



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	แอริลเลชันของหมู่ α -เมทิลีน- γ -แลคโตนของเซสควิเทอพินที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ด้วยปฏิกิริยา Heck และความเป็นพิษต่อเซลล์ Arylation of α -methylene- γ -lactone moiety of natural sesquiterpenes using Heck reaction and evaluation of cytotoxic activities.
ชื่อนิสิต	นางสาวพรพิมล พงศ์พันธ์
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2560

แอริลเลชันของหมู่ α -เมทิลีน- γ -แลคโตนของเซสควิเทอพินที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วย
ปฏิกิริยา Heck และความเป็นพิษต่อเซลล์
Arylation of α -methylene- γ -lactone moiety of natural sesquiterpenes using Heck
reaction and evaluation of cytotoxic activities.

โดย
นางสาวพรพิมล พงศ์พันธ์

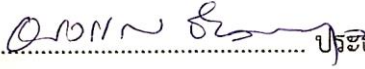
รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560

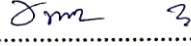
โครงการ แอริลเลชันของหมู่ α -เมธิลีน- γ -แลคโตนของเซสควิเทอปีนที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วย
ปฏิกิริยา Heck และความเป็นพิษต่อเซลล์

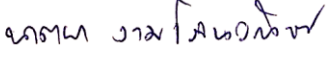
โดย นางสาวพรพิมล พงศ์พนัส

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.อรวรรณ ชัยลภากุล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พุดหอม)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นัตยา งามโรจนวิชัย)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ แอริลเลชันของหมู่ α -เมธิลีน- γ -แลคโตนของเซสควิเทอพีนที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยปฏิกิริยา Heck และความเป็นพิษต่อเซลล์

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวพรพิมล พงศ์พนัส เลขประจำตัว 5733133323

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พุดหอม

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์สารอนุพันธ์จากสารสกัดที่แยกได้จากรากโกฐกระดุก (*Saussurea lappa* Clarke) โดยการนำส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดุก มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี เพื่อได้สารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ costunolide (1) ซึ่งเป็นสารเซสควิเทอพีนที่มีหมู่ α -methylene- γ -lactone ในโครงสร้าง ต่อมาพบว่าหมู่ฟังก์ชันนี้เป็นหมู่จำเป็นสำหรับการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ จึงทำการปิดวงของสารเนื่องจาก costunolide มีการเสถียรภาพได้ง่าย ได้เป็นสาร α -cyclocostunolide (2) ที่ยังคงมีหมู่ α -methylene- γ -lactone จากนั้นนำสารที่ได้มาเติมหมู่แอริลต่างๆ ด้วยปฏิกิริยา Heck และวิเคราะห์โครงสร้างด้วย $^1\text{H-NMR}$ ได้ผลิตภัณฑ์ที่ให้ทั้ง E- และ Z-isomer จากนั้นนำสารที่สังเคราะห์ได้นั้นไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 และเซลล์ลำไส้ปกติ CCD-841 ด้วยเทคนิค MTT พบว่า สาร 9, 14, 16 และ 17 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารตั้งต้น α -cyclocostunolide และยังเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ปกติที่น้อยกว่าอีกด้วย

คำสำคัญ: โกฐกระดุก, ความเป็นพิษต่อเซลล์, sesquiterpene lactone, α -cyclocostunolide, ฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง

Project Title Arylation of α -methylene- γ -lactone moiety of natural sesquiterpenes using Heck reaction and evaluation of cytotoxic activities.

Student Name Miss Ponpimon Pongpanus ID 5733133323

Advisor Name Associate Professor Dr. Khanitha Pudhom

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

This research studied on the synthesis of derivatives of sesquiterpene lactones isolated from *Saussurea lappa*. The crude hexane extract was purified by column chromatography to obtain the main constituent, costunolide (**1**), which is a sesquiterpene possessing α -methylene- γ -lactone moiety. It was further realized that this functional group needs for biological activity; however, costunolide is easily degradable and hardly handle. To overcome the problem, the compound was modified by a ring closure to its derivative, α -cyclocostunolide (**2**) containing all functional groups as in costunolide with higher stability. Further, compound **2** was subjected to Heck reaction to add various aryl groups at its α -methylene- γ -lactone moiety. The structures of the products were elucidated from $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. Products were both E and Z isomer. Then, the synthesized compounds were evaluated for their cytotoxicity against colon cancer HCT116 and normal colon CCD-841 cell lines by MTT assay. Compounds **9**, **11**, **14**, **15**, **16** and **17** displayed cytotoxicity on HCT-116 better than α -cyclocostunolide, but lower toxic to normal colon cells.

Keywords: *Saussurea lappa*, cytotoxicity, sesquiterpene lactone, α -cyclocostunolide, anticancer activity

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พุดหอม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่ง ในการเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการเคมี เครื่องมือ สารเคมีในการทำวิจัย ตลอดจนถึงการเขียนรายงานฉบับนี้จนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.อรรธรณ ชัยลภากุล และ รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

โครงการนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากโครงการการเรียนการสอนเพื่อนเสริมประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2560 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
สารบัญภาคผนวก	ฎ
สัญลักษณ์และคำย่อ	
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 สมุนไพรกับการรักษาโรค	1
1.2 โภษะเภทยา	1
1.2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของรากโภษะเภทยา	2
1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
1.3.1 ปฏิกริยา Heck	3
1.3.2 ปฏิกริยา Arylation	4
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1.5 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	8
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2 การทดลอง	9
2.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง	9
2.2 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	9
2.2.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง	9
2.2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	9
2.3 สารเคมี	9
2.3.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับแยกสารบริสุทธิ์	9
2.3.2 สารเคมีที่ใช้ดัดแปลงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์	10
2.3.3 ตัวทำละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย NMR Spectrophotometer	10
2.3.4 สารเคมีที่ใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง	10
2.4 เซลล์ไลน์สำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	10
2.5 เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง	11

สารบัญ

หน้า

2.5.1 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)	11
2.5.2 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography, TLC)	13
2.6 ขั้นตอนการทดลอง	13
2.6.1 การแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดุก	13
2.7 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ costunolide	13
2.7.1 ปฏิกิริยาปิดวง (ring closure) ของสารประกอบ costunolide	13
2.8 การดัดแปลงโครงสร้างของ α -cyclocostunolide ด้วยปฏิกิริยา Heck	13
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	15
3.1 การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดุก	15
3.2 การสังเคราะห์ α -cyclocostunolide	17
3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอริลของสาร α -cyclocostunolide ด้วยปฏิกิริยา Heck	21
3.4 ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์สารประกอบ α -cyclocostunolide	24
3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	26
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	30
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	34
ประวัติผู้วิจัย	59

สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
3.1	ข้อมูล ^1H NMR ของสาร (1) และ costunolide	16
3.2	ข้อมูล ^1H ของสารประกอบ (2) และ α -cyclocostunolide	19
3.3	แสดง % yield ของสารอนุพันธ์ α -cyclocostunolide	22
3.4	แสดงค่า IC_{50} ของ α -cyclocostunolide และอนุพันธ์	28



สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
1.1 รากโกฐกระดูก	2
1.2 ต้นโกฐกระดูก	2
1.3 ปฏิกริยา Heck	3
1.4 แสดงกลไกปฏิกริยา Heck	4
1.5 ปฏิกริยา arylation โดยมีโลหะพาลาเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกริยา	4
1.6 11,13-epoxydehydrocostuslactone, 11, 13-epoxyisozaluzanin และ 11, 13-epoxy-3-keto dehydrocostus-lactone	5
1.7 cynaropicrin, reynosin, และ santamarine	5
1.8 costunolide และ dehydrocostuslactone	5
1.9 α -benzylidene- γ -lactones	6
1.10 สารในกลุ่ม tetracyclic diterpenoids	6
1.11 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ dehydrocostus lactone ด้วยปฏิกริยา Heck	6
1.12 cynaropicrin	7
1.13 อนุพันธ์ของ costunolide	
1.14 การสังเคราะห์อนุพันธ์ E-1-aryl-2-perfluoroalkylsulfinylethylenes ด้วยปฏิกริยา Heck	7
2.1 การสกัดแยกสาร costunolide จากสารสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดูก	12
2.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ costunolide ด้วยปฏิกริยา Cyclicization	13
2.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอริลของ α -cyclocostunolide	13
2.4 แสดงสารประกอบเอริลเฮไลด์ต่างๆที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ α -cyclocostunolide	14
3.1 โครงสร้างของสารประกอบ (1)	15
3.2 เปรียบเทียบโครงสร้างของ costunolide และ α -cyclocostunolide ที่มีหมู่ α -methylene- γ -lactone ซึ่งมีผลต่อการออกฤทธิ์	17
3.3 แสดงปฏิกริยาปัดวงของ costunolide และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น	17
3.4 กลไกการเกิดปฏิกริยาที่กระตุ้นด้วยกรดของ costunolide	18
3.5 โครงสร้างของสารประกอบ (2)	19
3.6 ปฏิกริยา Heck ของ α -cyclocostunolide	20
3.7 ปฏิกริยา Heck ของ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene	20
3.8 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ E-isomer ของอนุพันธ์ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene	21

สารบัญรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
3.9	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ Z-isomer ของอนุพันธ์ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene	21
3.10	กราฟแสดงการหาค่า IC_{50} ในเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116	26
3.11	กราฟแสดงการหาค่า IC_{50} ในเซลล์มะเร็งลำไส้ CCD-841	27

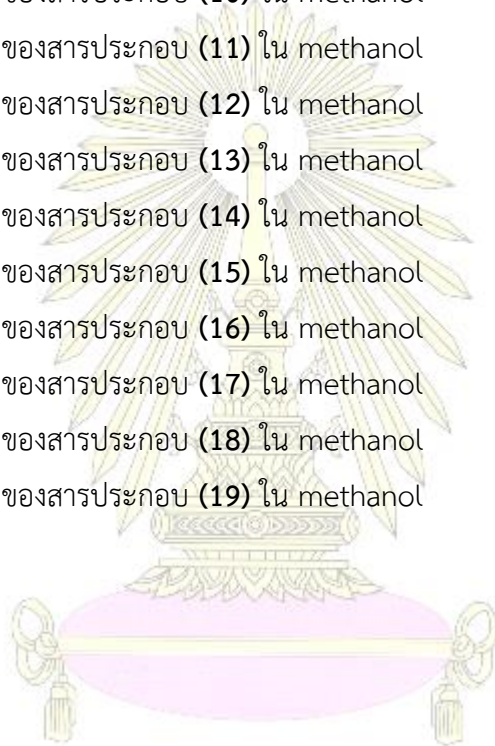


สารบัญภาคผนวก

รูปที่		หน้า
A.1	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ costunolide ใน CDCl_3	35
A.2	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ α -cyclocostunolide ใน CDCl_3	35
A.3	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (5) ใน CDCl_3	36
A.5	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (6) ใน CDCl_3	37
A.6	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (6) ใน CDCl_3	37
A.7	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (7) ใน CDCl_3	38
A.8	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (7) ใน CDCl_3	38
A.9	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (8) ใน CDCl_3	39
A.10	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (8) ใน CDCl_3	39
A.11	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (9) ใน CDCl_3	40
A.12	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (9) ใน CDCl_3	40
A.13	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (10) ใน CDCl_3	41
A.14	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (10) ใน CDCl_3	41
A.15	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (11) ใน CDCl_3	42
A.16	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (11) ใน CDCl_3	42
A.17	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (12) ใน CDCl_3	43
A.18	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (12) ใน CDCl_3	43
A.19	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (13) ใน CDCl_3	44
A.20	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (13) ใน CDCl_3	44
A.21	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (14) ใน CDCl_3	45
A.22	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (14) ใน CDCl_3	45
A.23	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (15) ใน CDCl_3	46
A.24	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (15) ใน CDCl_3	46
A.25	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (16) ใน CDCl_3	47
A.26	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (16) ใน CDCl_3	47
A.27	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (17) ใน CDCl_3	48
A.28	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (17) ใน CDCl_3	48
A.29	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (18) ใน CDCl_3	49
A.30	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (18) ใน CDCl_3	49
A.31	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (19) ใน CDCl_3	50

สารบัญภาคผนวก

รูปที่		หน้า
A.32	สเปกตรัม ^{13}C -NMR ของสารประกอบ (19) ใน CDCl_3	50
A.33	Mass Spectrum ของสารประกอบ (5) ใน methanol	51
A.34	Mass Spectrum ของสารประกอบ (6) ใน methanol	51
A.35	Mass Spectrum ของสารประกอบ (7) ใน methanol	52
A.36	Mass Spectrum ของสารประกอบ (8) ใน methanol	52
A.37	Mass Spectrum ของสารประกอบ (9) ใน methanol	53
A.38	Mass Spectrum ของสารประกอบ (10) ใน methanol	53
A.39	Mass Spectrum ของสารประกอบ (11) ใน methanol	54
A.40	Mass Spectrum ของสารประกอบ (12) ใน methanol	54
A.41	Mass Spectrum ของสารประกอบ (13) ใน methanol	55
A.42	Mass Spectrum ของสารประกอบ (14) ใน methanol	55
A.43	Mass Spectrum ของสารประกอบ (15) ใน methanol	56
A.44	Mass Spectrum ของสารประกอบ (16) ใน methanol	56
A.45	Mass Spectrum ของสารประกอบ (17) ใน methanol	57
A.46	Mass Spectrum ของสารประกอบ (18) ใน methanol	57
A.47	Mass Spectrum ของสารประกอบ (19) ใน methanol	58



อธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$^1\text{H-NMR}$	proton nuclear magnetic resonance
$^{13}\text{C-NMR}$	carbon nuclear magnetic resonance
J	coupling constant
s	singlet (NMR)
d	doublet (NMR)
dd	doublet of doublet (NMR)
t	triplet (NMR)
Hz	hertz
%	percent
TLC	thin layer chromatography
g	กรัม
mg	มิลลิกรัม
μL	ไมโครลิตร
μM	ไมโครโมลาร์



บทที่ 1

บทนำ

1.1 สมุนไพรกับการรักษาโรค

ในยุคที่มีความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีต่างๆอย่างมากมาย เพื่อที่จะพัฒนาคุณภาพชีวิตให้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม อัตราการเสียชีวิตและการเจ็บป่วยของประชากรด้วยโรคร้ายก็เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง สาเหตุหนึ่งอาจมาจากผลกระทบจากเทคโนโลยีที่พัฒนาไปอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกิดมลพิษต่าง ๆ ทำให้สภาพอากาศเปลี่ยนแปลงไป มีเชื้อโรคสายพันธุ์ใหม่ ๆ เกิดขึ้น นอกจากนี้ ความเสี่ยงของโรคร้ายต่างๆ ยังมาจากปัจจัยอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็น พฤติกรรมอนามัยของประชาชนที่ไม่เหมาะสม เช่น พฤติกรรมการขาดการออกกำลังกาย พฤติกรรมการเสพสารเสพติดหรือพฤติกรรมที่เป็นผลจากความเครียด สาเหตุ เนื่องมาจากความคิด ความเชื่อ ค่านิยม แบบแผนการดำเนินชีวิตและปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ เป็นต้น ดังนั้นมนุษย์จึงต้องการพัฒนาด้านการแพทย์ เพื่อรักษาโรคให้บรรเทาและหายขาดในที่สุด

สมุนไพรเป็นยาพื้นบ้านแผนโบราณของไทยมาตั้งแต่อดีต ความนิยมในการใช้สมุนไพรได้ลดลงไปบ้างเมื่อเทคโนโลยีทางการแพทย์และเภสัชศาสตร์สมัยใหม่ได้ก้าวหน้าขึ้น แต่อย่างไรก็ดี ในปัจจุบันการรักษาสุขภาพด้วยวิธีแห่งธรรมชาติเป็นที่นิยมและแพร่หลายอย่างมาก ซึ่งจากการศึกษาค้นคว้า ได้ข้อมูลที่เป็นที่ยอมรับว่าสมุนไพรให้คุณประโยชน์ที่ดีในการรักษาโรค และจากการตระหนักได้ว่า ในสมัยก่อนที่ทางการแพทย์จะมีความก้าวหน้า คนในสมัยโบราณก็ใช้ยาสมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ รวมไปถึงมีการใช้สารเหล่านี้เป็นต้นแบบในการพัฒนายาชนิดใหม่ ๆ ด้วย ประกอบกับประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติอันอุดมสมบูรณ์ มีพืชสมุนไพรได้อย่างมากมาย ดังนั้นพืชสมุนไพรไทยจึงเป็นแหล่งที่ดีสำหรับสารทุติยภูมิที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ

1.2 โกลฐกระดูก

โกลฐกระดูก (*Saussurea lappa* Clarke) เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นยาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยเฉพาะส่วนของรากที่มีกลิ่นหอม มีสรรพคุณทางยาอย่างหลากหลาย ซึ่งออกฤทธิ์ต่อปอด กระจายอาหาร ลำไส้ใหญ่ และตับ พบว่าสารสกัดจากรากโกลฐกระดูกมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิต ลดระดับคอเลสเตอรอล กระตุ้นการเจริญอาหาร ขับพยาธิ การเกิดแผลในกระเพาะอาหาร กระตุ้นการบีบตัวของกระเพาะและลำไส้ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านการเกิดออกซิเดชัน ขับน้ำดี ต้านการเกิดพิษต่อตับ ต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย¹¹ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบหลักในรากโกลฐกระดูก เป็นสารกลุ่มเซสควิเทอเพิน แลคโตน (sesquiterpene lactones) ที่มีชื่อว่า costunolide เป็นต้น

ดังนั้นรากของโกลฐกระดูกจึงเป็นแหล่งของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทเซสควิเทอเพิน ที่น่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี โดยเฉพาะความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง⁴ และด้วยภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชพันธุ์ต่างๆ ประกอบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับรากโกลฐกระดูกในประเทศไทยยังมีอยู่น้อย งานวิจัยนี้จึง

สนใจจะแยกสารเซสควิเทอปีนที่เป็นองค์ประกอบของรากโกฐกระดูกและนำมาปรับปรุงโครงสร้างเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

1.2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของรากโกฐกระดูก



รูปที่ 1.1 รากโกฐกระดูก



รูปที่ 1.2 ต้นโกฐกระดูก

ชื่อพืชให้เครื่องยา

โกฐกระดูก

ชื่อพ้อง

บักเฮียง (จีนแต้จิ๋ว), มู่เซียง (จีนกลาง)

ชื่อวิทยาศาสตร์

Saussurea lappa Clarke

ชื่อวงศ์

Compositae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ :

- ต้น จัดเป็นพรรณไม้ล้มลุกอายุหลายปี มีความสูงได้ประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นมีขนาดเล็กและมีขนขึ้นปกคลุม ไม่แตกกิ่งก้านสาขา
- ใบ ใบมีขนาดใหญ่ เป็นใบเดี่ยวคล้ายรูปสามเหลี่ยม โคนใบเว้าเข้าหากัน ส่วนขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อยลักษณะคล้ายหนาม หน้าใบเป็นสีเขียวและมีขนหยาบ ๆ ขึ้นปกคลุม ส่วนหลังใบเป็นสีเขียวอ่อนอมเหลือง ใบมีขนาดกว้างประมาณ 15-30 เซนติเมตร และยาวประมาณ 100 เซนติเมตร ก้านใบยาว
- ดอก ดอกเป็นสีม่วงเข้ม โดยจะออกติดกับโคนใบ ก้านดอกยาวประมาณ 30-100 เซนติเมตร เป็นเหลี่ยม ๆ เล็ก ๆ ในดอกหนึ่งจะมีกลีบดอก 10 ชั้น เป็นรูปสามเหลี่ยม กลีบดอกยาวประมาณ 9-25 มิลลิเมตร ดอกมีเกสรเพศผู้ 5 อัน ลักษณะคล้ายดอกบานไม่รู้โรย ดอกขาว ดอกสีม่วงเข้ม เป็นดอกเดี่ยว
- ผล ผลมีลักษณะเป็นเส้นแบน ยาว 6 มิลลิเมตร เมื่อผลแก่จะแตกออก
- ราก คือส่วนที่นำมาใช้เป็นยาและเรียกว่า “โกฐกระดูก” โดยจะเป็นรากสะสมอาหารที่มีขนาดใหญ่ รากเป็นสีเทาถึงสีน้ำตาล มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมยาวเป็นรูปกระสวย คล้ายกระดูก เนื้อแข็ง มีความยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-5

