แสดงดังตารางที่ 43

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 43 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มเออาร์สเปกตรัมของ สาร ช

ตำแหน่งคาร์บอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	สาร ช	
	จากการทดลอง	จากการคำนวณ
12	179.27 (s)	177.4 (s)
9	162.32 (s)	164.5 (s)
7a	159.31 (s)	160.4 (s)
6a	156.31 (s)	157.2 (s)
11	150.82 (s)	157.0 (s)
4a	149.20 (s)	151.2 (s)
3	146.25 (s)	146.0 (s)
2	144.13 (s)	138.0 (s)
5	127.73 (d)	138.2 (d)
4	114.36 (d)	121.7 (d)
12b	110.78 (s)	116.9 (s)
1	109.88 (d)	114.1 (d)
11a	109.66 (s)	103.0 (s)
8	105.96 (s)	101.9 (s)
12a	101.07 (s)	100.1 (s)
4	100.63 (d)	100.9 (d)
10	100.52 (d)	93.9 (d)
6	78.11 (s)	78.1 (s)
6	64.76 (t)	64.7 (t)
OCH ₃	56.38 (q)	56.3 (q)
OCH ₃	55.92 (q)	55.9 (q)
7,8	28.20 (q)	28.2 (q)

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดสรุปได้ว่า สาร ซ คือ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ซึ่งเป็นสารที่ยังไม่เคยมีรายงานว่ามีพบในพืชสกุล Derris และถอบแถบน้ำมาก่อน

3.2.9 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ณ

สาร ณ เป็นผลึกรูปเข็มสีเหลือง จุดหลอมเหลว 222 องศาเซลเซียส (จุดสลายตัว) ปริมาณ 0.10 กรัม (7.69×10^{-4} % ของน้ำหนักรากแห้ง) Rf 0.68 และ 0.73 (1% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน) ยังไม่บริสุทธิ์ ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม โดยทำควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน ทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ จะได้ สาร ณ จากส่วนที่ชะด้วยไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (49:1) ซึ่งต้องทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำอีกครั้งจึงจะได้ สาร ณ จากส่วนที่ชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:7), (1:4), (1:9) และไดคลอโรมีเทน กับอีกส่วนหนึ่งจะ ได้จากการทำควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งชะด้วยไดคลอโรมีเทน ทำให้บริสุทธิ์โดยการทำการแยกสารด้วยเครื่อง HPLC 2 ครั้ง (คอลัมน์ Si 83-121 C, ตัวทำละลายที่ใช้สารคือ 25 % เฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน, อัตราการไหลของตัวทำละลาย 9 ซม.³ / นาที, ความดัน 10 บาร์ โครมาโทแกรมดังรูปที่ 39, ครั้งที่ 2 ตัวทำละลายที่ใช้สารคือ 2 % เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน, อัตราการไหลของตัวทำละลาย 8 ซม.³ / นาที, ความดัน 12 บาร์ โครมาโทแกรมดังรูปที่ 40) แล้วตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล แต่ไม่สามารถแยกสารได้บริสุทธิ์ จากการทดสอบทางเคมีให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่า สาร ณ ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์ปีนอยด์

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 41) แสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะของหมู่คาร์บอนิลที่ต่อกับพันธะคู่ที่มีความถี่ 1740 และ 1640 (C=O) ซม.⁻¹ และของเอโรแมติกที่ 1620, 1590 และ 1520 ซม.⁻¹ ของอีเทอร์ที่ 1205 และ 1050 ซม.⁻¹ ดังแสดงในตารางที่ 44

ตารางที่ 44 การแปลความหมายอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ฅ

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3120, 3010	ต่ำ	C-H สัมเบบยืดของแอลคีนและแอโรแมติก
2950, 2870	สูง	C-H สัมเบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
2850	ต่ำ	O-CH ₃ สัมเบบยืดสมมาตรเมื่อต่อกับแอโรแมติก
1740, 1640	สูง	C=O สัมเบบยืดเมื่อต่อกับพันธะคู่
1620, 1590, 1520	สูง	C=C สัมเบบยืดของแอลคีนและแอโรแมติก
1460, 1380	ปานกลาง	C-H สัมเบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1410	ปานกลาง	C-H สัมเบบงอในระนาบของ R-CH=CH-R
1205	สูง	C-O สัมเบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1050	ปานกลาง	C-O สัมเบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
800	ปานกลาง	C-H สัมเบบงอนอกระนาบของ R-CH=CH-R

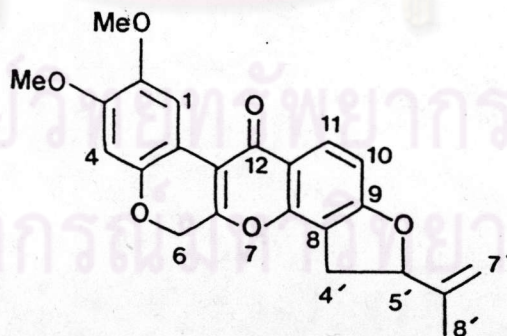
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 44) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุลที่ m/e 406 จากแมสสเปกโตรมิเตอร์แบบ high resolution ได้สูตรโมเลกุลเป็น $C_{23}H_{18}O_7$ และที่ m/e 392 ซึ่งจากแมสสเปกโตรมิเตอร์แบบ high resolution ได้สูตรโมเลกุลเป็น $C_{23}H_{20}O_6$ คำนวณได้จำนวนความไม่อิ่มตัว (วงแหวน + พันธะคู่) เท่ากับ 14

จากโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 42) คาดว่าสารสองชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน ซึ่งเห็นได้จากความเข้มของสัญญาณที่เกิด และจากข้อมูลส่วนนี้จึงคาดคะเนว่าสัญญาณต่อไปนี้ควรเป็นสัญญาณของโปรตอนในสารตัวเดียวกันซึ่งพบว่าปรากฏสัญญาณของ 20 โปรตอน เป็นของหมู่เมทิล 1 หมู่ หมู่เมทอกซี 2 หมู่ โปรตอนของแอลคีน 2 โปรตอน และของแอโรแมติก 4 โปรตอน โดยสัญญาณที่ δ 1.80 ppm (s, 3H) เป็นสัญญาณของหมู่เมทิลที่ต่อกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ ส่วนสัญญาณเมทอกซีปรากฏที่ δ 3.95 (s, 3H) และ 3.86 ppm (s, 3H) ซึ่งแสดงถึงการต่อกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์ ส่วนโปรตอนของแอลคีน 2 โปรตอนให้สัญญาณที่ δ 5.13 (s, 1H) และ 4.98 ppm (s, 1H) ส่วน 4 โปรตอนของแอโรแมติกให้สัญญาณที่ δ 8.42 (s, 1H), 8.10 (d, 1H, J=8.5 Hz), 6.90 (d, 1H, J=8.5 Hz), และ 6.52 ppm (s, 1H) ซึ่งแสดงถึงโปรตอน 2 ตัวอยู่ในตำแหน่งออร์โทกันยืนยันได้จากสัญญาณที่เกิดเป็นมีค่า J=8.5 Hz เท่ากัน นอกจากนี้มีโปรตอนให้สัญญาณที่ δ 4.98 (s, 2H), 3.51 (q, 1H) และ 3.18 ppm (q, 1H)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มเออาร์สเปกตรัม (รูปที่ 43) ปรากฏสัญญาณ 23 สัญญาณของ 23 คาร์บอน จากผลการทำออฟรีไซท์แนซพบว่า มี quaternary คาร์บอน 12 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 174.06 (C=O), 164.69, 155.96, 152.12, 148.81, 146.16, 143.88, 142.85, 118.80, 112.95, 112.84 และ 111.38 ppm มี methynic คาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 127.63, 110.02, 108.51, 100.27 และ 87.87 ppm มี เมทิลคาร์บอน 1 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 17.11 ppm ส่วนเมทอกซีคาร์บอนมี 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 56.23 และ 55.79 ppm และมีสัญญาณที่ δ 64.68 และ 31.36 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของ methylene คาร์บอน

เนื่องจากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าสารที่พบอยู่ใน สาร ๗ ตัวหนึ่งน่าจะเป็นสารประกอบประเภทโรตินอยด์ จึงทำการเปรียบเทียบหาสารที่มีสูตรโมเลกุลเท่ากับที่ได้จากการแนะนำด้วยข้อมูลทางแมสสเปกตรัม และจากจำนวนสัญญาณโปรตอนที่ได้จากการคาดคะเน 20 โปรตอน จึงทำให้คาดว่าข้อมูลทางสเปกตรัมทั้งหมดที่อ้างถึงนี้เป็นของสารที่มีสูตรโมเลกุล $C_{23}H_{20}O_6$ จากการเปรียบเทียบพบว่าสาร 6a, 12a-dehydrorotenone ($C_{23}H_{20}O_6$) มีลักษณะทางกายภาพใกล้เคียง โดยมีจุดหลอมเหลว 224 องศาเซลเซียส (จุดสลายตัว) เป็นผลึกสีเหลือง จึงทำการเปรียบเทียบโปรตอนเอ็มเอ็นเออาร์ของ สาร ๗ กับ 6a, 12a-dehydrorotenone ดังแสดงในตารางที่ 45

6a, 12a-dehydrorotenone

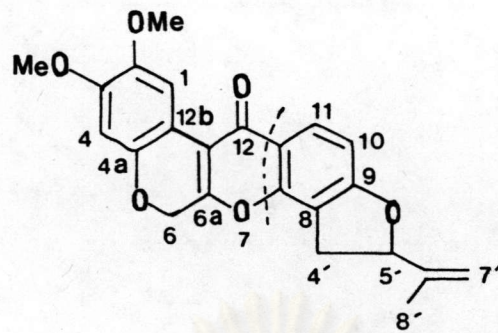


ตารางที่ 45 ไพรตอนเอนเอมอาร์สเปกตรัมของ สาร ฅ เทียบกับ 6a,12a-dehydro rotenone (49)

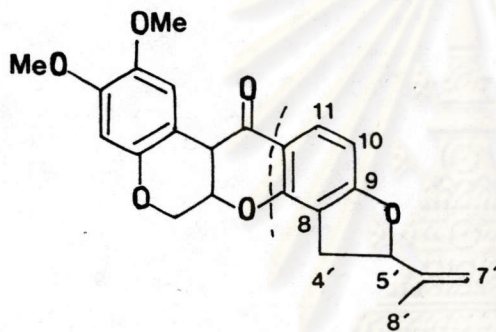
ตำแหน่งไพรตอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	6a,12a-dehydrorotenone	สาร ฅ
1	8.44 (s, 1H)	8.42 (s, 1H)
11	8.11 (d, 1H, J=8.5)	8.10 (d, 1H, J=8.5)
10	6.89 (d, 1H, J=8.5)	6.90 (d, 1H, J=8.5)
4	6.52 (s, 1H)	6.52 (s, 1H)
5	5.39 (t, 1H)	5.40 (t, 1H)
7	5.12 (s, 1H)	5.13 (s, 1H)
7	4.97 (s, 1H)	4.97 (s, 1H)
6	4.97 (s, 2H)	4.97 (s, 2H)
4	3.52 (q, 1H)	3.51 (q, 1H)
4	3.15 (q, 1H)	3.18 (q, 1H)
2-OCH ₃	3.94 (s, 3H)	3.95 (s, 3H)
3-OCH ₃	3.84 (s, 3H)	3.86 (s, 3H)
8	1.80 (s, 3H)	1.80 (s, 3H)

จากตารางที่ 45 จะเห็นได้ว่าค่าของไพรตอนเอนเอมอาร์สของ สาร ฅ กับ 6a,12a-dehydrorotenone มีค่าใกล้เคียงกันมาก

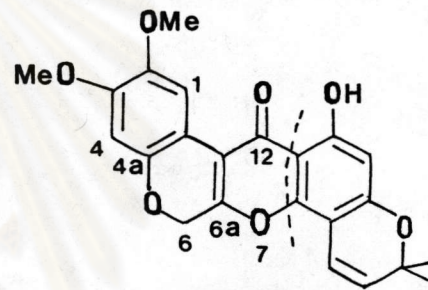
สำหรับคาร์บอน-13 เอ็มอาร์สเปกตรัมของ 6a,12a-dehydrorotenone ไม่มีรายงานไว้จึงใช้ข้อมูลจากการเทียบกับสาร rotenone ในตำแหน่ง 9, 7a, 6', 11, 11a, 8', 7', 10, 5', 4' และ 8 ซึ่งค่าเคมีคัลชิฟท์ของคาร์บอนในตำแหน่งเหล่านี้ควรมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างสาร rotenone และ สาร 6a,12a-dehydrorotenone เนื่องจากคาร์บอนเหล่านี้อยู่ในส่วนที่มีโครงสร้างเหมือนกัน สำหรับตำแหน่งคาร์บอนที่เหลือคือ 12, 12b, 1, 12a, 6a, 4a, 3, 2, 4 และ 6 จะเทียบกับ สาร 6a,12a-dehydro- α -toxicarol เนื่องจากคาร์บอนเหล่านี้อยู่ในสิ่งแวดล้อมแบบเดียวกับ สาร 6a,12a-dehydrorotenone ดังแสดงค่าในตารางที่ 46



6a,12a-dehydrorotenone



rotenone

6a,12a-dehydro- α -toxicarol

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 46 คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปกตรัมของ สาร ฅ

ตำแหน่งคาร์บอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	สาร ฅ	
	จากการทดลอง	จาก(50) และจากตารางที่ 43
12	174.06 (s)	179.2 (s)
9	164.69 (s)	167.4 (s)
6a	155.96 (s)	156.8 (s)
7a	152.12 (s)	156.1 (s)
4a	148.81 (s)	149.2 (s)
3	146.16 (s)	146.2 (s)
2	143.88 (s)	144.1 (s)
6	142.85 (s)	143.0 (s)
11	127.63 (d)	130.0 (d)
11a	118.80 (s)	114.7 (s)
8	112.95 (s)	113.0 (s)
7	110.46 (t)	112.6 (t)
12b	112.84 (s)	110.7 (s)
1	110.02 (d)	109.8 (d)
10	108.51 (d)	104.7 (d)
12a	111.38 (s)	101.0 (s)
4	100.27 (d)	100.6 (d)
5	87.87 (d)	87.8 (d)
6	64.68 (t)	64.7 (t)
OCH ₃	56.23 (q)	56.3 (q)
OCH ₃	55.79 (q)	55.8 (q)
4	31.36 (t)	31.3 (t)
8	17.11 (q)	17.2 (q)

สำหรับแมสสเปกตรัมของ 6a,12a-dehydrorotenone มีรายงานไว้เป็นครั้งแรก โดย P. C. Bose, C. L. Kirtaniya และ N. Adityachaudhury (29) ซึ่งพบสาร 6a,12a-dehydrorotenone เป็นครั้งแรกในส่วนรากของถอบแถบน้ำเมื่อปี ค.ศ. 1976 โดยเสนอว่าพีคที่ m/e 377 = 392-CH₃, 345 = 377-CH₃OH นอกจากนี้มีรายงานลำดับความเข้มพีคดังนี้ คือที่ m/e 392 (100%), 393 (27%), 377 (11%) และ 345 (10%) (50) เมื่อเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมที่ได้จากการทดลองของ สาร ฅ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันดังนี้ คือที่ m/e 392 (100%), 393 (26.29%), 377 (17.48%) และ 345 (9.83%)

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดทำให้คาดว่า สาร ฅ อาจเป็นของผสมระหว่างสารที่มีสูตรโมเลกุล C₂₃H₂₀O₈ กับ C₂₃H₁₈O₇ โดยสารที่มีสูตรโมเลกุล C₂₃H₂₀O₈ น่าจะเป็น สาร 6a,12a-dehydrorotenone ซึ่งเป็นสารหนึ่งในรากถอบแถบน้ำ แต่ไม่สามารถยืนยันได้แน่นอนเนื่องจาก สาร ฅ ที่แยกได้ยังไม่บริสุทธิ์

3.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้

3.3.1 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

จากผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวพบว่า สาร ก คือ สารประกอบ S₉ ในอัตรา 0.01, 0.005 และ 0.001 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร ค คือ ของผสมของกรดไซโตรง ในอัตรา 0.001, 0.002 และ 0.01 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยในส่วนรากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 99.25, 99.44 และ 100.00 % ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของใบได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 60.43, 68.71 และ 69.02 % ตามลำดับ

สาร ง คือ สารประกอบ lupeol ในอัตรา 0.01, 0.005 และ 0.001 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร จ คือ ของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol ในอัตรา 0.001, 0.003 และ 0.01 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการออกของรากและใบได้ 100.00 % แต่ในอัตรา 0.0001 และ 0.00005 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม กลับแทบจะไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร ฉ คือ ของผสมของแอลกอฮอล์ไซโตรง ในอัตรา 0.01, 0.005 และ 0.001 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร ช คือ rotenone ในอัตรา 0.0005, 0.001 และ 0.005 กรัม ต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยในส่วนรากมีฤทธิ์ยับยั้งการออกของรากได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 99.06, 99.44 และ 98.87 % ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของใบได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 47.85, 50.31 และ 67.48 % ตามลำดับ

สาร ช คือ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ในอัตรา 0.0002 และ 0.001 กรัม ต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยในส่วนรากมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของรากได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 100.00 และ 100.00 % ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของใบได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 50.92 และ 66.56 % ตามลำดับ

สาร ฉ คือ สารผสมสีเหลืองในอัตรา 0.0003, 0.001 และ 0.002 กรัม ต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยในส่วนรากมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของรากได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 99.62, 100.00 และ 100.00 % ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของใบได้ใกล้เคียงกันคือมีฤทธิ์ยับยั้ง 62.58, 57.67 และ 59.51 % ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุดคือ สาร จ ซึ่งเป็นของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและใบได้ 100 % ในอัตราต่ำสุด 0.001 กรัม ต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม รองลงมาคือ สาร ช (rotenone) สาร ช (6a,12a-dehydro- α -toxicarol) สาร ค ของผสมของกรดไซตริก และ สาร ฉ ของผสมผลึกรูปเข็มสีเหลือง ซึ่งอาจจะเป็นแนวทางในการนำสารเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการเกษตรได้ในอนาคต โดยเฉพาะสารประเภทสเตอรอยด์ซึ่งพบได้ในพืชส่วนใหญ่ในปริมาณมาก โดยอาจนำไปศึกษาต่อถึงการใช้ประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชต่าง ๆ ที่เป็นพืชที่มีความต้านทานต่ำกว่าต่อไป