เซนติเมตร ผิวด้านนอกเป็นสีน้ำตาลอมเหลืองถึงสีน้ำตาลอมเทา หรือเป็นสีน้ำตาลไหม้ มีรอยย่นชัดเจนและมีร่องตามยาว ผิวนอกมีร่องไขว้ไปมาคล้ายร่างแห ส่วนด้านข้างมีรอยแผลเป็นรากลึก แขนง เนื้อแข็งและหักยาก รอยหักเป็นสีน้ำตาลอมเทาถึงสีน้ำตาลเข้ม พบรากลึกบางเล็กน้อยเมื่อนำมาผ่าตามแนวขวาง เนื้อในรากจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนนอกที่บางกว่า และส่วนในที่เป็นเนื้อราก ซึ่งจะมีสีจางกว่า วงแคมเปียมสีน้ำตาล และมีลายเส้นตามแนวรัศมี ส่วนเนื้อตรงกลางจะยุบตัวลงและมีรูพรุน ตามตำรายาไทยว่ามีรสขม หวาน มัน มีกลิ่นหอมเฉพาะ ตำรายาโบราณบางเล่มก็เรียกสมุนไพรชนิดนี้ว่า “โกฐหอม” เนื่องจากมีกลิ่นหอมที่ชวนดม

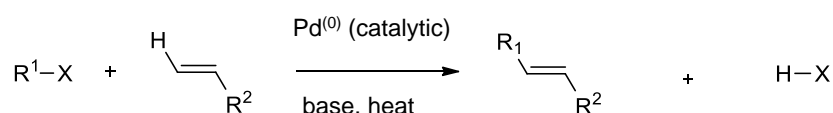
สรรพคุณทางยา :

รากโกฐกระดูกมีรสเผ็ดขม มีกลิ่นหอม เป็นยาสุขุมออกฤทธิ์ต่อปอด กระเพาะอาหาร ลำไส้ใหญ่ และตับ ใช้เป็นยาบำรุงโลหิต ใช้เป็นยาไขมันในเลือด ลดน้ำตาลในเลือด ช่วยบำรุงกระดูก นอกจากนั้น รากมีสรรพคุณเป็นยาแก้ลมวิงเวียน หน้ามืด ตาลาย ตำรายาไทยใช้รากปรุงเป็นยาหอมรับประทานแก้ลมวิงเวียน หน้ามืด ตาลาย ขับลมในลำไส้ และแก้โรคโลหิตจาง

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

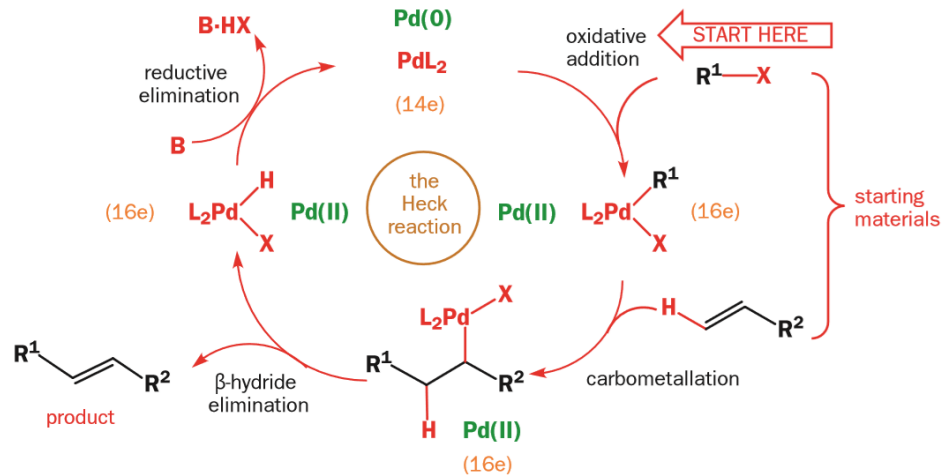
1.3.1 ปฏิกิริยา Heck¹⁶

เป็นปฏิกิริยาเชื่อมพันธะคาร์บอนระหว่างสารประกอบแอลคีน และ unsaturated halide ได้แก่ aryl, benzyl, alkyl (ที่ไม่มี β -Hydrogen) โดยมีเบสและพาลาเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง และได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบแอลคีนที่มีจำนวนคาร์บอนเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 ปฏิกิริยา Heck

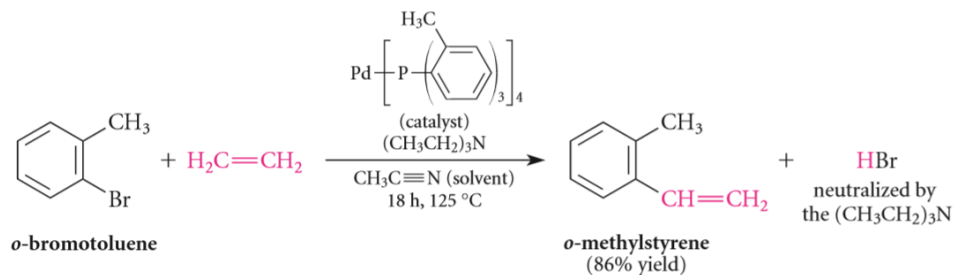
โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาในช่วงแรกนั้น จะเป็นปฏิกิริยา oxidative addition ด้วย $\text{Pd}^{(0)}$ ของสารประกอบ halide จากนั้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับแอลคีนได้เป็นสารประกอบโคออดิเนต และ $\text{Pd}^{(II)}$ จากนั้นเกิด β -hydride elimination ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบแอลคีน จากนั้นเบสจะเข้าไปดึงไฮโดรเจนเฮไลด์ออกจากพาลาเดียม ($\text{Pd}^{(II)}$) ได้ $\text{Pd}^{(0)}$ เช่นเดิม โดยเบสที่นิยมใช้ ได้แก่ triethylamine และ inorganic carbonates ปฏิกิริยานี้จึงเป็นปฏิกิริยาที่สามารถนำตัวเร่งมาใช้ใหม่ได้อย่างไรก็ตามปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นโดยกลไกที่แตกต่างกันมากและไม่เกิดขึ้นโดยไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 แสดงกลไกปฏิกิริยา Heck

1.3.2 ปฏิกิริยา Arylation¹⁷

เป็นกลไกการเกิดแบบ Heck reaction เนื่องจากการเกิดพันธะระหว่างคาร์บอน-คาร์บอนของสารประกอบประเภท aryl halide ไม่สามารถเกิดผ่านปฏิกิริยา $\text{S}_{\text{N}}1$ และ $\text{S}_{\text{N}}2$ ได้ ดังนั้นการเกิด nucleophilic substitution ของสารประกอบ aryl จึงทำได้โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา รูป 1.3 เป็นตัวอย่างการเกิดปฏิกิริยา arylation โดยมีโลหะพาลาเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

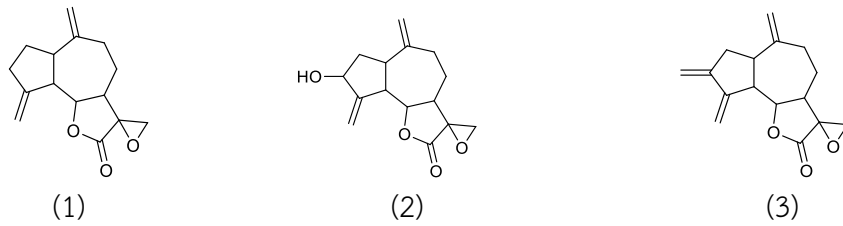


รูปที่ 1.5 ปฏิกิริยา arylation โดยมีโลหะพาลาเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

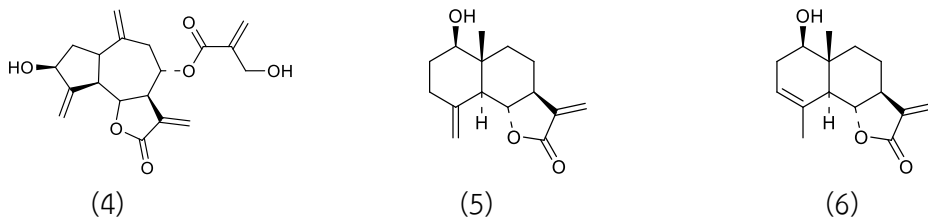
ในปี 1995 Hua-Chien Chen และคณะ¹ พบว่าสารสกัดจากรากโกฐกระดูกซึ่งแพทย์แผนจีนโบราณใช้ในการรักษาโรควงเวียนศีรษะ มีองค์ประกอบที่สำคัญ 2 องค์ประกอบซึ่งมีฤทธิ์ในฤทธิ์ในการยับยั้งการแสดงออกของแอนติเจนบนพื้นผิวตัวอักเสบบี (HBsAg) ในเซลล์ตับแข็งของมนุษย์

ในปี 1997 B. R. Chhabra และคณะ² พบสารในกลุ่ม guaianolides ชนิดใหม่ 3 ชนิด ได้แก่ 11,13-epoxydehydrocostuslactone, 11,13-epoxyisozaluzanin และ 11,13-epoxy-3-keto dehydrocostus-lactone ซึ่งได้มาจากการสกัดรากโกฐกระดูกโดยตัวทำละลายเบนซีน



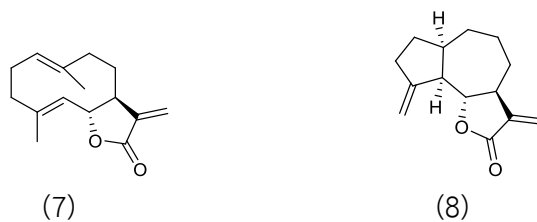
รูปที่ 1.6 11,13-epoxydehydrocostuslactone, 11, 13-epoxyisozaluzanin และ 11, 13-epoxy-3-keto dehydrocostus-lactone

ในปี 1997 Jae Youl Cho และคณะ³ พบว่าสารที่ได้จากการสกัดรากโกฐกระดูกด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเนื้องอกชนิด TNF- α ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม sesquiterpene lactones ได้แก่ cynaropicrin, reynosin และ santamarine



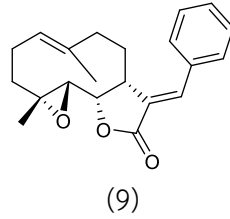
รูปที่ 1.7 cynaropicrin, reynosin, และ santamarine

ในปี 2003 Chang-Ming Sun และคณะ⁴ พบว่าสารประกอบในกลุ่ม sesquiterpene lactones ที่ได้จากรากโกฐกระดูกที่มีประสิทธิภาพในความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุด ได้แก่ costunolide และ dehydrocostuslactone ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างของโมเลกุล ส่วนของ α -methylene- γ -lactone มีความจำเป็นต่อฤทธิ์ในการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ในขณะที่หมู่ hydroxy จะลดคุณสมบัติของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง



รูปที่ 1.8 costunolide และ dehydrocostuslactone

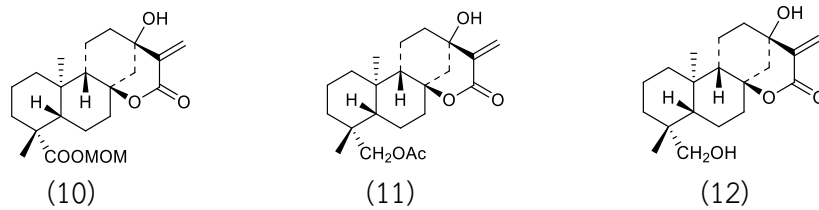
ในปี 2009 Changho Han และคณะ⁵ ได้เปิดเผยว่าการสังเคราะห์ α -benzylidene- γ -lactones ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ sesquiterpene lactone โดยการเติมหมู่แอลคิลต่างๆ ด้วยปฏิกิริยา Heck พบว่าให้ผลิตภัณฑ์ที่ดีในโครงสร้างแบบ E-olefin และอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้นี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการต้านสารอนุมูลอิสระ



รูปที่ 1.9 α -benzylidene- γ -lactones

ในปี 2010 J. Matejic และคณะ⁶ เปิดเผยว่า สารในกลุ่มเซสควิเทอเพิน แลคโตน ที่มีองค์ประกอบเป็นวง α,β -unsaturated- γ -lactone จะมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งแบคทีเรีย ยับยั้งไวรัส รวมไปถึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถยับยั้งมะเร็งได้

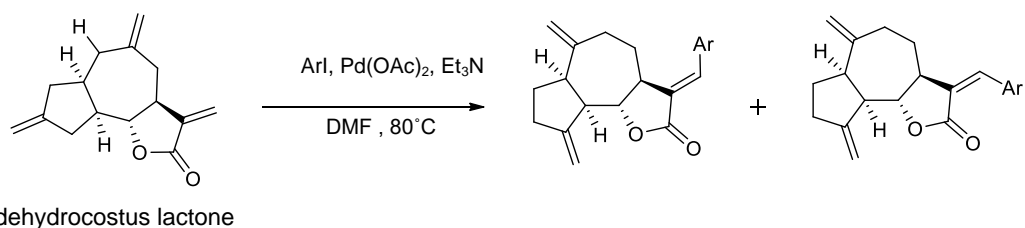
ในปี 2012 Yao-fuzeng และคณะ⁷ พบว่าเมื่อสังเคราะห์สารในกลุ่ม tetracyclic diterpenoids ที่มีส่วน α -methylene lactone อยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็ง และพิสูจน์ว่า α -methylene lactone เป็นส่วนจำเป็นในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ



รูปที่ 1.10 สารในกลุ่ม tetracyclic diterpenoids

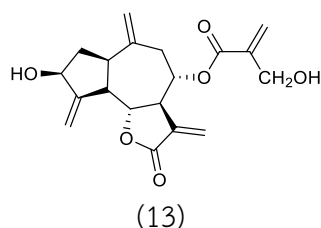
ในปี 2013 Young-Kyung Choi และคณะ⁸ พบว่า costunolide และอนุพันธ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม นอกจากนี้ ยังยับยั้งการเหนี่ยวนำเซลล์ NF- κ B โดย TNF- α จากงานวิจัยนี้จึงคาดการณ์ว่า costunolide น่าจะนำไปพัฒนาเป็นยา เพื่อรักษาโรคมะเร็งได้

ในปี 2013 Ya-Hui Ding และคณะ⁹ ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ guaianolide ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม sesquiterpene lactones โดยการทำ arylation โดยผ่านปฏิกิริยา Heck และได้ผลิตภัณฑ์เป็น E- และ Z-isomer ซึ่งออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด HL-60 และ HL-60/A ได้



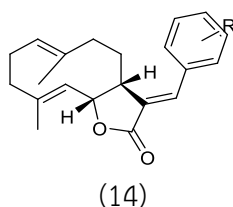
รูปที่ 1.11 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ dehydrocostus lactone ด้วยปฏิกิริยา Heck

ในปี 2014 Hua WEI และคณะ¹⁰ พบว่า costunolide, dehydrocostuslactone และ cynaropicrin ที่ได้จากรากโกฐกระดุก มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบและคาดว่าสามารถนำสารเหล่านี้ไปพัฒนาเป็นยา เพื่อนำมาใช้รักษาโรคหลอดเลือดอักเสบ, โรคหอบหืด นอกจากนี้ยังคาดว่า costunolide และ dehydrocostuslactone สามารถนำไปพัฒนาเป็นยาเพื่อรักษาโรคมะเร็งได้



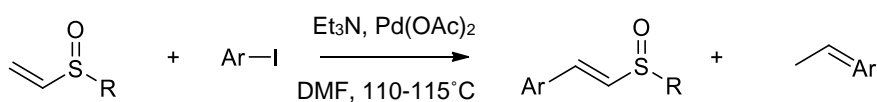
รูปที่ 1.12 cynaropicrin

ในปี 2015 P. R. Rao Vadaparth และคณะ¹¹ เปิดเผยว่า costunolide ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่ได้จากรากโกฐกระดุก เมื่อนำมาเติมหมู่เอริล ด้วยปฏิกิริยา Heck พบว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้น ซึ่งสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้



รูปที่ 1.13 อนุพันธ์ของ costunolide

ในปี 2015 L. V. Sokolenko และคณะ¹² ได้ค้นพบว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมที่สุด ในการสังเคราะห์สารประกอบระหว่าง perfluoroalkyl vinyl sulfoxides และ aryl iodides ด้วยปฏิกิริยา Heck คือพาลาเดียมอะซิเตต โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีโดยรูปแบบโครงสร้างเป็น E-1-aryl-2-perfluoroalkylsulfinylethylenes และผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นจะไม่มีหมู่ perfluoroalkylsulfinyl ในโครงสร้าง



รูปที่ 1.14 การสังเคราะห์อนุพันธ์ E-1-aryl-2-perfluoroalkylsulfinylethylenes ด้วยปฏิกิริยา Heck

1.5 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. สังเคราะห์อนุพันธ์แอริลของ α -cyclocostunolide ที่ได้จาก costunolide จากรากโกฐกระตุก
2. พิสูจน์โครงสร้างของสารที่ได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปีต่างๆ
3. ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของโครงสร้างต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจของสารจากรากโกฐกระตุก ซึ่งอาจนำไปเป็นข้อมูลประกอบในการพัฒนายาต่อไปได้

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

รากโกฐกระดูกแห้ง (*Saussurea lappa* Clarke)

2.2 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

2.2.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

- ปีกเกอร์
- หลอดทดลอง
- กระจกนาฬิกา
- สำลี
- ขวดไวแอล (Vial)
- กรวยแก้ว
- ไมโครปิเปต
- TLC Aluminium Sheets Silica Gel 60 F254
- หลอดแคปิลลารี
- กระจกตวง
- ขวดรูปกรวย
- แท่งแก้วคนสาร
- ซ้อนตักสาร
- ขวดก้นกลม
- หลอดหยด

2.2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vaccum evaporator) รุ่น Eyela rotary evaporator N – 1000 บริษัท Tokyo Rikakikai และรุ่น Büchi rotavapor R-114, Switzerland
- เครื่องชั่งน้ำหนักรุ่น Sartorius Basic ของบริษัท Scientific promotion
- ปุ่ม diaphragm (Büchi Vac® V-500, Switzerland)
- ตู้อบ (Mement UM 500 , BEC, Thailand)
- Sonicator (Branson, USA)
- Safety Laboratory Hood (Asia chemical and engineering Co.,Ltd, Thailand)
- เครื่องให้ความร้อน (Hot plate) ของบริษัท IKA Labortechnik
- Nuclear Magnetic Resonances Spectrophotometer YH 400 ของบริษัท Bruker
- Microplate reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น POWERWAVE XS2

2.3 สารเคมี

2.3.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับแยกสารบริสุทธิ์

- ซิลิกาเจล เบอร์ 9385 และเบอร์ 7734 จากบริษัท Merck
- ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตต, อะซิโตน, เบนซีน,

เอทานอล และเมทานอล

- แอมโมเนียมโมลิบเดตใน 5% กรดซัลฟิวริก เป็นสารละลายที่ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์บนแผ่น TLC เพื่อให้เห็นจุดของสารบนแผ่น TLC ได้ชัดเจน