3.3.2 การศึกษาความเป็นพิษกับปลา

การทดสอบความเป็นพิษกับปลานี้ใช้สารทั้งหมด 6 สาร คือ สาร ก สาร ง สาร จ สาร ฉ สาร ช สาร ช และ สาร ฉ จากการทดสอบพบว่าผลดังนี้คือ

สาร ช คือ rotenone ในอัตรา 0.001 และ 0.005 กรัม ในน้ำ 200 ซม.³ แสดงความเป็นพิษต่อปลาโดยทำให้ปลาทาย 100 % เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. ส่วนอัตรา 0.0005 กรัม ในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

สาร ก คือ สารประกอบ S₈ ในอัตรา 0.001, 0.006 และ 0.02 กรัม ในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

สาร ง คือ lupeol ในอัตรา 0.001, 0.005 และ 0.01 กรัม ในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

สาร จ คือ ของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol ในอัตรา 0.001, 0.003 และ 0.01 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

สาร ฉ คือ ของผสมของแอลกอฮอล์ใช้ตรง ในอัตรา 0.0002, 0.0009 และ 0.004 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

สาร ฅ คือ ของผสมของผลึกรูปเข็มสีเหลือง ในอัตรา 0.0003, 0.001 และ 0.002 กรัมในน้ำ 200 ซม.³ ไม่เป็นพิษต่อปลา

3.3.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากเอกสารอ้างอิง

สาร ก คือสารประกอบ S₈ จากเอกสารอ้างอิงพบว่า S₈ เป็นสารที่มีผลต่อร่างกายโดยเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย ได้แก่ โปรตีน cystine และ cysteine อาการเมื่อร่างกายขาด S₈ จะมีอาการอันเสบของผิวหนัง การเจริญเติบโตของผมและเล็บไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดการขาด cystine หรือ cysteine ซึ่งจะไปจำกัดการเจริญเติบโตและอาจถึงตายได้ (59) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า S₈ สามารถใช้เป็นยารักษาสิว กำจัดรังแค แก้มัน ยาม่า เชื้อรา และผสมกับขี้ผึ้ง (petrolatum) จะสามารถใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังได้ แต่การใช้ S₈ ที่ผสมกับขี้ผึ้งเป็นยา (sulfur ointment) รักษาโรคหิด ถ้าใช้บ่อย ๆ อาจทำให้ผิวหนังอักเสบได้ และถ้าใช้ผสมกับปรอทจะทำให้เกิดการต่างที่ผิวหนังเป็นจุดดำได้ (47,60)

สาร ค คือ ของผสมของกรดใช้ตรง (C₂₀-C₂₈) จากรายงานพบว่าของผสมของกรดใช้ตรงที่มีจำนวนคาร์บอน 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 34 และ 36 มีผลยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายในระดับสูง ดังนั้นจึงคาดว่า สาร ค ซึ่งเป็นสารประเภทกรดใช้ตรงเหมือนกันน่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพเหมือนกันด้วย (45)

สาร ง คือ lupeol มีผลต่อเชื้อรา Verticillium (45)

สาร จ คือ ของผสมของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol มีรายงานว่า β -sitosterol มีผลในการลดคลอเลสเตอรอลในเลือดของไก่ กระจ่าง และมนุษย์เมื่อได้รับ β -sitosterol โดยการกิน เนื่องจากมันไปยับยั้งการดูดซึมคลอเลสเตอรอล ปริมาณที่ใช้ 3 กรัม 3 เวลาก่อนอาหาร ส่วน stigmasterol แยกได้ครั้งแรกโดย Windaus และ Hauth ใน ค.ศ. 1906 จาก Physostigma venenosum stigmasterol เป็นสารที่มีความสำคัญเนื่องจากมันมีพันธะคู่อยู่ที่ side chain ทำให้ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศบางชนิด (61) นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายในระดับสูง (45)

สาร ฉ คือ ของผสมของแอลกอฮอล์ไฮโดรเจน ($C_{21}-C_{26}$) จากรายงานพบว่าของผสมของแอลกอฮอล์ไฮโดรเจนที่มีจำนวนคาร์บอน 28-32 และ 30-36 มีผลยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายในระดับสูง ดังนั้นจึงคาดว่า สาร ฉ ซึ่งเป็นสารประเภทแอลกอฮอล์ไฮโดรเจนเหมือนกันน่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพเหมือนกันด้วย (45)

สาร ช คือ rotenone ซึ่งสกัดได้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1892 โดย Geoffroy แล้วให้ชื่อว่า nicoulene ต่อมาในปี ค.ศ. 1902 Nagai สามารถสกัดสารนี้ได้จากพืชสกุล derris จึงเรียกชื่อสารนี้ใหม่ว่า rotenone และใช้เรียกกันมาจนถึงปัจจุบัน (35)

rotenone มีพิษมากต่อสัตว์เลือดเย็น แต่ไม่มีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นเมื่อได้รับโดยการกิน ตรงกันข้ามถ้าได้รับเข้าทางกระแสโลหิตจะเป็นพิษอย่างมาก ชาว Indian จึงนำสารนี้มาใช้ทำหัวลูกดอกอาบยาพิษ (62)

rotenone จะอยู่ในพืชในรูป aglycone อิสระ มีปริมาณสูงมากตรงบริเวณส่วนรากทางไหล โดยพบว่า rotenone สามารถยับยั้งปฏิกิริยาบางอย่างในไมโตรคอนเดรียของเซลล์พืชและเซลล์สัตว์โดยเซลล์สัตว์จะมีผลมากกว่า ซึ่งเป็นส่วนช่วยป้องกันการถูกกัดกินโดยสัตว์กินพืช และยังป้องกันการมี parasite มาเกาะอีกด้วย (63)

นอกจาก rotenone จะเป็นยาเบื่อปลาและยาฆ่าแมลงแล้ว ยังพบว่า rotenone มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยมีผลต่อต้านการกินของตัวเต็มวัยของ Sitophilus granarius และ Tribolium confusum และมีผลต่อ larvae ของ Tribolium confusum และ Trogoderma granarium (64) และยังมีการศึกษาผลของ rotenone ต่อของพบว่า rotenone สามารถทำให้ชุงตาย 90 % หลังจากพ่นสาร 24 ชม. ปริมาณ 4 ppm ซึ่งความเป็นพิษของ rotenone จะหมดไปภายใน 14-15 วัน (65)

สาร ซ คือ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol จากรายงานพบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถทำให้ตักแตนพันธุ์ Locusta migratoria และ แมลงปีกแข็งพวก potato beetle พันธุ์ Leptinotarsa decemlineate ตาย 100 % หลังจากได้รับสารนี้ 24 ชม. (55) นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาฆ่าแมลง โดยใช้ควบคุมแมลงพวก colorado beetle ตักแตน และ Putella maculipeunis (54)

จากข้อมูลทั้งหมดดังกล่าวมาแสดงให้เห็นว่าการที่รากถอบแถบน้ำสามารถใช้เป็นยาเบื่อปลาได้ตั้งที่ชาวบ้านใช้กันมาแต่โบราณ เนื่องจากในรากถอบแถบน้ำมี rotenone ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อปลาเป็นองค์ประกอบอยู่นั่นเอง และการที่ถอบแถบน้ำซึ่งเป็นพืชป่าชายเลนสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในที่ที่เต็มไปด้วยแมลงและจุลินทรีย์ เนื่องจากในรากถอบแถบน้ำมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ คือ สารประกอบ S_8 (ฆ่าเชื้อราได้) rotenone และ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol ซึ่งสาร 2 ชนิดนี้ผสมกันเป็นยาฆ่าแมลงที่รู้จักกันดี

3.4 การหาค่าประกอบในน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากรากสดอบแห้งน้ำมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อนปนของแข็งเป็นเม็ดสีน้ำตาล และมีกลิ่นแรง มีปริมาณน้อยมากโดยได้น้ำหนัก 3 กรัม คิดเป็น $1.25 \times 10^{-3} \%$ ของน้ำหนักรากสด ซึ่งจากการแยกน้ำมันหอมระเหยออกเป็นลำดับส่วนย่อยๆ โดยการผ่านคอลัมน์ florisil แล้วนำมารวมเป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยการตรวจดูทึบแมสโครมาโทกราฟีจากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ เพื่อหาค่าประกอบของน้ำมันหอมระเหยโดยการยืนยันโครงสร้างของสารด้วยการเปรียบเทียบกับรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมมาตรฐาน ปรากฏว่าสารที่ทำการวิเคราะห์ได้มี 19 สาร คิดเป็น 18.01 % ของน้ำมันทั้งหมด (วิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี)

พีคที่ 1 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.1 % ผลการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 56, 84, 41, 55 และ 69 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 84 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 56 (M^+-28), 84 (M^+), 41 ($M^+-28, -15$), 55 (M^+-27) และ 69 (M^+-15) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 54 และเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐาน (66) สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนคือไซโคลเฮกเซน (C_6H_{12})

พีคที่ 2 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.07 % ผลการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 119, 134, 43, 57 และ 91 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 134 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 119 (M^+-15), 134 (M^+), 43 (M^+-91), 57 (M^+-77) และ 91 (M^+-43) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 56 และเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐาน (66) สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{10}H_{14}$ แต่ไม่สามารถสรุปได้แน่นอนว่าเป็นสารใดในสาร 3 ชนิดนี้ซึ่งมีรูปแบบการแตกตัวใกล้เคียงกันมาก ได้แก่ 1-methyl-2-(2-propyl)benzene และ 1-methyl-3-(2-propyl)benzene

พีคที่ 3 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.13 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 57, 43, 119, 71 และ 41 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 156 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 57 (M^+-99), 43 (M^+-113), 119 (M^+-37), 71 (M^+-85) และ 41 (M^+-115) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ดังรูปที่ 58 สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{11}H_{24}$ ซึ่งมีรูปแบบการแตกตัวใกล้เคียงกับ n-undecane มาก แต่ n-undecane ไม่มีพีคที่ m/e 119 จึงทำให้ไม่สามารถสรุปสูตรโครงสร้างของสารนี้ได้

พีคที่ 4 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.2 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 128, 127, 129, 51 และ 64 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 128 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 128 (M^+), 127 (M^+-1), 129 (M^++1), 51 (M^+-77) และ 64 (M^+-64) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 60 มีสารที่เป็นไปได้ 2 ชนิด คือ azulene และ naphthalene ซึ่งสารทั้ง 2 มีรูปแบบการแตกตัวใกล้เคียงกันมากทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารใดในสาร 2 ชนิดดังกล่าว แต่สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทแอโรมาติกไฮโดรคาร์บอน มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{10}H_8$

พีคที่ 5 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.26 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 57, 43, 71, 85 และ 41 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 170 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 57 (M^+-113), 43 (M^+-127), 71 (M^+-99), 85 (M^+-85) และ 41 (M^+-129) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 62 และเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐาน (67) สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวคือ dodecane ($C_{12}H_{26}$)

พีคที่ 6 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.03 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 57, 43, 71, 85 และ 41 เชื่อว่าน้ำหนัก

โมเลกุลเป็น 184 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 57 (M^+-127), 43 (M^+-141), 71 (M^+-113), 85 (M^+-99) และ 41 (M^+-143) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 64 สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{13}H_{28}$ ซึ่งใกล้เคียงกับ 4,6-dimethylundecane มากสุด สารนี้จึงอาจเป็น 4,6-dimethylundecane

พีคที่ 7 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.13 % ผลการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 161, 105, 119, 93 และ 91 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 204 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 161 (M^+-43), 105 (M^+-99), 119 (M^+-85), 93 (M^+-111) และ 91 (M^+-113) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 66 และเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐาน (42) สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภท sesquiterpene hydrocarbon คือ copaene