2.3.2 สารเคมีที่ใช้ตัดแปลงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

- ไดคลอโรมีเทน (Dichlorometane)
- เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate, EtOAc)
- p-TsOH (p-Toluenesulfonic acid)
- sodium bicarbonate (NaHCO_3)
- sodium sulphate (ahh, Na_2SO_4)
- triethylamine (Et_3N)
- palladium(II) acetate ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$)
- iodobenzene
- 1-chloro-4-iodobenzene
- 1-fluoro-4-iodobenzene
- 1-bromo-4-iodobenzene
- 1-iodo-4-nitrobenzene
- 4-iodophenol
- 4-iodobenzotrifluoride
- 4-iodotoluene

2.3.3 ตัวทำละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย NMR Spectrophotometer

- CDCl_3 (chloroform-D)

2.3.4 สารเคมีที่ใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง

- dimethyl sulfoxide (DMSO, cell culture grade)

2.4 เซลล์ไลน์สำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

- เซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116
- เซลล์ลำไส้ปกติ CCD-841

2.5 เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง

2.5.1 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

เป็นเทคนิคการแยกสารที่ผสมกันอยู่ออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างในการกระจายตัวที่ไม่เท่ากันของสารในวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) หรือตัวดูดซับ และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวทำละลาย ในงานวิจัยนี้ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ซึ่งจะถูกรวบรวมบรรจุลงในคอลัมน์แก้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการแยก โดยวิธีบรรจุแบบเปียก (wet packing) จากนั้นจึงเติมสารผสมที่ต้องการแยกลงไปด้านบนของคอลัมน์ ซึ่งสารผสมจะผ่านคอลัมน์อย่างช้าๆ ก่อนที่จะเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไปเพื่อเป็นตัวพาสารเคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับในคอลัมน์ ทำให้เกิดการแยกของสารที่มีสภาพขั้วแตกต่างกันเป็นแถบสารชั้น สารที่ถูกดูดซับไว้ได้ดี (สารที่มีขั้วสูง) จะออกมาจากคอลัมน์ที่บรรจุซิลิกาได้ช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับได้ไม่ดี (สารที่ขั้วต่ำ) หลังจากนั้น เก็บองค์ประกอบของสารที่แยกได้

2.5.2 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography, TLC)

โครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (TLC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบสารที่รวดเร็ว สะดวก ใช้ในการตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมี ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารระหว่างกระบวนการแยกสารในขั้นตอนต่างๆ ใช้ในการยืนยันชนิดของสาร และสามารถตรวจหาจำนวนองค์ประกอบในของผสม หลักการของ TLC นั้น คือ วัฏภาคนิ่งจะถูกเคลือบติดไว้ที่แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติกบางๆ สารจะถูกแต้มไว้ที่ใกล้ๆ ปลายด้านหนึ่งของแผ่นโดยใช้หลอดแคปิลลารี จากนั้นจึงนำแผ่นดังกล่าวไปวางลงในภาชนะที่ใส่วัฏภาคเคลื่อนที่ไว้ต้น ๆ เมื่อตัวทำละลายถูกดูดซึมขึ้นไปตามตัวดูดซับด้วย capillary action ก็พาสารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคนิ่ง และใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่แต่ถูกดูดซับด้วยวัฏภาคนิ่งได้น้อยจึงเคลื่อนที่ไปได้ดีด้วยระยะที่มากกว่าสารที่มีขั้วสูงซึ่งละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ได้น้อยแต่ดูดซับบนวัฏภาคนิ่งได้ดี เนื่องจากใช้สารปริมาณน้อยมากในการแยก เทคนิค TLC จึงเหมาะสมเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ มากกว่าที่จะเป็นเครื่องมือในการแยกสารเพื่อเก็บแต่ละองค์ประกอบ

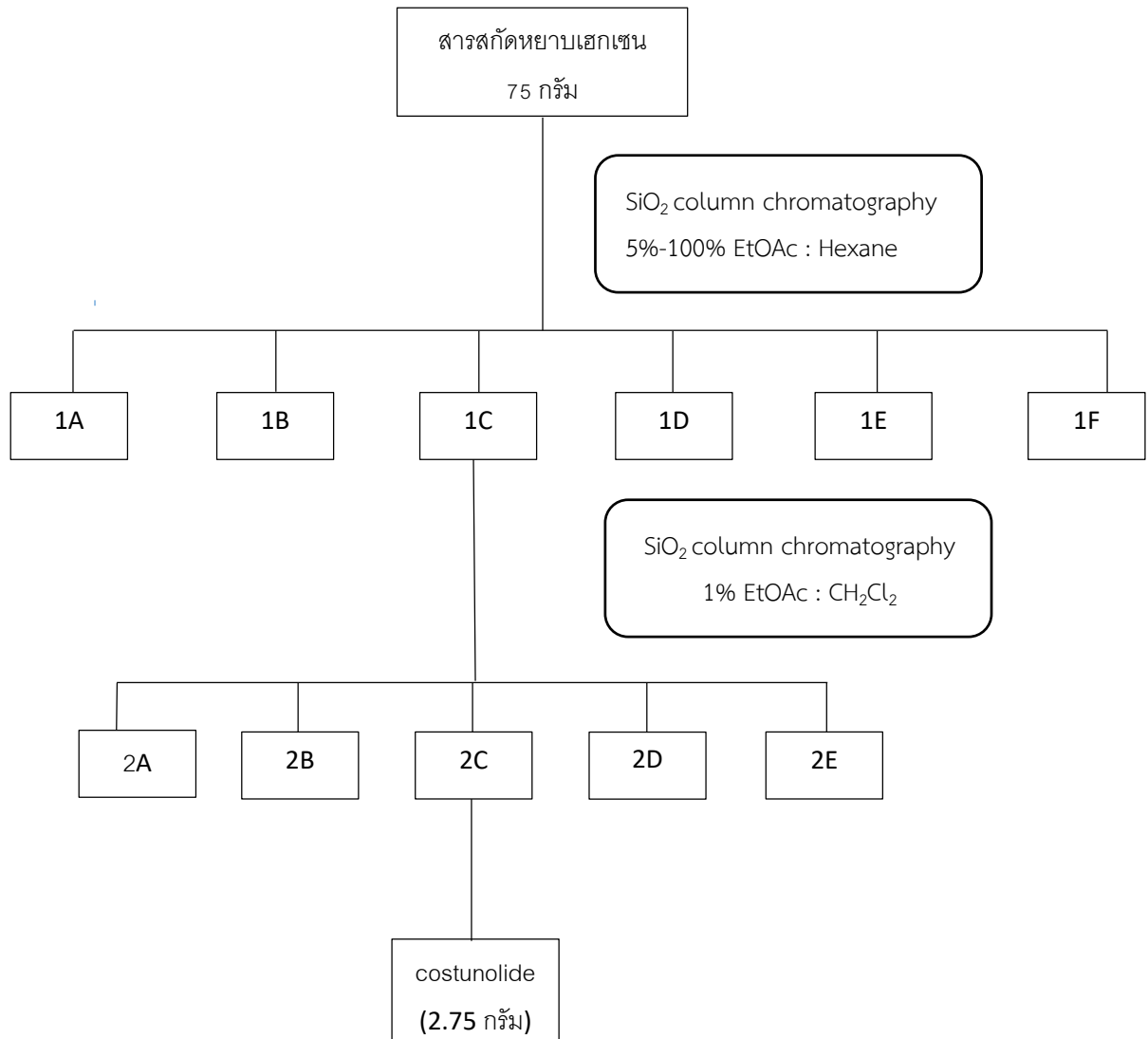
2.6 ขั้นตอนการทดลอง

2.6.1 การแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดูก

1. แบ่งสารสกัดหยาบเฮกเซนมาเล็กน้อย ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อทำการหาระบบของตัวทำละลายผสมหรือวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสม สำหรับทำคอลัมน์เพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมี โดยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (TLC)

2. นำสารสกัดหยาบเฮกเซนทั้งหมด 75 กรัม มาทำ quick column chromatography (QCC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นวัฏภาคนิ่ง ส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่หรือตัวทำละลายคือ เอทิลอะซิเตตในเฮกเซนอัตราส่วน 0% - 100% โดยเพิ่มอัตราส่วนของเอทิลอะซิเตตขึ้นทีละ 10% จนสุดท้ายเป็นเอทิลอะซิเตต 100%

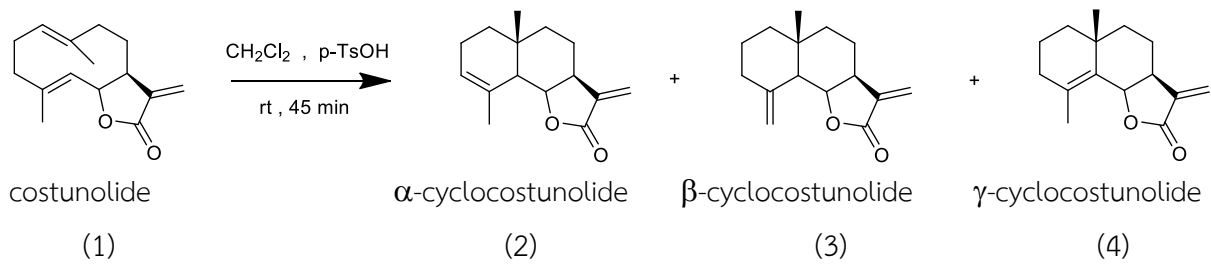
3. เก็บส่วนย่อยที่ออกมาจากคอลัมน์ นำมาตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิค TLC แล้วนำส่วนย่อยที่มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกันมารวมกัน และระเหยตัวทำละลายออก ซึ่งได้ 6 ส่วนย่อย (1A-1F) จากนั้นนำส่วนย่อย C มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นวัฏภาคหนึ่ง ส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่หรือตัวทำละลายคือ ไดคลอโรมีเทนในเอทิลอะซิเตต 1% ดังแผนภาพที่ 2.1 และได้สารบริสุทธิ์ costunolide หนัก 2.75 กรัม และพิสูจน์โครงสร้างสารด้วยเทคนิค NMR สเปกโทรสโกปี



รูปที่ 2.1 การสกัดแยกสาร costunolide จากสารสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดูก

2.7 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ costunolide

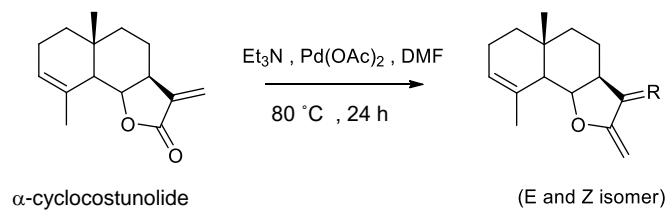
2.7.1 ปฏิกิริยาปิดวง (ring closure) ของสารประกอบ costunolide



รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ costunolide ด้วยปฏิกิริยา Cyclization

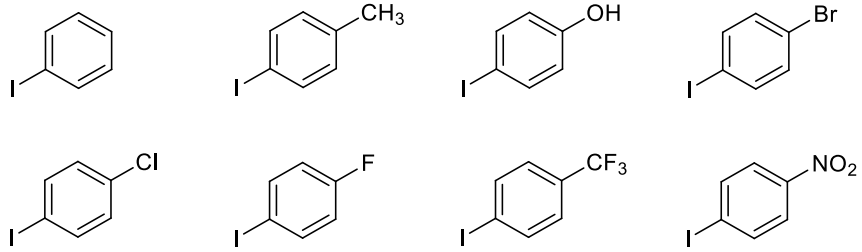
นำ costunolide หนัก 0.5242 กรัม ใส่ขวดก้นกลมขนาด 25 mL ซึ่งมีตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 75 mL จากนั้นเติม p-TsOH 20 mg ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาลงไป คนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก ตั้งปฏิกิริยาทิ้งไว้ 45 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 5% aqueous NaHCO_3 สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต 3 ครั้งและล้างด้วยน้ำเกลือ จากนั้นกำจัดน้ำออกด้วย anhydrous Na_2SO_4 แล้วระเหยตัวทำละลายออกภายใต้การกลั่นแบบลดความดัน แยกสารที่สังเคราะห์ได้ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีโดยใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคหนึ่ง และใช้ 8% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ และระเหยตัวทำละลายออกจะได้อาร์ α -cyclocostunolide บริสุทธิ์หนัก 0.1120 กรัมคิดเป็น 21% yield

2.8 การดัดแปลงโครงสร้างของ α -cyclocostunolide ด้วยปฏิกิริยา Heck



รูปที่ 2.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอริลของ α -cyclocostunolide

นำ α -cyclocostunolide 0.129 mmol ใส่ขวดก้นกลม ซึ่งมี DMF 600 μL เป็นตัวทำละลาย จากนั้นเติม triethylamine (51 μL , 0.36 mmol) และ แอริลเฮไลต์ (0.135 mmol) คนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก และให้ความร้อน 80 $^\circ\text{C}$ ตั้งปฏิกิริยาทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อปฏิกิริยาเกิดอย่างสมบูรณ์แล้ว รอให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำลงไปเพื่อหยุดปฏิกิริยา สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต 5 ครั้งและล้างด้วยน้ำเกลือ จากนั้นกำจัดน้ำออกด้วย anhydrous Na_2SO_4 แล้วระเหยตัวทำละลายออกภายใต้การกลั่นแบบลดความดัน แยกสารที่สังเคราะห์ได้ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี



รูปที่ 2.4 แสดงสารประกอบไอโอดีนชนิดต่างๆที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ α -cyclocostunolide

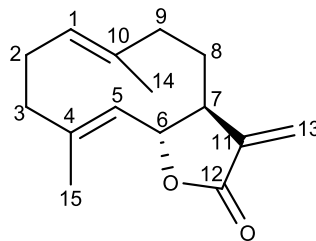
บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดูก

เนื่องจากเป้าหมายงานวิจัยนี้คือการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของ sesquiterpene lactone ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และสารที่เลือกมาใช้เป็นสารตั้งต้นของงานวิจัยนี้คือสารที่มีชื่อว่า costunolide (1) ซึ่งมีรายงานว่า costunolide เป็นสาร sesquiterpene lactone ที่เป็นองค์ประกอบหลักของรากโกฐกระดูก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการสกัดแยก costunolide บริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดูกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ซึ่งสามารถแยกได้ costunolide ที่บริสุทธิ์ในปริมาณ 2.7563 กรัม คิดเป็น 3.7% ของน้ำหนักส่วนสกัดหยาบเฮกเซน

นอกจากนี้ได้นำสารที่แยกได้มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR spectroscopy เพื่อยืนยันโครงสร้างสาร จากการพิจารณาสเปกตรัม ^1H NMR ของสาร (1) พบสัญญาณโปรตอนแบบ singlet ของหมู่ tertiary methyl สองหมู่ที่ δ_{H} 1.41 และ 1.69, สัญญาณโปรตอนของ trisubstituted double bond สองตำแหน่งที่ δ_{H} 4.73 (1H, d, $J = 9.6\text{ Hz}$) และ 4.83 (1H, dd, $J = 31.7, 23.3\text{ Hz}$), สัญญาณโปรตอนแบบ doublet ของหมู่ exomethylene ที่ δ_{H} 6.25 (1H, d, $J = 3.5\text{ Hz}$) และ 5.51 (1H, d, $J = 3.0\text{ Hz}$) และพบสัญญาณโปรตอนที่ต่ออยู่บนคาร์บอนที่มีออกซิเจนอะตอมต่ออยู่ (O) ที่ δ_{H} 4.56 (1H, t, $J = 9.3\text{ Hz}$) จากข้อมูล ^1H NMR ข้างต้น และจากการเปรียบเทียบข้อมูล NMR ที่มีการรายงานมาก่อนของ costunolide ดังแสดงในตารางที่ 3.1 จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารที่แยกได้คือ costunolide (1) ซึ่งเป็นสารประเภทเซสควิเทอพินที่มีหมู่ α -methylene- γ -lactone และ trisubstituted double bond 2 หมู่ เป็นหมู่ฟังก์ชันหลัก ดังโครงสร้างแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 โครงสร้างของสารประกอบ (1)

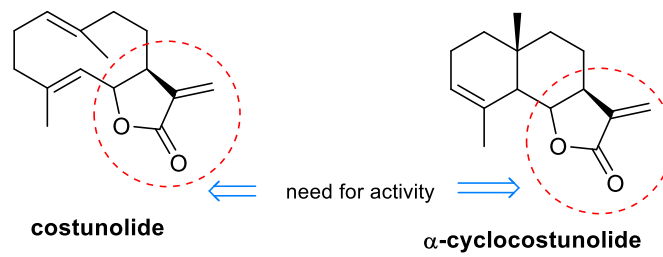
ตารางที่ 3.1 ข้อมูล ^1H NMR ของสาร (1) และ costunolide¹⁴

ตำแหน่ง	costunolide		(1)
	δ_{C}	δ_{H} mult	δ_{H} mult
1	127.0	4.85 (1H, dd, $J=10.5$, 4.2Hz)	4.83 (1H, dd, $J=31.7$, ,23.3Hz)
2	28.0		
3	40.9		
4	140.0		
5	127.2	4.74 (1H, d, $J=9.6\text{Hz}$)	4.73 (1H, d, $J=9.6\text{Hz}$)
6	81.9	4.58 (1H, t, $J=11.0\text{Hz}$)	4.56 (1H, t, $J=9.3\text{Hz}$)
7	50.3		
8	26.2		
9	39.4		
10	137.0		
11	141.5		
12	170.5		
13	119.7	6.27 (1H, d, $J=3.6\text{Hz}$) 5.53 (1H, d, $J=3.6\text{Hz}$)	6.25 (1H, d, $J=3.5\text{Hz}$) 5.51 (1H, d, $J=3.0\text{Hz}$)
14	16.1	1.42 (3H, s)	1.41 (3H, s, $J=65.8\text{Hz}$)
15	17.4	1.70 (3H, s)	1.69 (3H, s)

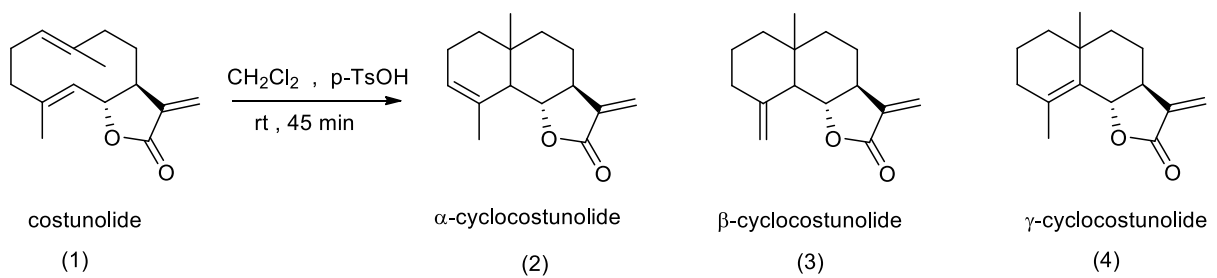
3.2 การสังเคราะห์ α -cyclocostunolide (2) จาก costunolide (1)

จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าแม้ว่าสาร costunolide จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีหลายชนิดซึ่งรวมทั้งฤทธิ์ต้านการอักเสบในระดับเซลล์และฤทธิ์ยับยั้ง/ฆ่าเซลล์มะเร็ง โดยพบว่าหมู่อ α -methylene- γ -lactone เป็นหมู่ฟังก์ชันที่มีบทบาทสำคัญต่อการออกฤทธิ์ (รูปที่ 3.2) แต่อย่างไรก็ตาม costunolide เป็นสารที่มีความคงตัวต่ำและเสถียรได้ยากเมื่อตั้งทิ้งไว้จึงไม่เหมาะที่จะนำมาเป็นสารตั้งต้นในงานวิจัย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสืบค้นข้อมูลและพบว่าสารอนุพันธ์ของ costunolide ที่ชื่อว่า α -cyclocostunolide มีฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกับ costunolide และหมู่อฟังก์ชันที่มีผลต่อการออกฤทธิ์คือหมู่อ α -methylene- γ -lactone เหมือนกัน แต่มีความคงตัวมากกว่าและการนำมาใช้งานทำได้ง่ายกว่า ซึ่งสารนี้สามารถสังเคราะห์ได้จากตัว costunolide เอง เนื่องจากโครงสร้างของ costunolide มีความพร้อมที่จะปิดวงเป็น cyclocostunolide อยู่แล้วเพียงใส่กรดเพื่อกระตุ้น ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้นำ costunolide มาทำปฏิกิริยาปิดวงโดยวิธีด้วย *p*-toluenesulfonic acid (*p*-TsOH) ในไดคลอโรมีเทนที่อุณหภูมิห้อง อย่างไรก็ตามจากปฏิกิริยานี้ นอกจาก α -cyclocostunolide (2) แล้ว ยังมีอีกสอง

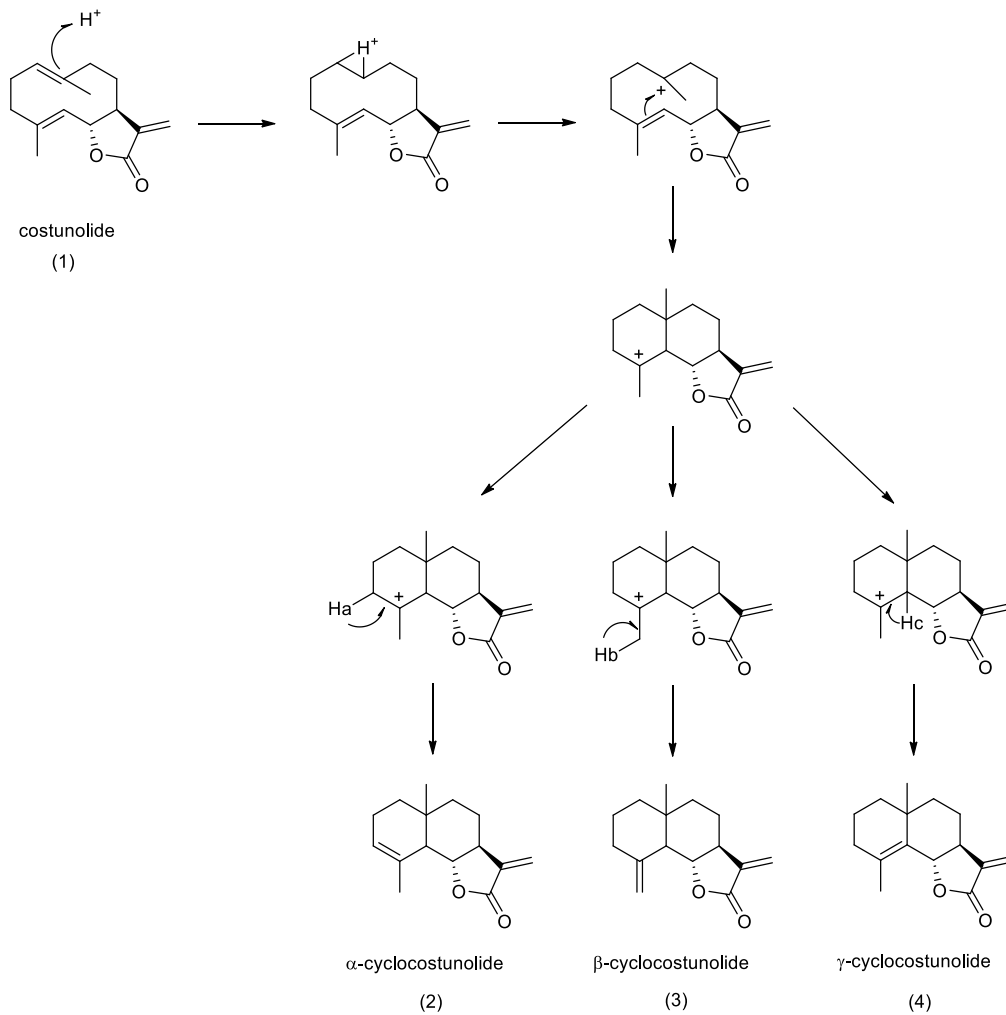
อนุพันธ์ที่เกิดขึ้น คือ β -cyclocostunolide (3) และ γ -cyclocostunolide (4) ดังแสดงในรูปที่ 3.3 ซึ่งเกิดจากการหลุดออกของโปรตอนในตำแหน่งที่ต่างกันสามตำแหน่งในขั้นตอนสุดท้าย ดังแสดงในรูปที่ 3.4 โดยมีสาร 2 และ 3 เป็นผลิตภัณฑ์หลักของปฏิกิริยานี้



รูปที่ 3.2 เปรียบเทียบโครงสร้างของ costunolide และ α -cyclocostunolide ที่มีหมู่ α -methylene- δ -lactone ซึ่งมีผลต่อการออกฤทธิ์

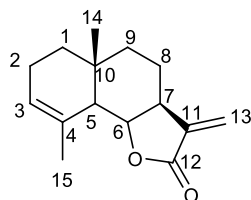


รูปที่ 3.3 แสดงปฏิกิริยาปิดวงของ costunolide และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น



รูปที่ 3.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาที่กระตุ้นด้วยกรดของ costunolide

จากข้อมูล 1H NMR ของสารประกอบ (2) พบสัญญาณโปรตอนแบบ singlet ของหมู่ tertiary methyl สองหมู่ที่ δ_H 0.90 และ 1.83 , สัญญาณโปรตอนแบบ doublet ของหมู่ exomethylene ที่ δ_H 6.05 (1H, d, $J = 3.8$ Hz) และ 5.37 (1H, d, $J = 3.8$ Hz) และพบสัญญาณโปรตอนที่ต่ออยู่บนคาร์บอนที่มีออกซิเจนอะตอมต่ออยู่ (O) ที่ δ_H 3.87 (1H, t, $J = 10.6$ Hz) จากข้อมูล 1H NMR และจากการสืบค้นข้อมูลที่มีการรายงานองค์ประกอบของสาร α -cyclocostunolide ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของ costunolide ประเภทเซสควิเทอเพินที่มีหมู่ α -methylene- γ -lactone และ trisubstituted double bond 2 หมู่ เป็นหมู่ฟังก์ชันหลัก ดังแสดงในรูปที่ 3.5 ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูล 1D NMR ของสาร (2) จึงสามารถสรุปได้ว่าสาร (2) คือ α -cyclocostunolide ซึ่งได้ทำการยืนยันโดยการเปรียบเทียบข้อมูล NMR ของสาร (2) กับข้อมูลที่มีการรายงานมาก่อนของ α -cyclocostunolide ดังแสดงในตารางที่ 3.2



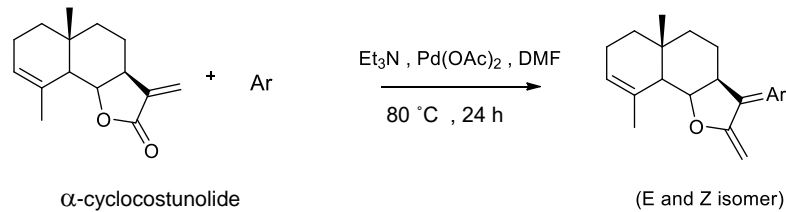
รูปที่ 3.5 โครงสร้างของสารประกอบ (2)

ตารางที่ 3.2 ข้อมูล ^1H ของสารประกอบ (2) และ α -cyclocostunolide¹⁵

ตำแหน่ง	α -cyclocostunolide (2)		
	δ_{C}	δ_{H} mult	δ_{H} mult
1	37.8		
2	22.9		
3	122.3	5.28 (1H, m)	5.38 (1H, m)
4	132.9		
5	51.3		
6	82.1	3.74 (1H, t, $J=11\text{Hz}$)	3.87 (1H, t, $J=10.6\text{ Hz}$)
7	51.2		
8	21.5		
9	39.2		
10	36.0		
11	139.3		
12	170.8		
13	116.3	5.90 (1H, d, $J=4\text{ Hz}$) 5.22 (1H, d, $J=4\text{ Hz}$)	6.05 (1H, d, $J=3.8\text{ Hz}$) 5.37 (1H, d, $J=3.8\text{ Hz}$)
14	17.4	0.90 (3H, s)	0.90 (3H, s)
15	23.7	1.80 (3H, s)	1.83 (3H, s)

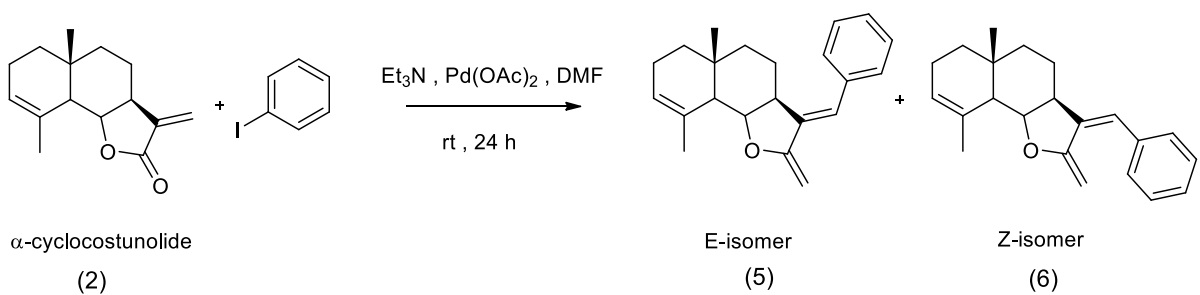
3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์แอริลของสาร α -cyclocostunolide ด้วยปฏิกิริยา Heck

ในการทดลองขั้นต่อมาได้นำ α -cyclocostunolide มาทำปฏิกิริยาเพื่อเติมหมู่แอริลเข้าไปบริเวณพันธะคู่ ด้วยปฏิกิริยา Heck ในสารละลาย DMF ในเบส Et_3N โดยมีพาลาเดียมอะซิเตตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้ผลิตภัณฑ์ออกมา 2 ชนิดเป็น E- และ Z-isomer ดังแสดงในแผนภาพที่ 3.6

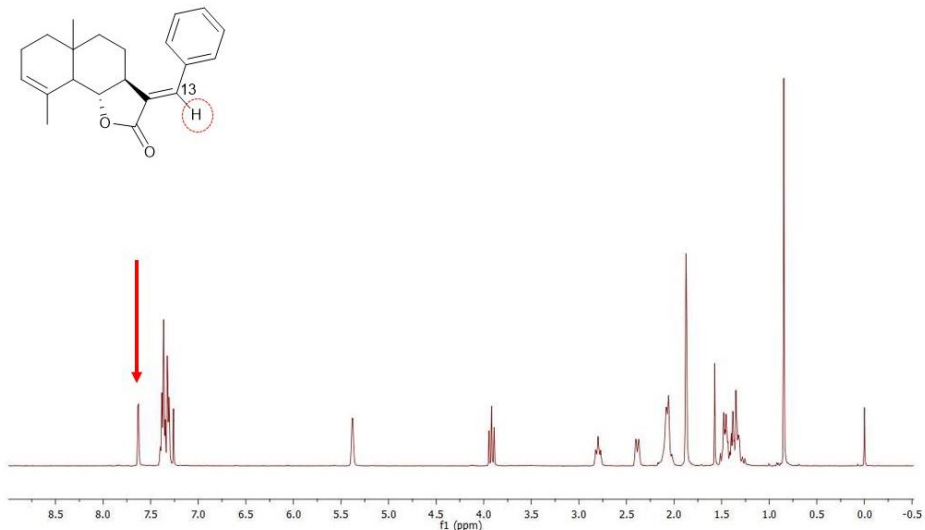


รูปที่ 3.6 การแอริลเลชัน α -cyclocostunolide ด้วยปฏิกิริยา Heck

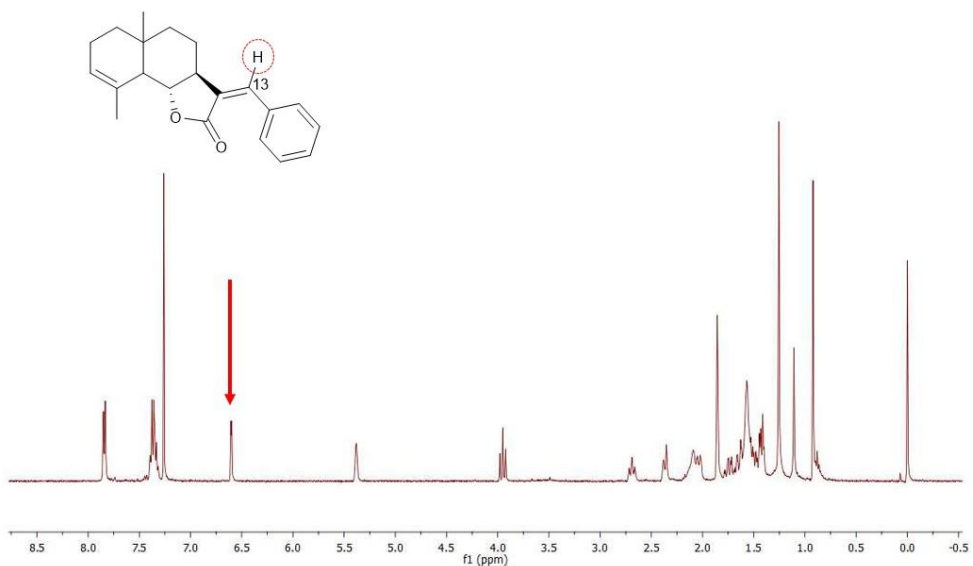
ในการทดลองนี้เริ่มต้นด้วยการใช้หมู่แอริลเป็น iodobenzene ทำปฏิกิริยา Heck กับ α -cyclocostunolide ได้ผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด ดังแสดงในแผนภาพที่ 3.7 จากนั้นแยกสารทั้ง 2 ชนิดให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี จากการสืบค้นข้อมูลของสารในกลุ่มเดียวกันนี้ พบว่าสารที่เป็น E-isomer จะมีโปรตอนของพันธะคู่ที่เชื่อมต่อกับวงเบนซีนมีค่า δ_{H} อยู่ที่ประมาณ 7.59 และสำหรับ Z-isomer จะมีค่า δ_{H} อยู่ที่ประมาณ 6.52 เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารทั้งผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดพบว่าสาร 5 มี δ_{H} ของโปรตอนนี้ (ตำแหน่งที่ 13) มีค่าเท่ากับ 7.63 และสาร 6 จะมี δ_{H} ของโปรตอนนี้เท่ากับ 6.60 ดังแสดงในรูปที่ 3.8 และ 3.9 ดังนั้นจึงสามารถระบุโครงสร้างของสารได้จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ได้ว่า สาร 5 มีโครงสร้างเป็น E-isomer และสาร 6 มีโครงสร้างเป็น Z-isomer และข้อมูลในส่วนนี้จะใช้ในการพิจารณาอนุพันธ์ E และ Z ของสารที่สังเคราะห์ได้จากแอริลเฮไลด์อื่นๆ ด้วย



รูปที่ 3.7 ปฏิกิริยา Heck ของ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene



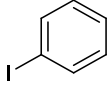
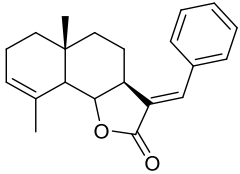
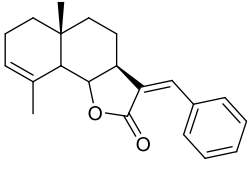
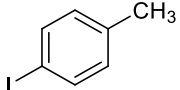
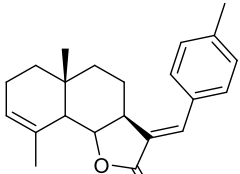
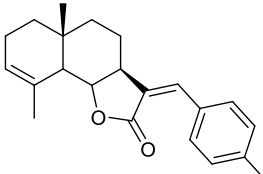
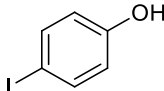
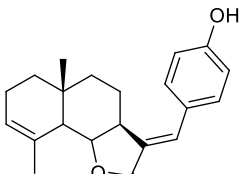
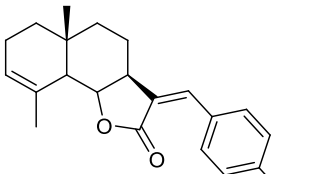
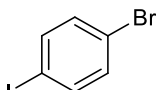
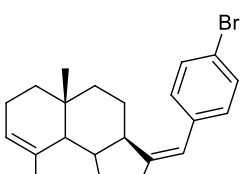
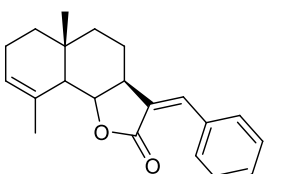
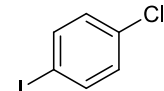
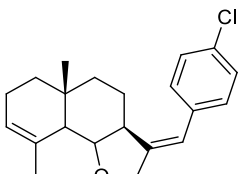
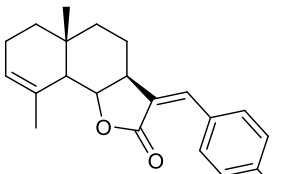
รูปที่ 3.8 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ E-isomer ของอนุพันธ์ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene



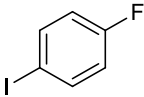
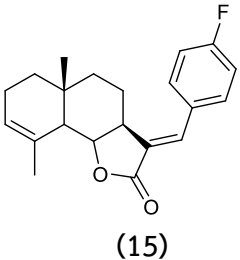
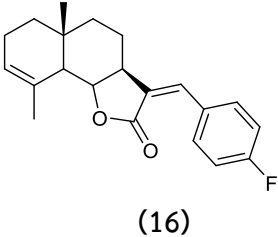
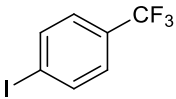
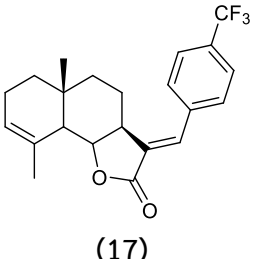
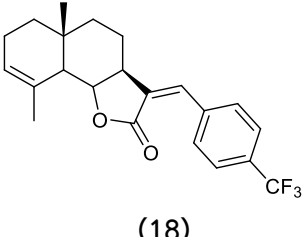
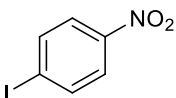
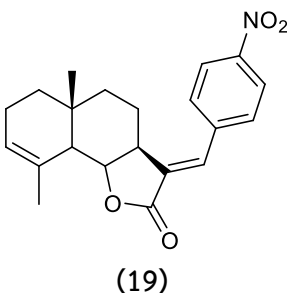
รูปที่ 3.9 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ Z-isomer ของอนุพันธ์ α -cyclocostunolide กับ iodobenzene

นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ α -cyclocostunolide ด้วยวิธีเดียวกันกับแอริลเฮไลด์อีก 7 ชนิด ได้แก่ 4-iodophenol, 4-iodotoluene, 1-bromo-4-iodobenzene, 1-chloro-4-iodobenzene, 1-fluoro-4-iodobenzene, 4-iodobenzotrifluoride และ 1-iodo-4-nitrobenzene ในตารางที่ 3.3 จะแสดงผลผลิตภัณฑ์และ %yield ที่ได้จากปฏิกิริยา