พีคที่ 8 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 1.00 % ผลการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 57, 43, 71, 85 และ 41 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 198 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 57 (M^+-141), 43 (M^+-155), 71 (M^+-127), 85 (M^+-113) และ 41 (M^+-157) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{14}H_{30}$ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่ามีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 9 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 0.35 % ผลการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 93, 80, 121, 41 และ 189 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 204 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 93 (M^+-111), 80 (M^+-124), 121 (M^+-83), 41 (M^+-163) และ 189 (M^+-15) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 69 และเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐาน (42) สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภท sesquiterpene hydrocarbon คือ α -caryophyllene

พีคที่ 1 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 0.2 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 43, 45, 61, 73 และ 44 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 88 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว m/e 43 (M^+-45), 45 (M^+-43), 61 (M^+-27), 73 (M^+-15) และ 44 (M^+-44) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 71 สรุปได้ว่าสารนี้เป็นสารประเภทเอสเทอร์ มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_4H_8O_2$ คือ เอทิลแอสีเตต

พีคที่ 2 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 1.65 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 49, 46, 59, 69 และ 108 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 126 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัวและการแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ สรุปได้แค่เพียงสารนี้น่าจะมีหมู่ $-OH$ อยู่ (จากการมีพีค $M^+-18 = 108$) แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสารใด

พีคที่ 3 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 0.65 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 52, 73, 49, 63 และ 74 จากการเปรียบเทียบพีคที่ m/e 95-102 (รูปที่ 73) พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับพีคที่ m/e 95-102 ของสาร พีคที่ 4 (รูปที่ 74) ซึ่งแสดงว่าแมสสเปกตรัมที่ได้ไม่ใช่แมสสเปกตรัมของสารชนิดเดียวในการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างจึงไม่สามารถทำได้ และไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่าไร และจากการแนะนำด้วยคอมพิวเตอร์ก็ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 4 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 0.51 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 52, 73, 49, 63 และ 51 เนื่องจากพบว่า พีคที่ m/e 95-102 (รูปที่ 74) มีลักษณะคล้ายคลึงกับพีคที่ m/e 95-102 ของสาร พีคที่ 3 (รูปที่ 73) นอกจากนี้ยังพบว่าพีคที่ m/e 110-155 (รูปที่ 74) มีลักษณะคล้ายคลึงกับพีคที่ m/e 110-155 ของสาร พีคที่ 5 (รูปที่ 75) ซึ่งแสดงว่าแมสสเปกตรัมที่ได้ไม่ใช่แมสสเปกตรัมของสารชนิดเดียวในการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างจึงไม่สามารถทำได้ และไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่าไร และจากการแนะนำด้วยคอมพิวเตอร์ก็ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 5 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 0.88 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 91, 79, 49, 108 และ 77 จากที่กล่าวแล้วว่าพีคที่ m/e 110-155 (รูปที่ 75) มีลักษณะคล้ายคลึงกับพีคที่ m/e 110-155 ของสาร พีคที่ 4 (รูปที่ 74) แสดงว่าแมสสเปกตรัมที่ได้ไม่ใช่แมสสเปกตรัมของสารชนิดเดียวในการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างจึงไม่สามารถทำได้ และไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่าไร

พีคที่ 6 ของลำดับส่วนที่ 1-6 มีปริมาณ 1.21 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือ 117, 90, 116, 91 และ 89 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 117 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) ส่วนพีคที่ m/e 133-154 มีลักษณะคล้ายคลึงกับที่พบใน พีคที่ 4 และ พีคที่ 5 ซึ่งไม่น่าใช่แมสสเปกตรัมของสารนี้ จากรูปแบบการแตกตัว m/e 117 (M^+), 90 (M^+-27), 116 (M^+-1), 91 (M^+-26) และ 89 (M^+-28) เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่อาจเป็นไปได้ตามรูปแบบการแตกตัวซึ่งแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ดังรูปที่ 77 สรุปได้ว่าสารนี้คือ phenyl acetonitrile

พีคที่ 7 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 1.80 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 71, 49, 111, 93 และ 46 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 154 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว และการแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 8 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 1.39 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 49, 62, 46, 61 และ 81 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 170 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว และการแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 9 ของลำดับส่วนที่ 7-15 มีปริมาณ 0.25 % ผลการวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 109, 49, 123, 46 และ 82 เชื่อว่าน้ำหนักโมเลกุลเป็น 208 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว และการแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

พีคที่ 1 ของลำดับส่วนที่ 16-20 และ 21-24 มีปริมาณ 7.2 % ผลการ

วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์พบว่า มีรูปแบบการแตกตัวของแมสสเปกตรัมที่สำคัญเรียงตามความเข้มจากมากไปน้อย 5 พีค คือที่ m/e 49, 52, 63, 51 และ 38 เชื่อว่า น้ำหนักโมเลกุลเป็น 88 (ไอออนเชิงโมเลกุล= M^+) จากรูปแบบการแตกตัว และการแนะนำโดยคอมพิวเตอร์ ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างไร

จากผลการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยของรากสดของเถาพบว่า มีองค์ประกอบเป็นไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว 4 ชนิด คิดเป็น 1.42 % ของน้ำมันทั้งหมด ได้แก่ $C_{11}H_{24}$, dodecane, $C_{13}H_{28}$ และ $C_{14}H_{30}$ โดย $C_{14}H_{30}$ มีปริมาณมากที่สุด คือ 1.00 % ส่วนไฮโดรคาร์บอนแบบเป็นวงอิ่มตัวมี 1 ชนิด คิดเป็น 0.1 % ของน้ำมันทั้งหมด ได้แก่ ไฮโคลเฮกเซน ซึ่งในทางปฏิบัติแล้วสารนี้มาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองมากกว่ามาจากรากสดของเถา

ส่วนไฮโดรคาร์บอนแบบเป็นวงไม่อิ่มตัวมี 5 ชนิด คิดเป็น 0.75 % ของน้ำมันทั้งหมด ได้แก่ $C_{10}H_{14}$, $C_{10}H_{16}$, copaene และ α -caryophyllene โดย α -caryophyllene มีปริมาณมากที่สุด คือ 0.35 %

ส่วนเอสเทอร์มี 1 ชนิด ได้แก่ เอทิลแอสีเตต มีปริมาณ 0.2 % ของน้ำมันทั้งหมดซึ่งในทางปฏิบัติแล้วสารนี้มาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองมากกว่ามาจากรากสดของเถา

ส่วนสารประกอบของ cyano compound มี 1 ชนิด ได้แก่ phenyl acetonitrile มีปริมาณ 1.21 % ของน้ำมันทั้งหมด

ส่วนสารที่เหลืออีก 8 สาร นั้นไม่สามารถหาสูตรโครงสร้างได้ มีดังนี้คือ

1. สารน้ำหนักโมเลกุล 126 มี 1.65 % ของน้ำมันทั้งหมด
2. สารที่ พีคที่ 3 ของลำดับส่วน 7-15 มี 0.65 % ของน้ำมันทั้งหมด
3. สารที่ พีคที่ 4 ของลำดับส่วน 7-15 มี 0.51 % ของน้ำมันทั้งหมด
4. สารที่ พีคที่ 5 ของลำดับส่วน 7-15 มี 0.88 % ของน้ำมันทั้งหมด
5. สารน้ำหนักโมเลกุล 154 มี 1.80 % ของน้ำมันทั้งหมด
6. สารน้ำหนักโมเลกุล 170 มี 1.39 % ของน้ำมันทั้งหมด
7. สารน้ำหนักโมเลกุล 208 มี 0.25 % ของน้ำมันทั้งหมด
8. สารน้ำหนักโมเลกุล 88 มี 7.20 % ของน้ำมันทั้งหมด ซึ่งเป็นสารที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยที่วิเคราะห์ได้

ผลการวิเคราะห์ของน้ำมันหอมระเหยจากรากสดของเถาด้วย

แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ สามารถวิเคราะห์ได้เพียง 18.01 % เท่านั้น ส่วนที่เหลือ 81.99 % ของน้ำมันทั้งหมดไม่สามารถวิเคราะห์ได้เนื่องจากในการแยกสารออกเป็นพีคด้วย

แก๊สโครมาโทกราฟีไม่สามารถแยกสารที่มีค่า retention time ต่ำ บางส่วนให้ออกจากกันได้ทำให้การวิเคราะห์ด้วยแมสสเปกโตรมิเตอร์ในตำแหน่งพีคเหล่านั้นได้แมสสเปกตรัมที่ทับกันของสารหลายชนิด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐานที่แนะนำโดยคอมพิวเตอร์จึงไม่สามารถทำการเปรียบเทียบได้ นอกจากนี้สารในน้ำมันหอมระเหยยังมีจำนวนมากหลายชนิดทำให้การแยกสารออกเป็นพีคด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีต้องใช้เวลานาน มีผลทำให้การแยกไม่มีประสิทธิภาพดีพอเมื่อเวลาผ่านไป ดังนั้นสารที่มี retention time มากจึงไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ต่อได้ดังนั้นวิธีที่จะทำให้สามารถยืนยันสูตรโครงสร้างของสารในน้ำมันหอมระเหยได้มากขึ้น คือควรนำน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟีแล้วมารวมเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ให้มีจำนวนมากกว่า 4 กลุ่ม เพื่อลดจำนวนสารที่มีในแต่ละกลุ่มให้น้อยลงและเป็นผลให้การแยกด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีใช้เวลาลดลงซึ่งจะสามารถแยกสารในแต่ละพีคที่ปรากฏในแก๊สโครมาโทแกรมออกจากกันได้หมด นอกจากนี้ควรเลือกสภาวะในการทำแก๊สโครมาโทกราฟีใหม่ให้เหมาะสมยิ่งขึ้น เพื่อแก้ปัญหาแมสสเปกตรัมทับกันและทำให้การเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐานทำได้และถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สรุป

ในการเสาะหาชีวสารเพื่อการเกษตรจากพืชป่าชายเลน พบว่าสิ่งสกัดจากรากถอบแถบน้ำ, *Derris trifoliata* Lour. (Papilionaceae) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Pythium ultimum* และ *Rhizoctonia solani* แสดงความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก (Third instar diamondback moth larvae) โดยทำให้หนอนใยผักตาย 100 % เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชม. (อัตรา 31.6 มก./ชม.³) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของรากและใบ 100 % (อัตรา 0.1 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม) และแสดงความเป็นพิษต่อปลาโดยทำให้ปลาตาย 100 % เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. (อัตรา 0.01 กรัมในน้ำ 200 ชม.³) การแยกสิ่งสกัดคลอโรฟอร์มจากรากถอบแถบน้ำ (186 กรัม, 1.43 % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง) โดยโครมาโทกราฟีแบบต่าง ๆ แยกสารได้ทั้งหมด 9 ชนิด คือ กำมะถัน (S₈) (0.02 % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), ของผสมของเอสเทอร์ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง (1.54x10⁻⁴ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), ของผสมของกรดไขมันตรง (C₂₀-C₂₈) (1.54x10⁻³ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), lupeol (8.92x10⁻³ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), ของผสมของ β -sitosterol, campesterol และ stigmasterol (0.022 % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), ของผสมของแอลกอฮอล์ไขมันตรง (C₂₁-C₂₈) (2.3x10⁻⁴ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง), rotenone (1.38x10⁻³ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง) ซึ่งเป็นสารที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนว่าพบในถอบแถบน้ำ และ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol (2.13x10⁻⁴ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง) ซึ่งเป็นสารที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนว่าพบในถอบแถบน้ำและพืชสกุล *Derris* และของผสมผลึกรูปเข็มสี่เหลี่ยมจุดหลอมเหลว 222 องศาเซลเซียส (จุดละลายตัว) (7.69x10⁻⁴ % โดยน้ำหนักน้ำแห้ง) ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง คาดว่าเป็นสารประกอบประเภทโรตินอยด์ ดังแผนภาพที่ 6