ตารางที่ 3.3 แสดง % yield ของสารอนุพันธ์ α -cyclocostunolide

ลำดับ	หมู่เอริล	ผลิตภัณฑ์	% yield	ผลิตภัณฑ์	% yield
1		 (5)	54.4	 (6)	3.7
2		 (7)	51.2	 (8)	4.6
3		 (9)	46.7	 (10)	3.8
4		 (11)	32.6	 (12)	4.1
5		 (13)	56.3	 (14)	6.2

ตารางที่ 3.3 (ต่อ) แสดงโครงสร้างและ % yield ของผลิตภัณฑ์

ลำดับ	หมู่แฮริล	ผลิตภัณฑ์	% yield	ผลิตภัณฑ์	% yield
6			46.7		8.5
7			63.4		8.6
8			47.1		

3.4 ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์สารประกอบ α -cyclocostunolide

สารประกอบ 5 δ_{H} 7.63 (1H, d, $J=3.2$ Hz) , 7.37 (3H, m) , 7.33 (2H, m) , 5.38 (1H, s) , 3.92 (1H, t, $J=10.8$ Hz) , 2.80 (1H, t, $J=10.2$ Hz) , 2.35 (1H, m) , 2.37 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.06 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.57 (1H, m) , 1.48 (1H, m) , 1.45 (1H, m) , 1.38 (1H, m) , 1.35 (1H, m) , 1.32 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 6 δ_{H} 7.83 (2H, d, $J=7.2$ Hz) , 7.38 (1H, m) , 7.36 (2H, m) , 6.60 (1H, d, $J=2.8$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.95 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.69 (1H, m) , 2.35 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.02 (1H, m) , 2.02 (1H, m) , 1.86 (3H, s) , 1.66 (1H, m) , 1.63 (1H, m) , 1.57 (1H, m) , 1.53 (1H, m) , 1.43 (1H, m) , 1.41 (1H, m) , 0.92 (3H, s)

สารประกอบ 7 δ_{H} 7.59 (1H, d, $J=3.2$ Hz) , 7.21 (2H, m) , 7.19 (2H, m) , 5.38 (1H, s) , 3.91 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.79 (1H, t, $J=10.4$ Hz) , 2.38 (3H, s) , 2.15 (1H, m) , 2.13 (1H, m) , 2.07 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.52 (1H, m) , 1.49 (1H, m) , 1.46 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.32 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 8 δ_{H} 7.75 (2H, d, $J=8$ Hz) , 7.19 (2H, d, $J=8$ Hz) , 6.57 (1H, s) , 5.38 (1H, s) , 3.94 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.67 (1H, t, $J=11.2$ Hz) , 2.36 (3H, s) , 2.08 (1H, m) , 2.03 (1H, m) , 2.01 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.73 (1H, m) , 1.65 (1H, m) , 1.62 (1H, m) , 1.50 (1H, m) , 1.42 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 0.91 (3H, s)

สารประกอบ 9 δ_{H} 7.56 (1H, d, $J=3.2$ Hz) , 7.21 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 6.87 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 5.64 (1H, s) , 5.38 (1H, s) , 3.91 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.80 (1H, m) , 2.41 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.64 (1H, m) , 1.51 (1H, m) , 1.47 (1H, m) , 1.38 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.33 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 10 δ_{H} 7.82 (2H, d, $J=8.8$ Hz) , 6.84 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 6.52 (1H, d, $J=2.8$ Hz) , 5.43 (1H, s) , 5.38 (1H, s) , 3.93 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.67 (1H, m) , 2.37 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.03 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.72 (1H, m) , 1.69 (1H, m) , 1.66 (1H, m) , 1.61 (1H, m) , 1.42 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.91 (3H, s)

สารประกอบ 11 δ_{H} 7.53 (1H, s) , 7.50 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 7.19 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 5.39 (1H, s) , 3.92 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.77 (1H, m) , 2.40 (1H, m) , 2.17 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.01 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.50 (1H, m) , 1.46 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 12 δ_{H} 7.72 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 7.51 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 6.51 (1H, d, $J=2.8$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.95 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.66 (1H, m) , 2.38 (1H, m) , 2.09 (1H, m) , 2.01 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.74 (1H, m) , 1.71 (1H, m) , 1.67 (1H, m) , 1.63 (1H, m) , 1.43 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.92 (3H, s)

สารประกอบ 13 δ_{H} 7.55 (1H, d, $J=3.4$ Hz) , 7.35 (1H, d, $J=8.4$ Hz) , 7.24 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.92 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.78 (1H, m) , 2.37 (1H, d, $J=10.8$ Hz) , 2.08 (1H, m) , 2.01 (1H, m) , 1.84 (3H, s) , 1.58 (1H, m) , 1.50 (1H, m) , 1.46 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 14 δ_{H} 7.81 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz) , 6.53 (1H, d, $J=2.8$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.92 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.68 (1H, m) , 2.35 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.03 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.75 (1H, m) , 1.72 (1H, m) , 1.67 (1H, m) , 1.63 (1H, m) , 1.43 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.92 (3H, s)

สารประกอบ 15 δ_{H} 7.56 (1H, d, $J=3.2$ Hz) , 7.29 (2H, m) , 7.07 (2H, t, $J=8.6$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.91 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.79 (1H, m) , 2.40 (1H, m) , 2.17 (1H, m) , 2.06 (1H, m) , 2.04 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.50 (1H, m) , 1.47 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.26 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 16 δ_{H} 7.88 (2H, m) , 7.05 (2H, t, $J=8.6$ Hz) , 6.54 (1H, d, $J=2.8$ Hz) , 5.38 (1H, s) , 3.95 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.68 (1H, m) , 2.38 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 2.01 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.74 (1H, m) , 1.71 (1H, m) , 1.66 (1H, m) , 1.63 (1H, m) , 1.43 (1H, m) , 1.26 (1H, m) , 0.92 (3H, s)

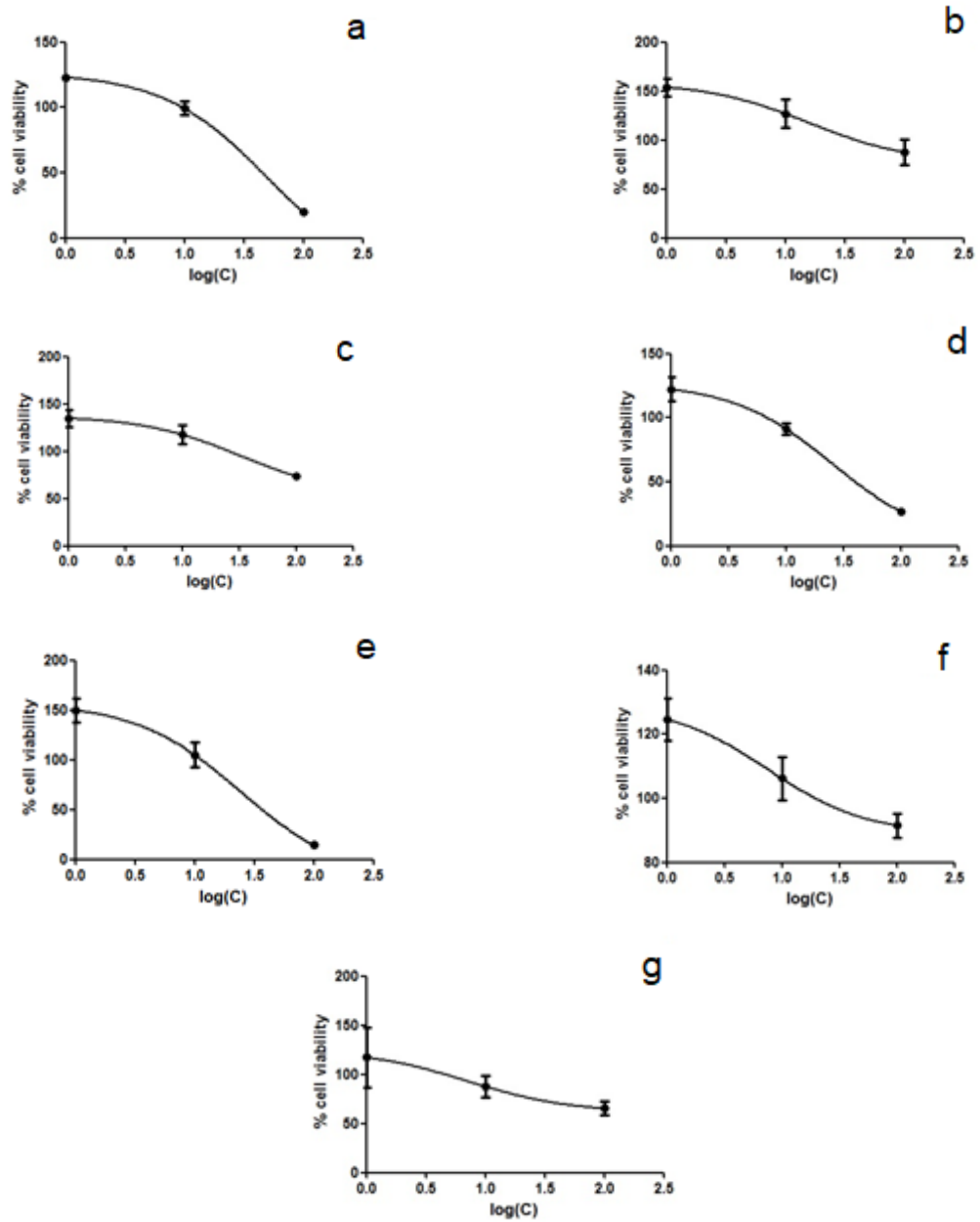
สารประกอบ 17 δ_{H} 7.63 (2H, m) , 7.61 (1H, m) , 7.44 (2H, t, $J=8$ Hz) , 5.39 (1H, s) , 3.94 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.80 (1H, m) , 2.40 (1H, d, $J=11.2$ Hz) , 2.17 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 1.96 (1H, m) , 1.93 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.49 (1H, m) , 1.46 (1H, m) , 1.39 (1H, m) , 1.35 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

สารประกอบ 18 δ_{H} 7.90 (2H, d, $J=8$ Hz) , 7.44 (2H, d, $J=8$ Hz) , 6.62 (1H, s) , 5.39 (1H, s) , 3.94 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.71 (1H, m) , 2.37 (1H, d, $J=11.2$ Hz) , 1.93 (1H, m) , 1.85 (3H, s) , 1.68 (1H, m) , 1.64 (1H, m) , 1.49 (1H, m) , 1.41 (1H, m) , 1.34 (1H, m) , 1.31 (1H, m) , 1.25 (1H, m) , 0.93 (3H, s)

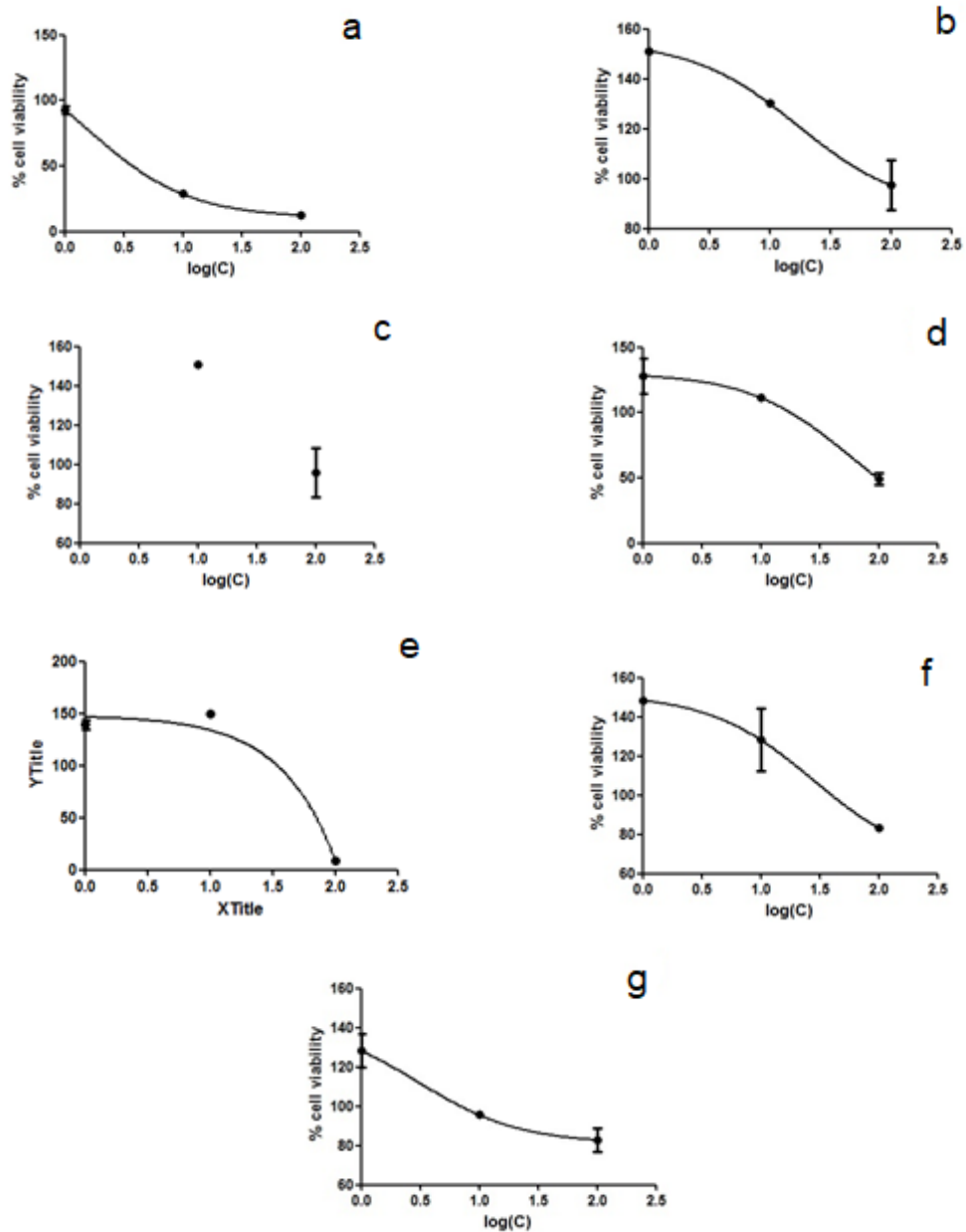
สารประกอบ 19 δ_{H} 8.24 (2H, d, $J=8.8$ Hz) , 7.62 (1H, d, $J=3.6$ Hz) , 7.49 (2H, d, $J=8.8$ Hz) , 5.40 (1H, s) , 3.95 (1H, t, $J=11$ Hz) , 2.81 (1H, m) , 2.41 (1H, m) , 2.08 (1H, m) , 1.92 (1H, m) , 1.87 (3H, s) , 1.49 (1H, m) , 1.46 (1H, m) , 1.38 (1H, m) , 1.36 (1H, m) , 1.34 (1H, m) , 1.26 (1H, m) , 0.85 (3H, s)

3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกทำการทดสอบกับเซลล์ 2 ชนิดคือเซลล์ลำไส้ปกติ CCD-841 และเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาค่า IC_{50} จากการทดลองพบว่าสาร (9), (11), (14), (15), (16) และ (17) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 ในระดับปานกลางด้วยค่า IC_{50} ที่ 16.12, 33.08, 25.51, 24.27, 7.58 และ 7.23, μM ตามลำดับ โดยที่สารดังกล่าวทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 ได้ดีกว่าสาร α -cyclocostunolide (2) ที่มีค่า IC_{50} 49.65 μM นอกจากนี้ สาร (9), (11), (14), (15), (16) และ (17) มีความเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ปกติ CCD-841 ด้วยค่า IC_{50} 17.14, >100, 58.22, >100, 27.63 และ 3.05 μM ซึ่งน้อยกว่า สาร α -cyclocostunolide (2) ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ปกติ CCD-841 ในระดับที่ต่ำด้วยค่า IC_{50} 1.15 μM ดังแสดงในรูปที่ 3.10 และรูปที่ 3.11 นอกจากนี้ยังพบว่าสารอื่นที่สังเคราะห์ได้ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 ในระดับที่ต่ำด้วยค่า IC_{50} ที่มากกว่า 100 ดังแสดงในตารางที่ 3.4

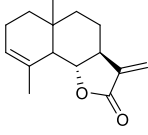
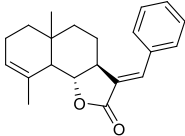
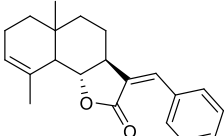
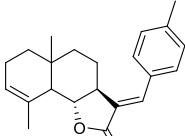
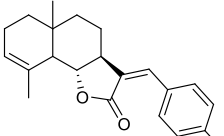
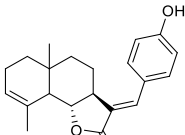
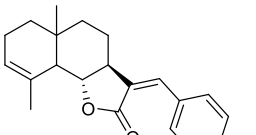
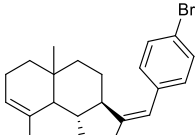
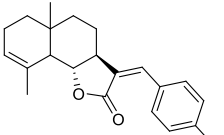
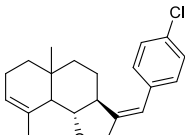
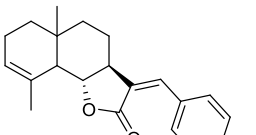


รูปที่ 3.10 กราฟแสดงการหาค่า IC_{50} ในเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-116 โดยที่รูป a คือสาร α -cyclocostunolide (2), รูป b คือสาร (9), รูป c คือสาร (11), รูป d คือสาร (14), รูป e สาร (15), รูป f คือสาร (16), รูป g คือสาร (17)

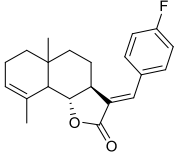
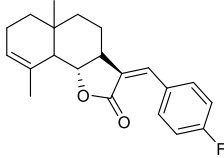
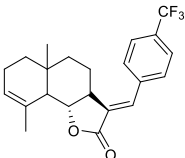
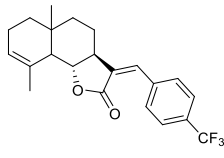
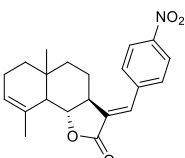


รูปที่ 3.11 กราฟแสดงการหาค่า IC_{50} ในเซลล์มะเร็งลำไส้ CCD-841 โดยที่รูป a คือสาร α -cyclocostunolide (2), รูป b คือสาร (9), รูป c คือสาร (11), รูป d คือสาร (14), รูป e สาร (15), รูป f คือสาร (16), รูป g คือสาร (17)

ตารางที่ 3.4 แสดงค่า IC₅₀ ของ α-cyclocostunolide และอนุพันธ์

สาร	IC ₅₀ (μM)		สาร	IC ₅₀ (μM)	
	HCT-116	CCD-841		HCT-116	CCD-841
 (2)	49.65	1.55			
 (5)	> 100	4.01	 (6)	> 100	> 100
 (7)	> 100	> 100	 (8)	> 100	10
 (9)	16.12	17.14	 (10)	> 100	3.45
 (11)	33.08	> 100	 (12)	> 100	20.04
 (13)	> 100	11.61	 (14)	25.51	58.22

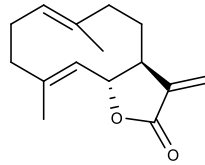
ตารางที่ 3.4 (ต่อ) แสดงค่า IC₅₀ ของ α -cyclocostunolide และอนุพันธ์

สาร	IC ₅₀ (μ M)		สาร	IC ₅₀ (μ M)	
	HCT-116	CCD-841		HCT-116	CCD-841
 (15)	24.27	> 100	 (16)	7.58	27.63
 (17)	7.23	3.05	 (18)	22.58	< 1
 (19)	> 100	22.00			

บทที่ 4

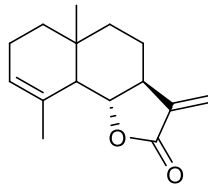
สรุปผลการทดลอง

จากการนำสารสกัดหยาบเฮกเซนของรากโกฐกระดุก มาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ costunolide (1) ซึ่งเป็นสารที่มีรายงานการค้นพบมาแล้ว และสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้โดยมีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญต่อการออกฤทธิ์ได้แก่ หมู่ α -methylene- γ -lactone



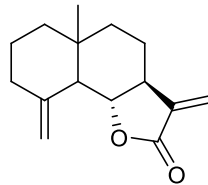
(1)

แต่เนื่องจากโครงสร้าง costunolide มีความคงตัวต่ำ จึงทำการสังเคราะห์ α -cyclocostunolide (2) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ costunolide โดยการใช้กรด ซึ่งอนุพันธ์ที่ได้อีกยังมีหมู่ α -methylene- γ -lactone ซึ่งมีความจำเป็นในการออกฤทธิ์ และมีผลพลอยได้จากปฏิกิริยา คือ β -cyclocostunolide (3) และ γ -cyclocostunolide (4) โดยโครงสร้างของสารที่ได้สามารถพิสูจน์ทราบด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้



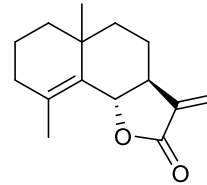
α -cyclocostunolide

(2)



β -cyclocostunolide

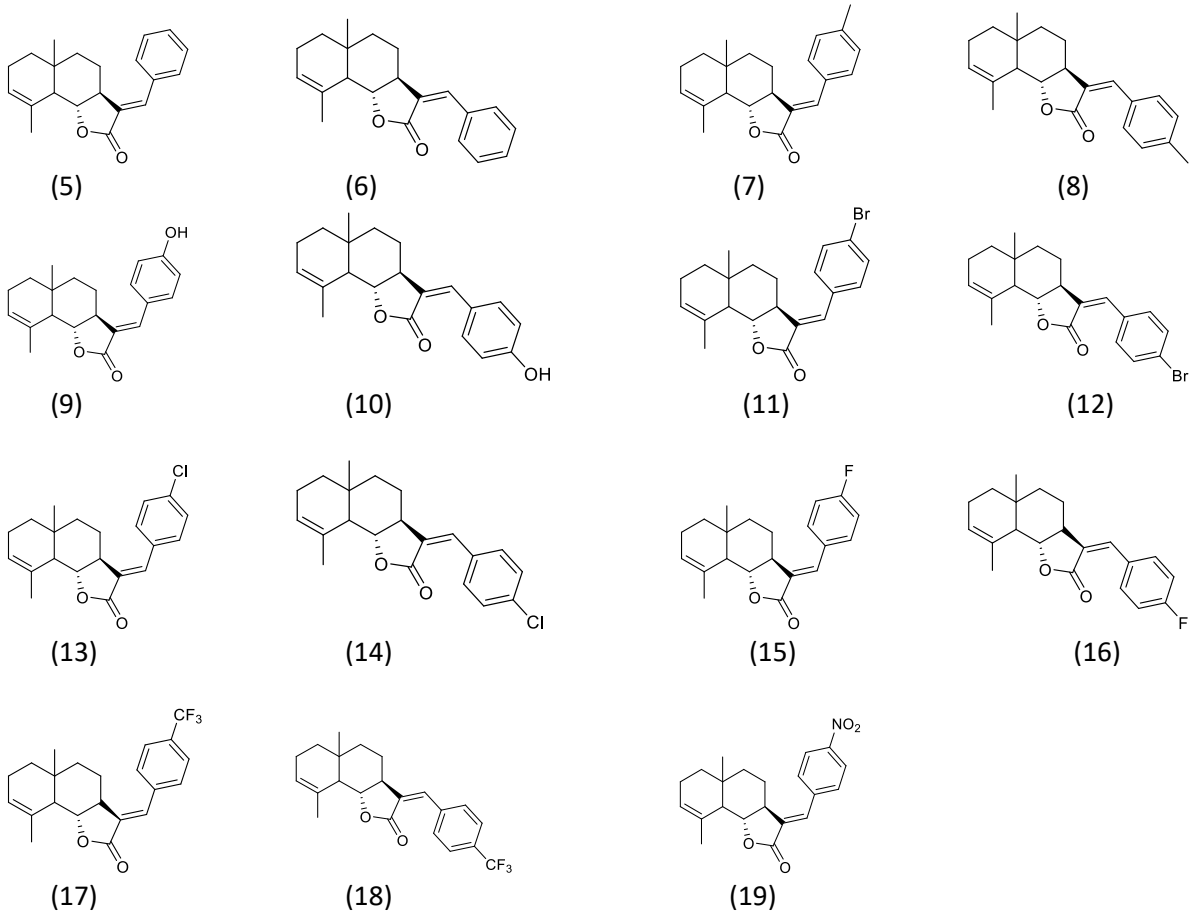
(3)



γ -cyclocostunolide

(4)

ต่อมาทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ α -cyclocostunolide โดยการเติมหมู่แฮริลต่าง ๆ ด้วยปฏิกิริยา Heck ซึ่งมีพลาตินัมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ได้ 15 ชนิด จากหมู่แฮริล iodobenzene คือ สาร (5) และ (6), หมู่แฮริล 4-iodotoluene คือ (7) และ (8), หมู่แฮริล 4-iodophenol คือ (9) และ (10), หมู่แฮริล 1-bromo-4-iodobenzene คือ (11) และ (12), หมู่แฮริล 1-chloro-4-iodobenzene คือ (13) และ (14), หมู่แฮริล 1-fluoro-4-iodobenzene คือ (15) และ (16), หมู่แฮริล 4-iodobenzotrifluoride คือ (17) และ (18), หมู่แฮริล 1-iodo-4-nitrobenzene คือ (19)



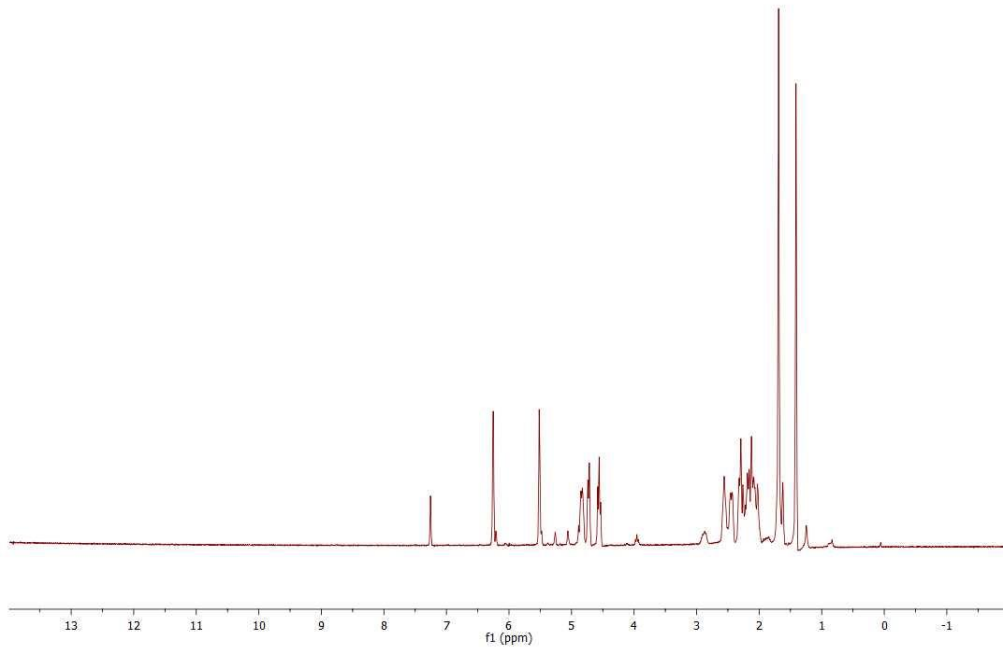
จากการทดลองพบว่า สาร (9), (11), (14), (15), (16) และ (17) สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง HCT-116 ได้ดีกว่าสารตั้งต้นคือ α -cycloostunolide (2) และยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่น้อยกว่าอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

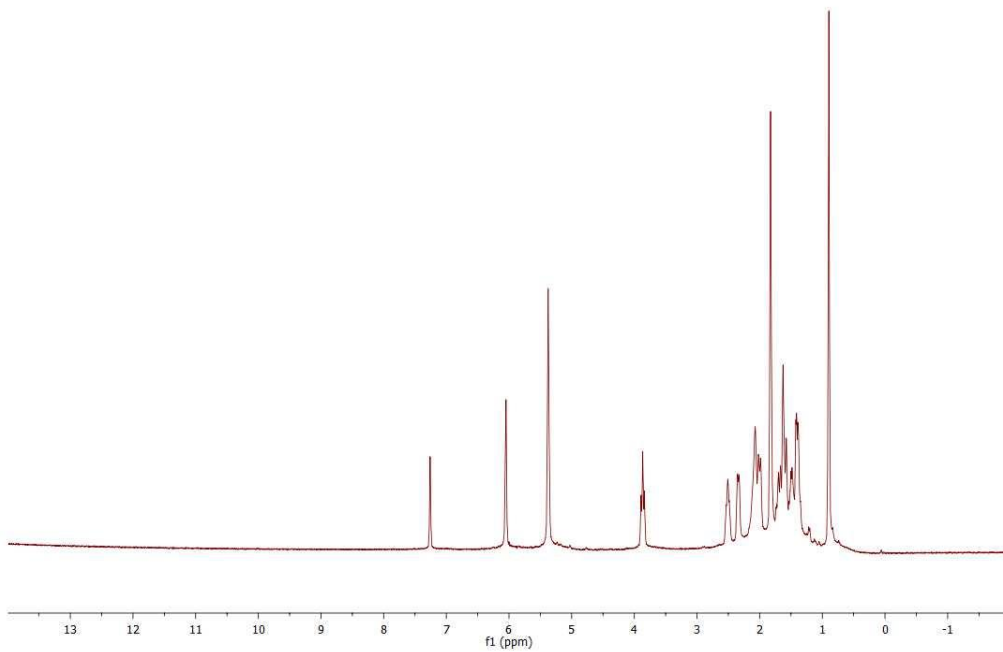
- (1) Chen, H.; Chou, C.; Lee, S.; Wang, J.; Yeh, S.; Active compounds from *Saussurea lappa* Clarke that suppress hepatitis B virus surface antigen gene expression in human hepatoma cells. *Antiviral Res.* **1995**, 99-109
- (2) Chhabra, B.R.; Gupta, S.; Jain, M.; Kalsi, P.S.; Sesquiterpene lactones from *Saussurea lappa*. *Phytochemistry.* **1998**, 49, 801-804
- (3) Cho, J.; Park, J.; Yoo, E.; Baik, K.; Jung, J.; Lee, J.; Park, M.; Inhibitory Effect of Sesquiterpene Lactones from *Saussurea lappa* on Tumor Necrosis Factor- α Production in Murine Macrophage-Like Cells. *Planta Med.* **1998**, 594-597
- (4) Sun, C.; Syu, W.; Don, M.; Lu, J.; Lee, G.; Cytotoxic Sesquiterpene Lactones from the Root of *Saussurea lappa*. *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 1175-1180
- (5) Han, C.; Barrios, F.J.; Riofski, V.; Colby, D.A.; Semisynthetic Derivatives of Sesquiterpene Lactones by Palladium-Catalyzed Arylation of the γ -Methylene- γ -lactone Substructure. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 7176-7179
- (6) Matejic, J.; Sarac, Z.; Randelovic, V.; Pharmacological activity of Sesquiterpene Lactones. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2010**, 24, 21-23
- (7) Zeng, Y.; Wu, J.; Shi, L.; Wang, K.; Zhou, B.; Tang, Y.; Zhang, D.; Wu, Y.; Hua, W.; Wu, X.; Synthesis and evaluation of cytotoxic effects of novel α -methylene-lactone tetracyclic diterpenoids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22(5), 1922-1925
- (8) Choi, Y.; Cho, S.; Woo, S.; Yun, Y.; Jo, J.; Kim, W.; Shin, Y.; Ko, S.; *Saussurea lappa* Clarke-Derived Costunolide Prevents TNF α -Induced Breast Cancer Cell Migration and Invasion by Inhibiting NF- κ B Activity. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2013**, 2013, Article ID 936257, 10
- (9) Ding, Y.; Fan, H.; Long, J.; Zhang, Q.; Chen, Y.; The application of Heck reaction in the synthesis of guaianolide sesquiterpene lactones derivatives selectively inhibiting resistant acute leukemic cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 6087-6092
- (10) Wei, H.; Yan, L.; Feng, W.; Ma, G.; Peng, Y.; Wang, Z.; Xiao, P.; Research Progress on Active Ingredients and Pharmacologic Properties of *Saussurea lappa*. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2014**, 1(1):e0005

- (11) Vadaparthi, P.R.; Kumar, C.P.; Kumar, K.; Venkanna, A.; Nayak, V.L.; Ramakrishna, S.; Babu, K.S.; Synthesis of costunolide derivatives by Pd-catalyzed Heck arylation and evaluation of their cytotoxic activities. *Med Chem Res.* **2015**, 24, 2871-2878
- (12) Sokolenko, L.V.; Yagupolskii, L. L.; Vlasenko, Y.G.; Babichenko, I.N.; Lipetskij, V.O.; Anselmi, E.; Magnier, E.; Arylation of perfluoroalkyl vinyl sulfoxides via the Heck reaction. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 1259-1262
- (13) โกลฐกระตุก สรรพคุณและประโยชน์ของรากโกลฐกระตุก 15 ข้อ.
<https://medthai.com/โกลฐกระตุก/> (accessed February 13, 2018)
- (14) El-Ferally, F.; Chan, Y.; Isolation and Characterization of the Sesquiterpene Lactones Costunolide, Parthenolide, Costunolide Diepoxide, Santamarine, and Reynosin from *Magnolia grandiflora* L. *Prev. Nutr. Food Sci.* **1987**, 67, 347-350
- (15) Toshinori, K.; Ohta, K.; Isolation and Identification of Costunolide as a Piscicidal Component of *Marchantia polymorpha*. *Agr. Biol. Chem.* **1975**, 40(6), 1239
- (16) Organic Chemistry by Jonathan Clayden, Nick Greeves, and Stuart Warren, p.1323 (2nd Edition)
- (17) Loudon Organic Chemistry, p.831 (5th Edition)

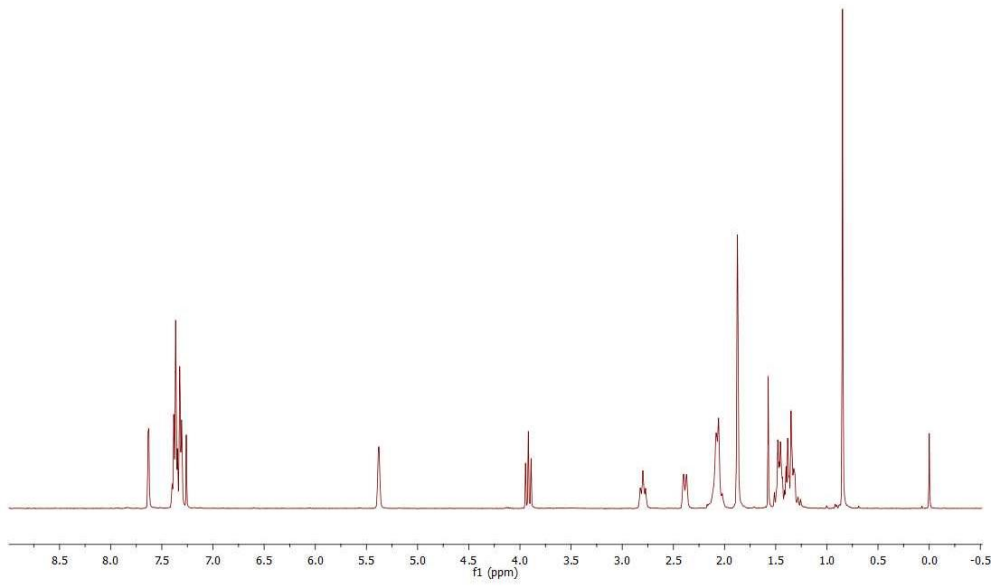
ภาคผนวก



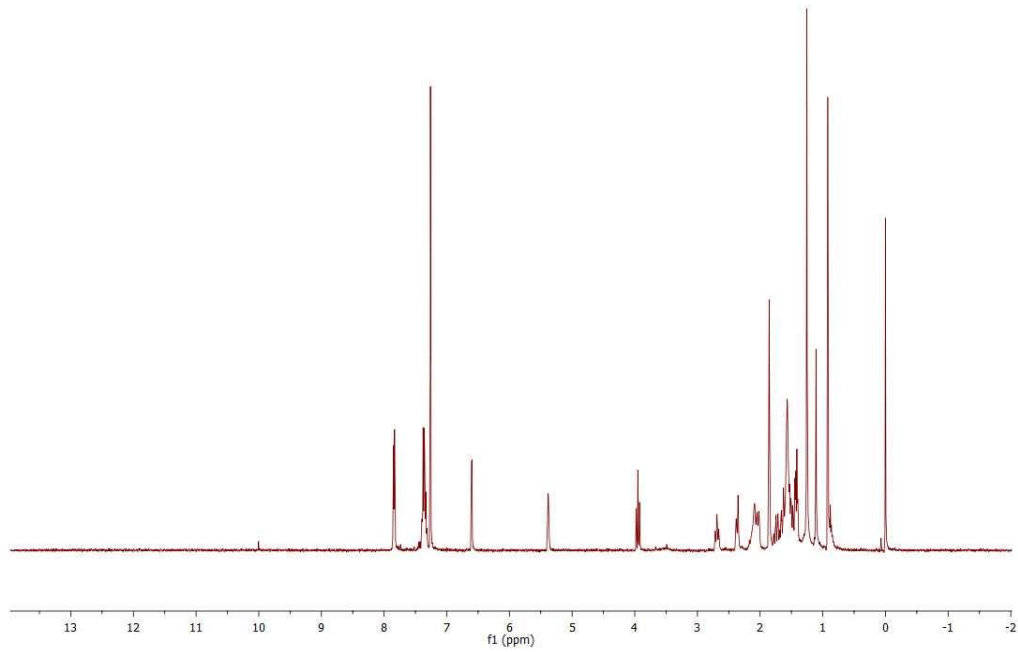
รูปที่ A.1 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ costunolide ใน CDCl_3



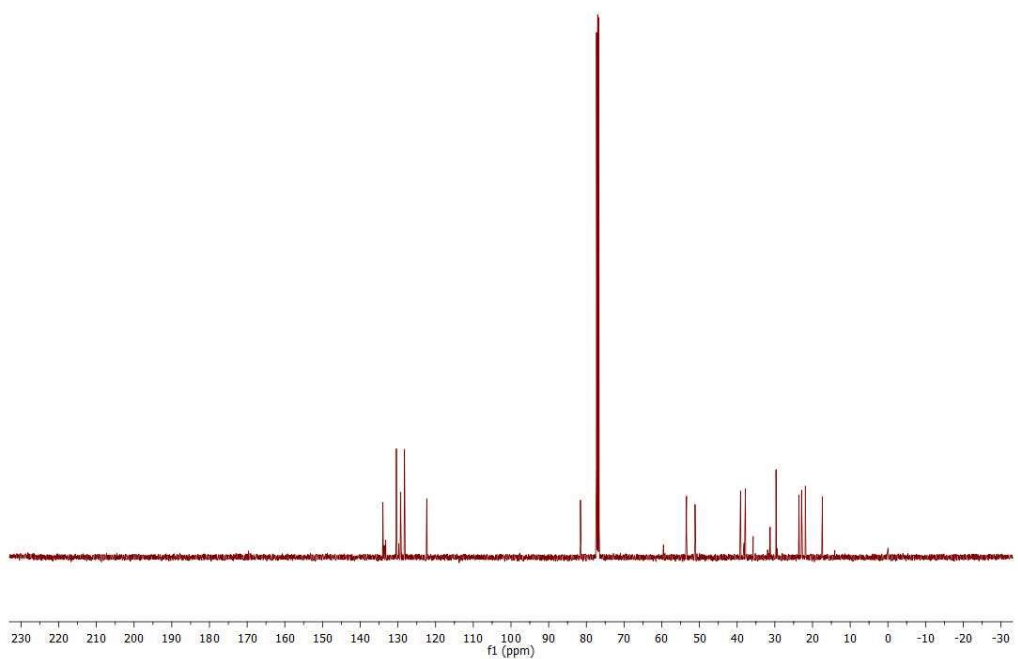
รูปที่ A.2 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ α -cyclocostunolide ใน CDCl_3



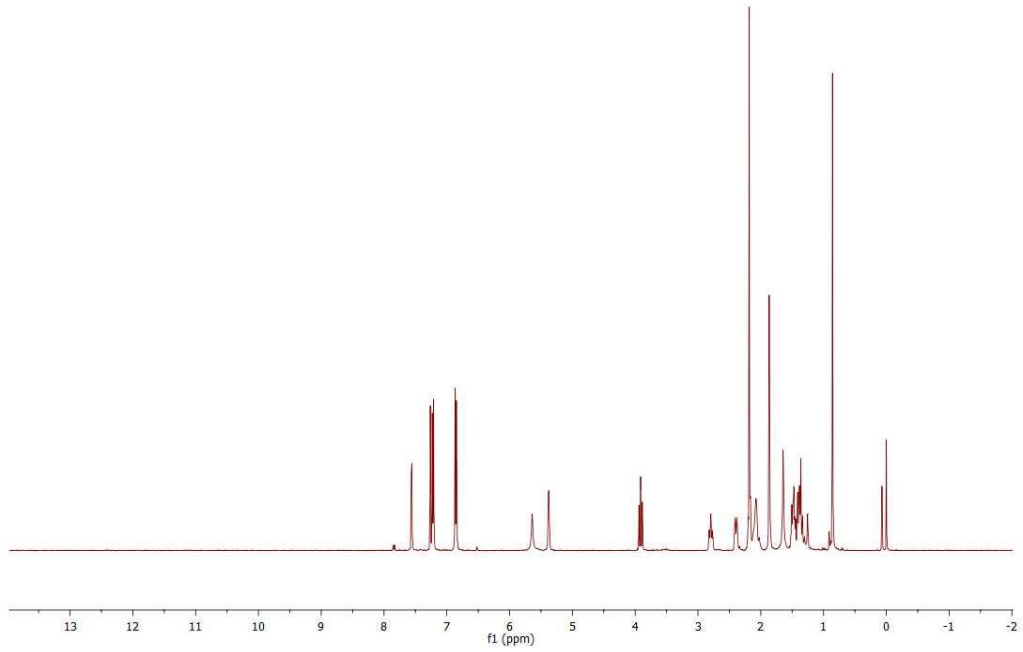
รูปที่ A.3 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (5) ใน CDCl_3



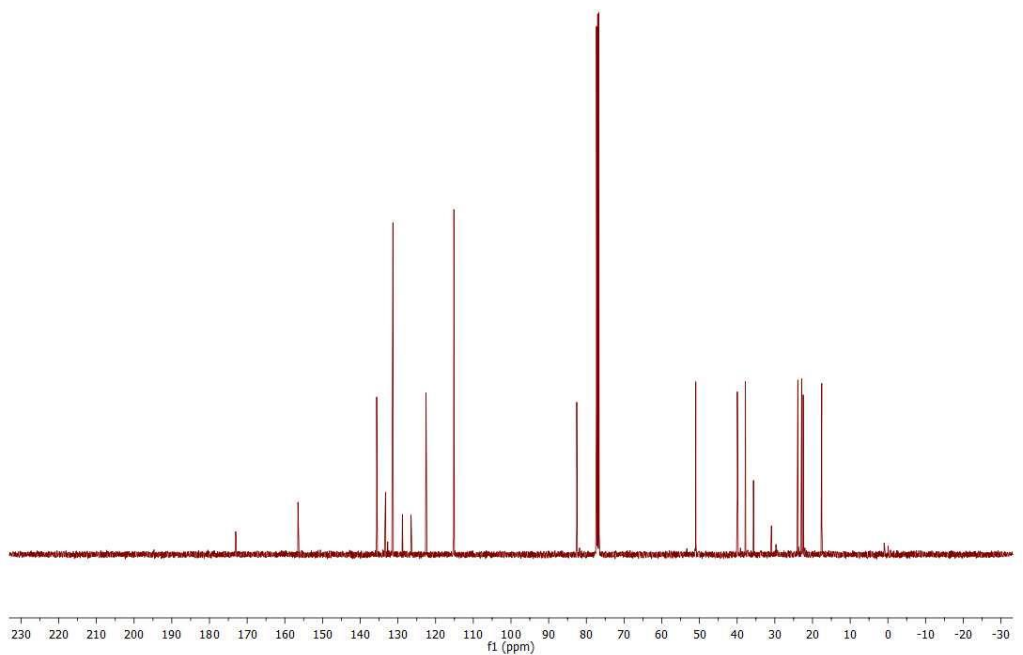
รูปที่ A.5 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (6) ใน CDCl_3



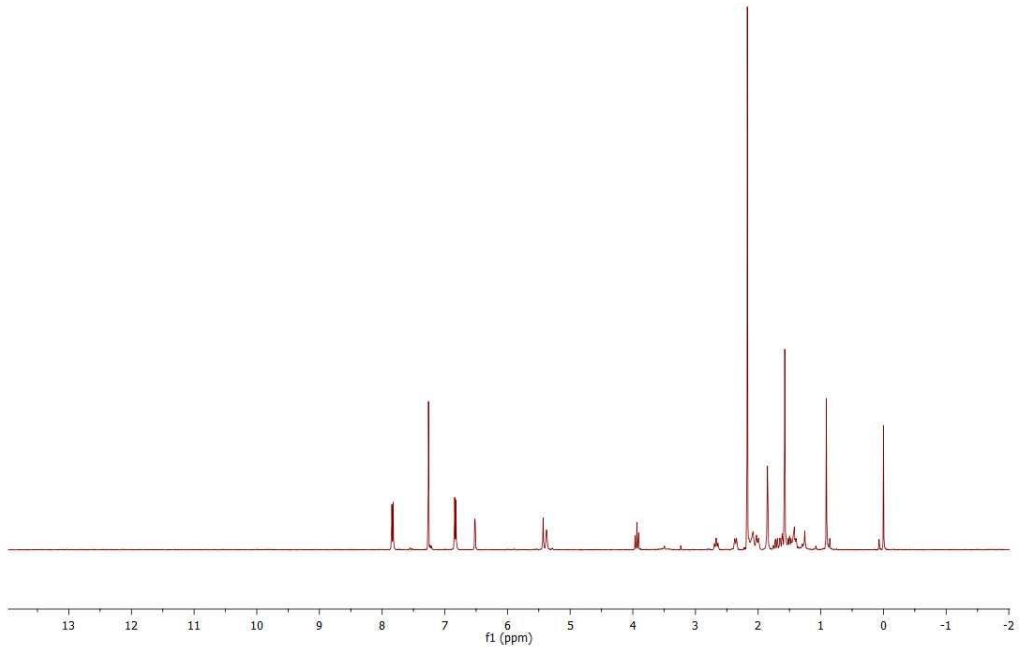
รูปที่ A.6 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (6) ใน CDCl_3



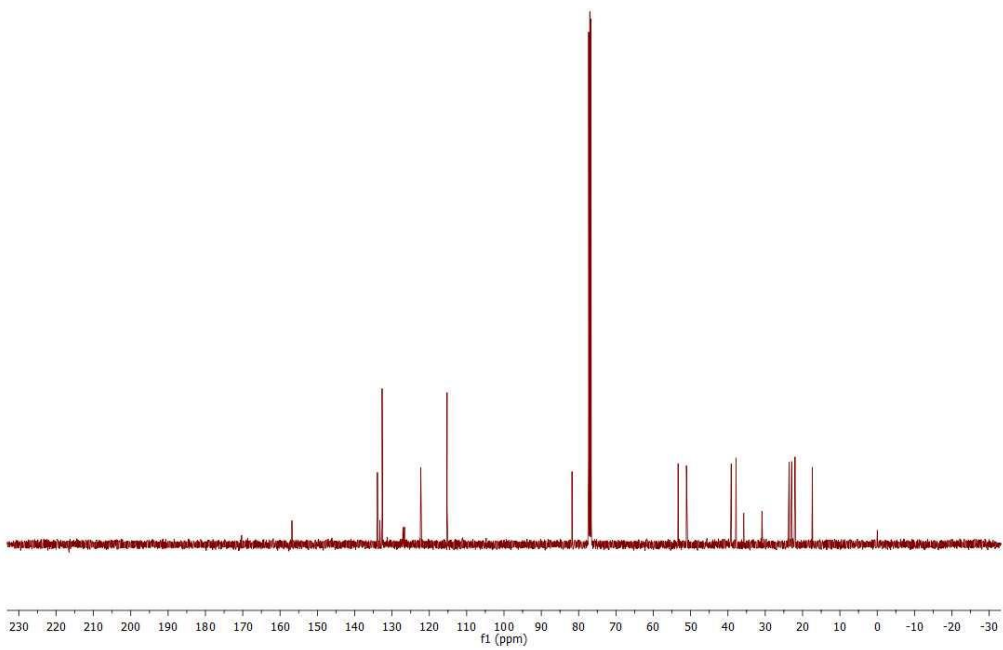
รูปที่ A.7 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (7) ใน CDCl_3



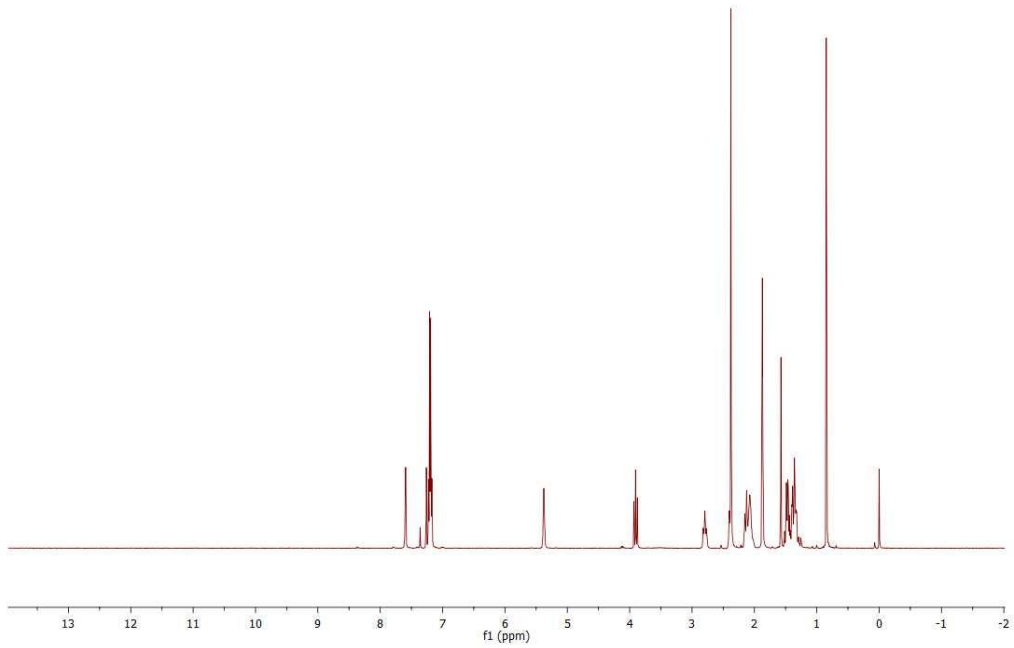
รูปที่ A.8 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (7) ใน CDCl_3



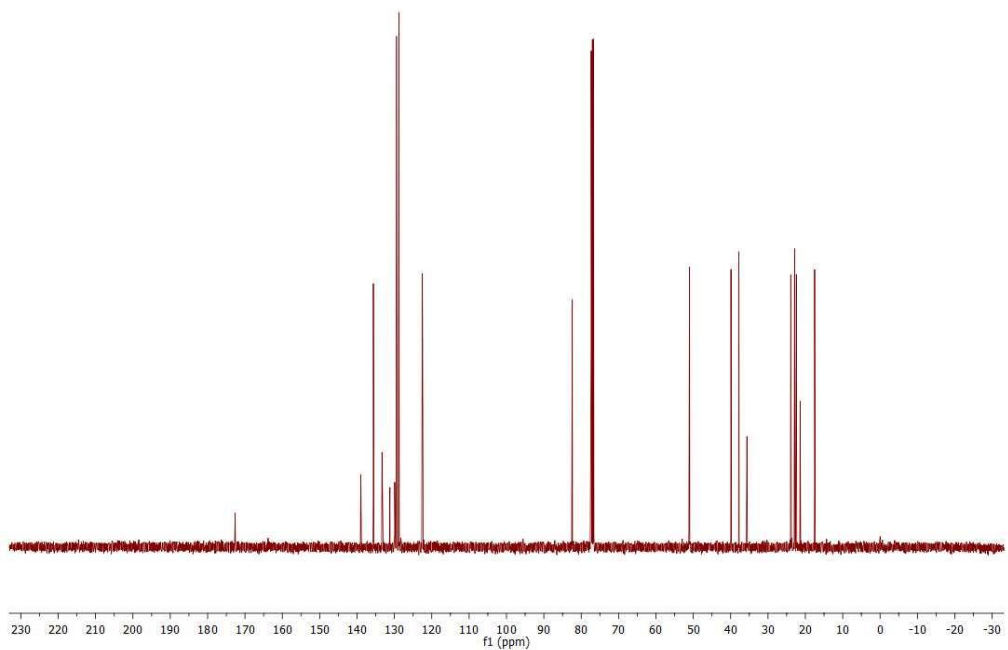
รูปที่ A.9 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (8) ใน CDCl_3



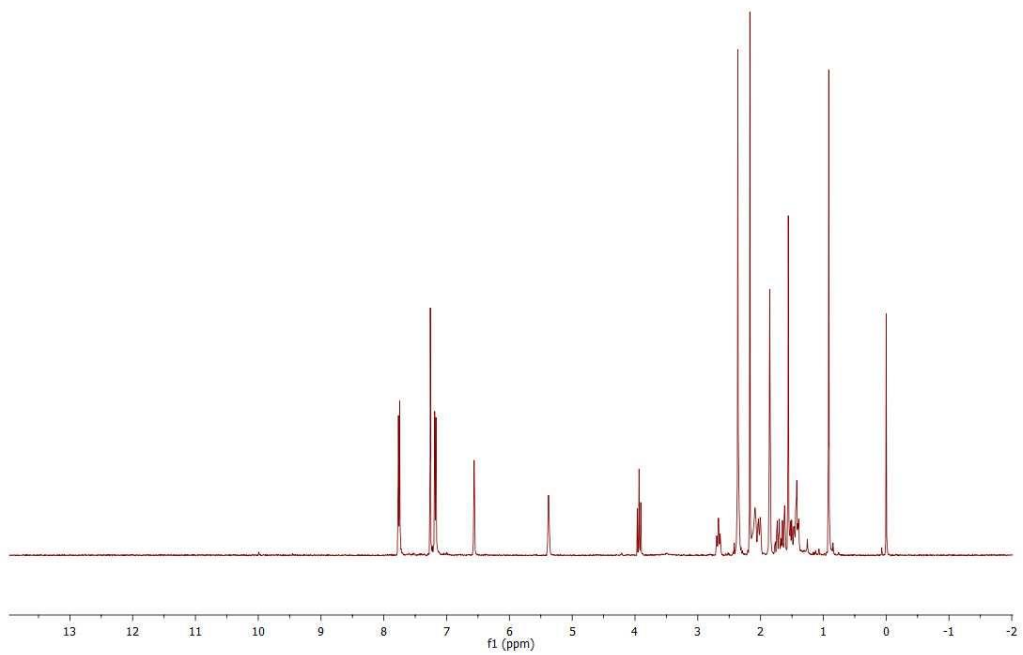
รูปที่ A.10 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (8) ใน CDCl_3



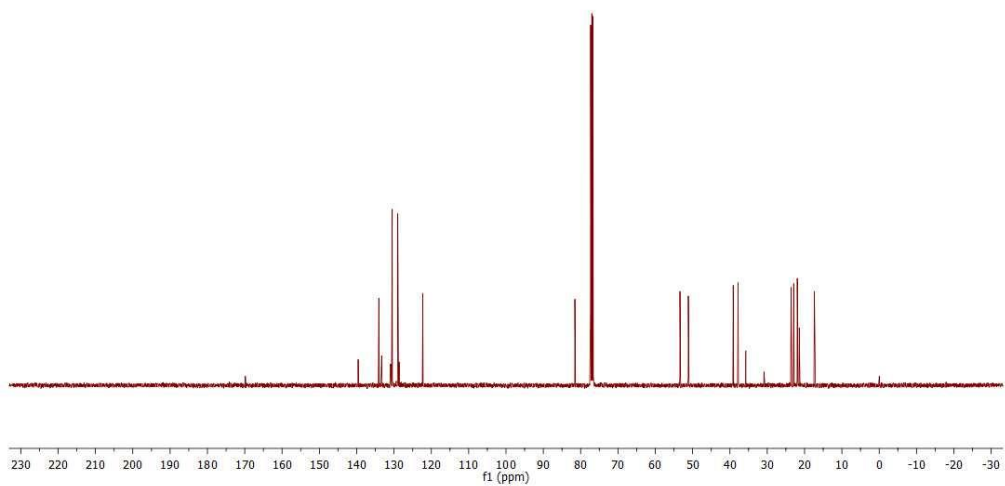
รูปที่ A.11 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (9) ใน CDCl_3



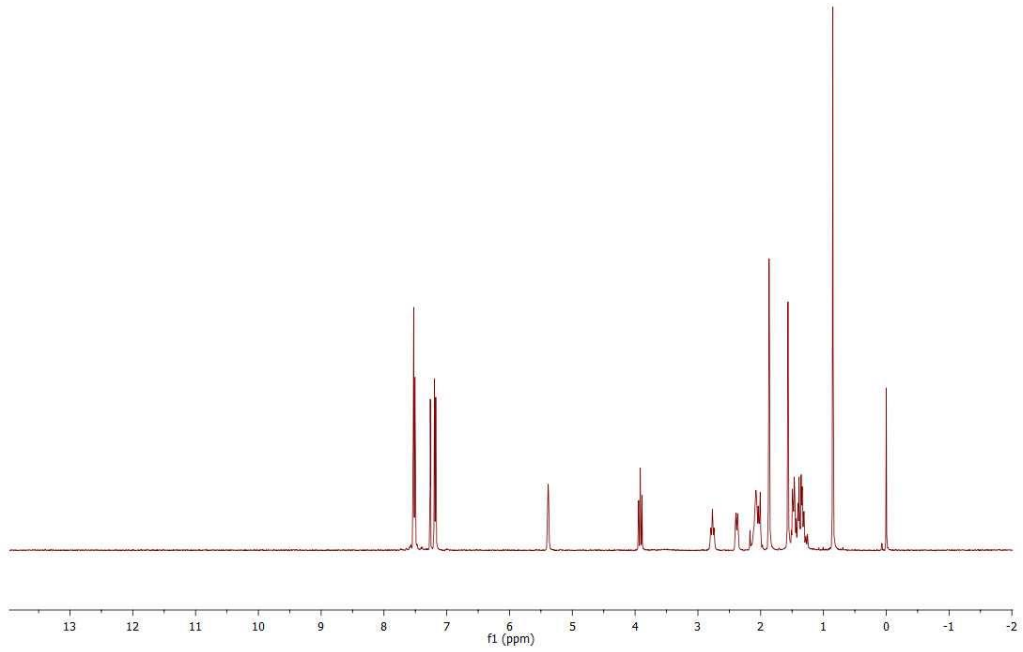
รูปที่ A.12 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (9) ใน CDCl_3



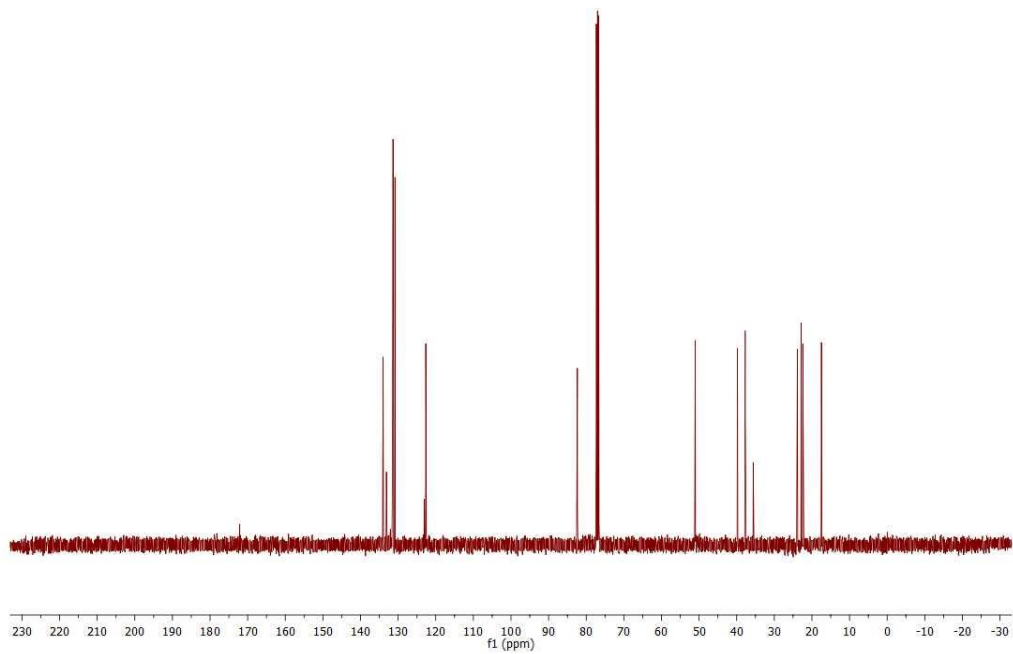
รูปที่ A.13 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (10) ใน CDCl_3



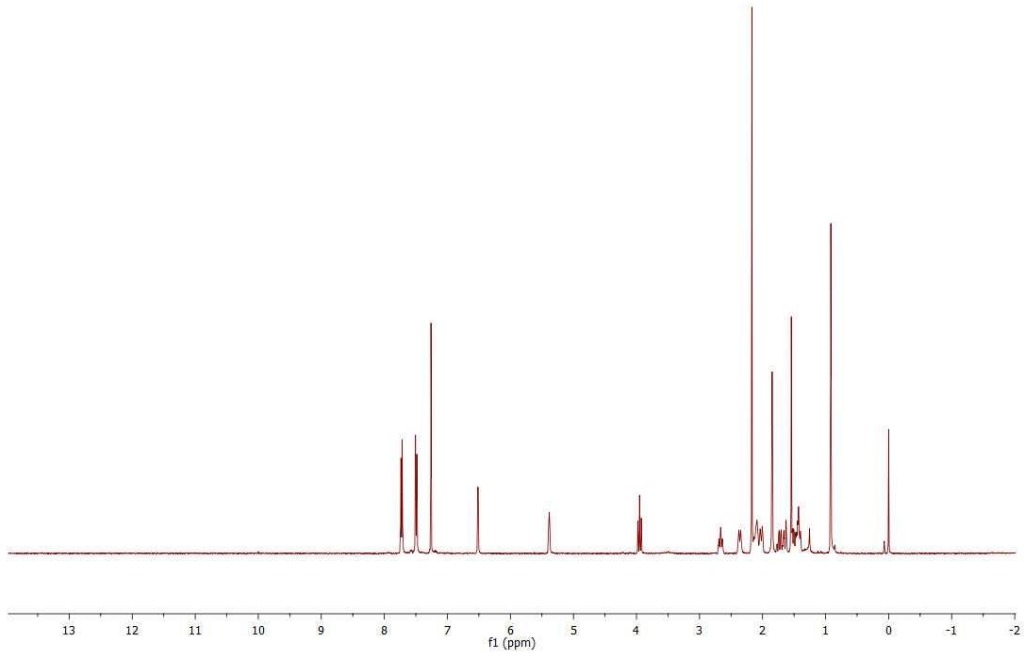
รูปที่ A.14 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (10) ใน CDCl_3



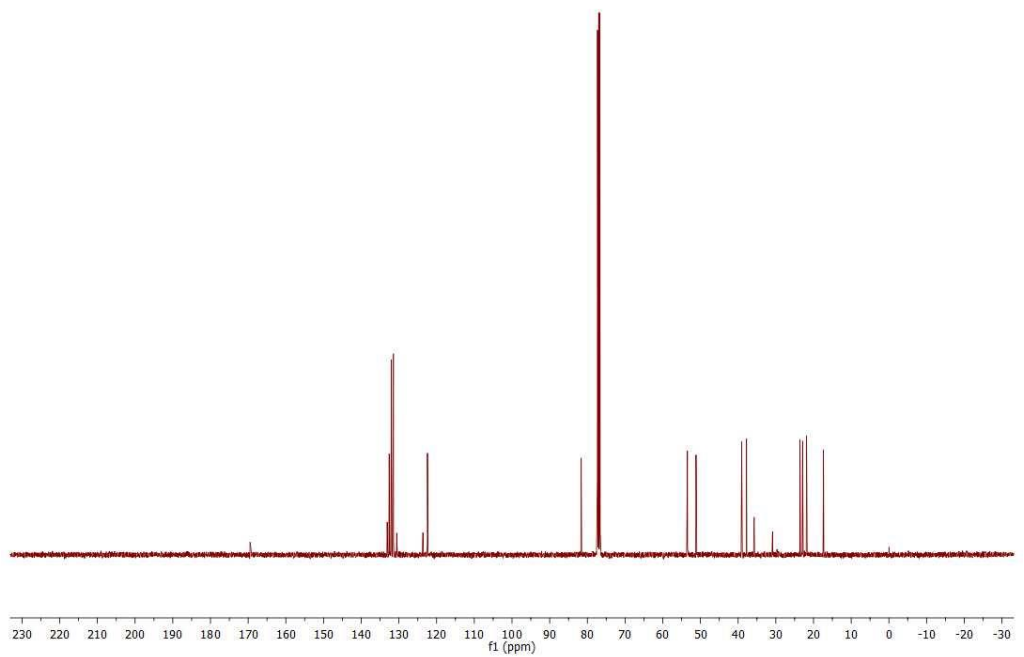
รูปที่ A.15 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (11) ใน CDCl_3



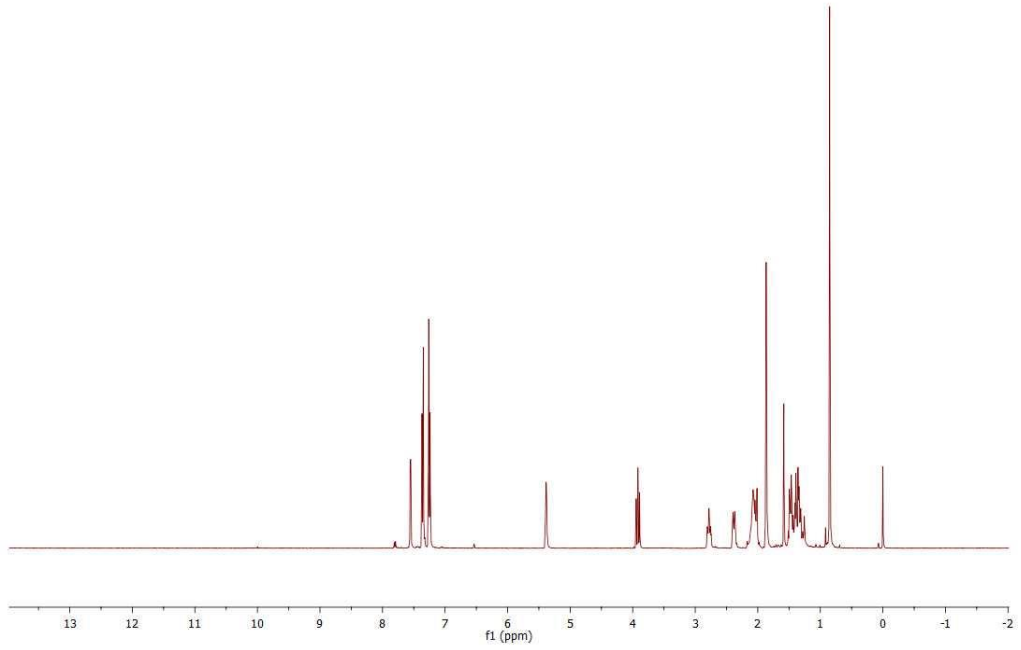
รูปที่ A.16 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (11) ใน CDCl_3



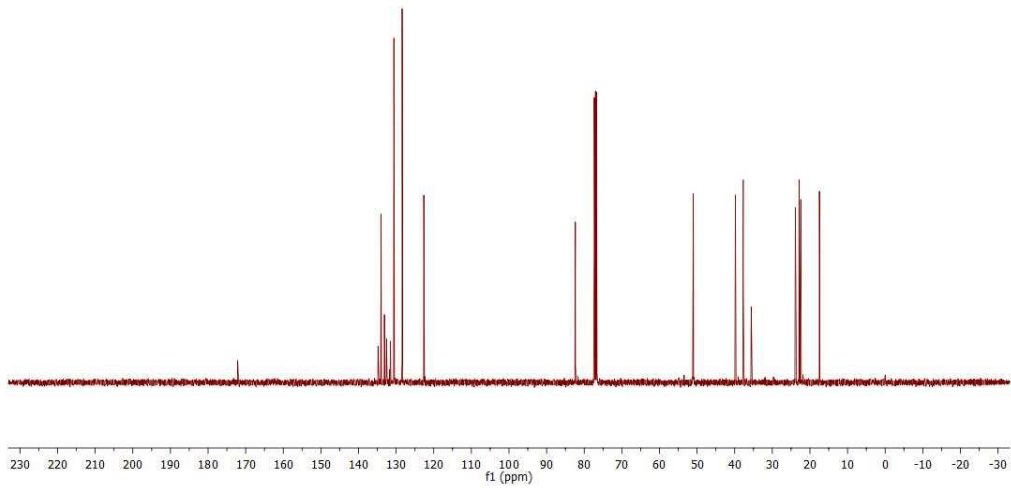
รูปที่ A.17 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (12) ใน CDCl_3



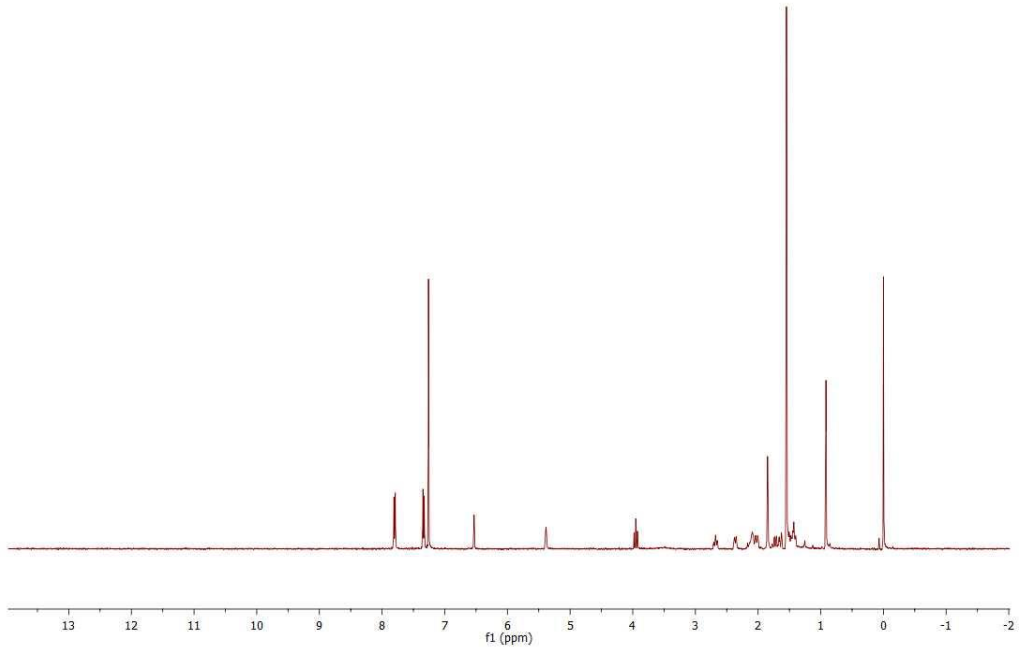
รูปที่ A.18 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (12) ใน CDCl_3



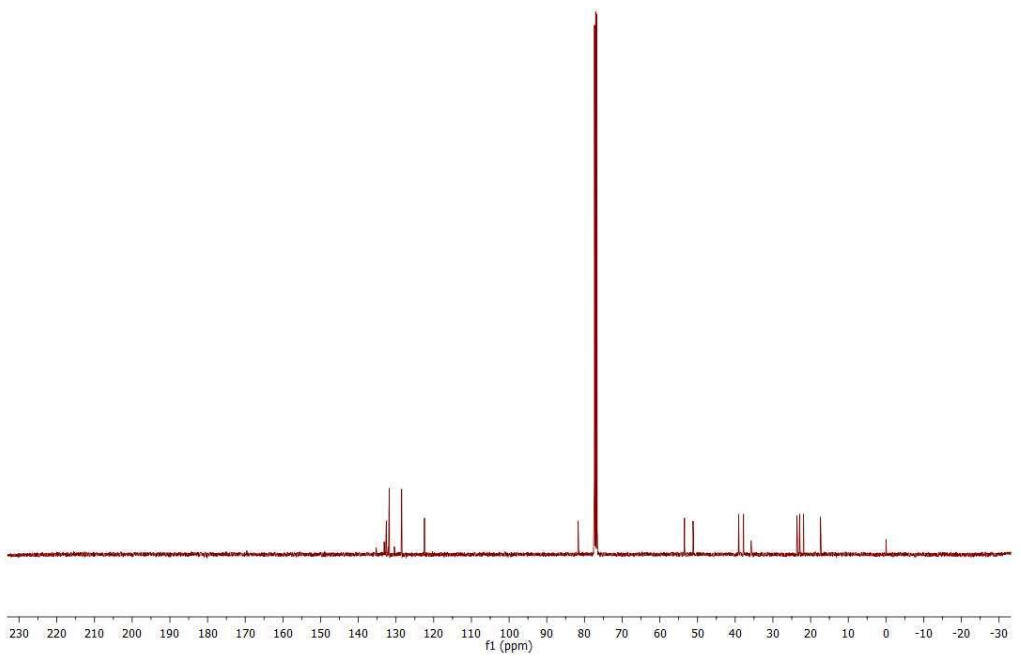
รูปที่ A.19 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (13) ใน CDCl_3



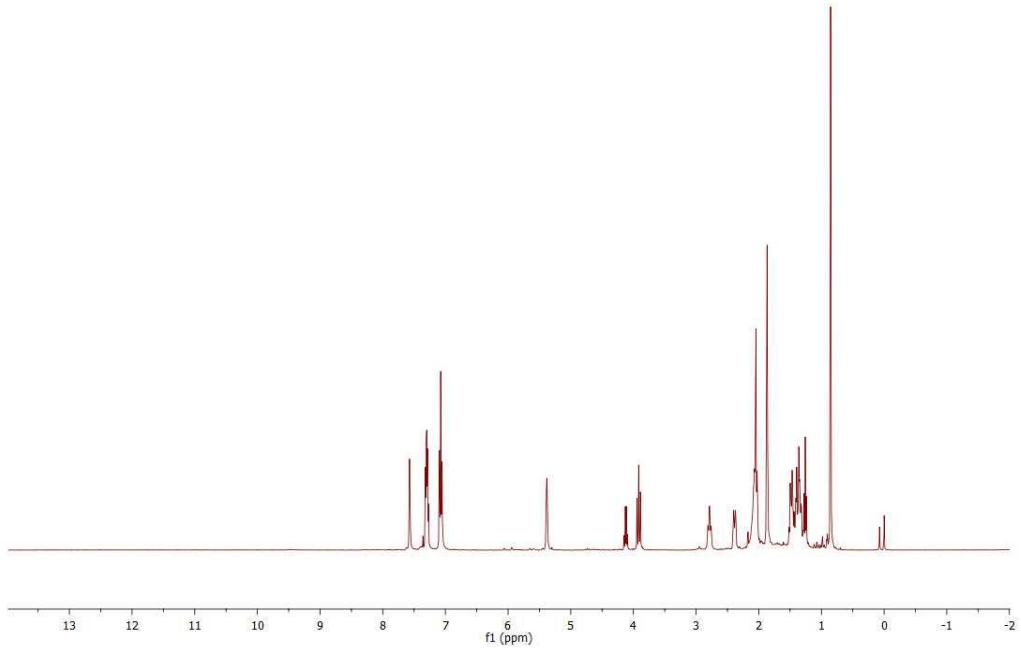
รูปที่ A.20 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (13) ใน CDCl_3



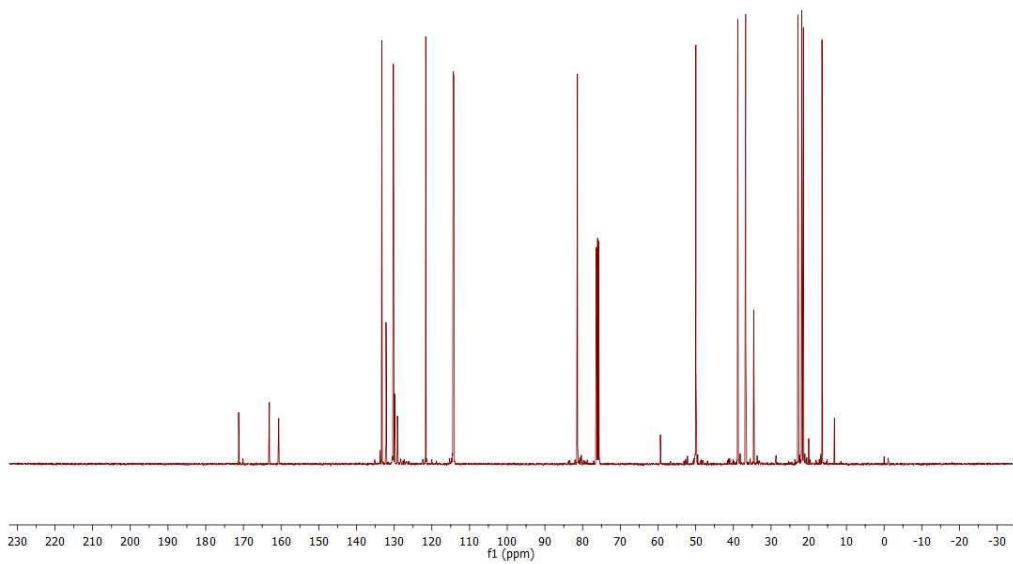
รูปที่ A.21 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (14) ใน CDCl_3