จากสารทั้งหมดที่แยกได้พบว่ามีสาร 5 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวใน ส่วนรากและใบตามลำดับดังนี้ ของผสมของ β -sitosterol, campesterol และ stigmasterol (ราก = 100 % , ใบ = 100 % , อัตรา 0.001 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม, ต้นข้าวไม่งอกเลย), 6a,12a-dehydro- α -toxicarol (ราก = 100 % , ใบ = 50.92 % , อัตรา 0.0002 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม) ของผสมผลึกรูปเข็มสี่เหลี่ยมจุดหลอมเหลว 222 องศาเซลเซียส (ราก = 99.62 % , ใบ = 62.58 % , อัตรา 0.0003 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม) rotenone (ราก = 99.06 % , ใบ = 47.85 % , อัตรา 0.0005 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม) และของผสมของกรดไขมันตรง (C₂₀-C₂₈) (ราก =

99.25 % , โใบ = 60.43 % , อัตรา 0.001 กรัมต่อผงเซลล์โลส 1.5 กรัม) ส่วนสารที่แสดงความเป็นพิษต่อปลาคือ rotenone (ปลาตาย 100 % , อัตรา 0.001 กรัมในน้ำ 200 ซม.³)

นอกจากนี้จากเอกสารอ้างอิงพบว่าสารที่แยกได้คือ กำมะถัน (S₈) มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา และ lupeol มีผลต่อเชื้อรา สำหรับ rotenone และ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol มีฤทธิ์ฆ่าแมลง และของผสมของแอลกอฮอล์ใช้ตรง, ของผสมของกรดใช้ตรง และของผสมของ stigmasterol, campesterol และ β -sitosterol แสดงฤทธิ์ต่อต้านการกินของแมลงกินฝ้าย

จากข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมดของสารที่แยกได้นี้สอดคล้องกับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสิ่งสกัดคลอโรฟอร์มจากรากถอบแถบน้ำ โดย กำมะถัน (S₈) และ lupeol แสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา rotenone และ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol แสดงความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก และ rotenone แสดงความเป็นพิษต่อปลา ส่วนสารที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวคือ ของผสมของกรดใช้ตรง, ของผสมของ stigmasterol, campesterol และ β -sitosterol , rotenone , 6a,12a-dehydro- α -toxicarol และของผสมผลึกรูปเข็มสีเหลือง ซึ่งการที่รากถอบแถบน้ำมี rotenone เป็นองค์ประกอบอยู่จึงทำให้สามารถใช้รากถอบแถบน้ำในการเบื่อปลาได้ดังที่มึคนใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณ และการที่มี กำมะถัน (S₈) และ lupeol เป็นองค์ประกอบจึงทำให้ถอบแถบน้ำสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพที่ชื้นแฉะและเต็มไปด้วยจุลินทรีย์อย่างป่าชายเลน นอกจากนี้การมี rotenone และ 6a,12a-dehydro- α -toxicarol เป็นองค์ประกอบยังทำให้ถอบแถบน้ำสามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณที่เต็มไปด้วยแมลงอย่างป่าชายเลน

สำหรับองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากรากถอบแถบน้ำ โดยการศึกษาด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ไม่น้อยกว่า 19 สาร จากการยืนยันสูตรโครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางแมสสเปกตรัม และการเปรียบเทียบข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์สามารถยืนยันได้ว่ามี copaene, α -caryophyllene, dodecane และ phenyl acetonitrile เป็นองค์ประกอบ สำหรับไฮโดรคาร์บอนเชิงเส้นและเอทิลเอทิลเตตราควา มาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง ส่วนที่เหลือยังไม่ทราบสูตรโครงสร้างได้แก่ C₁₁H₂₄ , C₁₃H₂₈ , C₁₄H₃₀ , C₁₀H₁₄ , C₁₀H₈ , สารน้ำหนักโมเลกุล 126 , สารน้ำหนักโมเลกุล 154 , สารน้ำหนักโมเลกุล 170 , สารน้ำหนักโมเลกุล 208 , สารน้ำหนักโมเลกุล 88 และ สารอีก 3 ชนิดไม่ทราบน้ำหนักโมเลกุล

แผนภาพที่ 6 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดส่วนรากถอบแถบน้ำด้วยคลอโรฟอร์ม

สิ่งสกัดส่วนรากถอบแถบน้ำด้วยคลอโรฟอร์ม

โคโรมาโทกราฟีแบบต่าง ๆ , ซิลิกาเจล
(เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เมทานอล)

- | | | |
|--------------|-------------------------|---|
| <u>สาร ก</u> | ผลึกรูป rombik สีเหลือง | จุดหลอมเหลว 114-6 °C คือ กำมะถัน (S ₈) |
| <u>สาร ข</u> | ผลึกรูปสี่เหลี่ยมสีขาว | จุดหลอมเหลว 70-2 °C
คือ ของผสมของเอสเทอร์ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง |
| <u>สาร ค</u> | ผลึกรูปสี่เหลี่ยมสีขาว | จุดหลอมเหลว 65-6 °C
คือ ของผสมของกรดไขมันตรง (C ₂₀ -C ₂₈) |
| <u>สาร ง</u> | ผลึกรูปเข็มสีขาว | จุดหลอมเหลว 212-4 °C คือ lupeol |
| <u>สาร จ</u> | ผลึกรูปเข็มสีขาว | จุดหลอมเหลว 147-9 °C
คือ ของผสมของ β-sitosterol, campesterol และ stigmasterol |
| <u>สาร ฉ</u> | ผลึกรูปสี่เหลี่ยมสีขาว | จุดหลอมเหลว 73-4 °C
คือ ของผสมของแอลกอฮอล์ไขมันตรง (C ₂₁ -C ₂₈) |
| <u>สาร ช</u> | ผลึกรูปแท่งสีขาว | จุดหลอมเหลว 163-5 °C คือ rotenone |
| <u>สาร ซ</u> | ผลึกรูปเข็มสีเหลือง | จุดหลอมเหลว 213 °C (จุดสลายตัว)
คือ 6a,12a-dehydro-α-toxicarol |
| <u>สาร ฌ</u> | ผลึกรูปเข็มสีเหลือง | จุดหลอมเหลว 222 °C (จุดสลายตัว)
เป็นของผสมยังไม่บริสุทธิ์และยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง |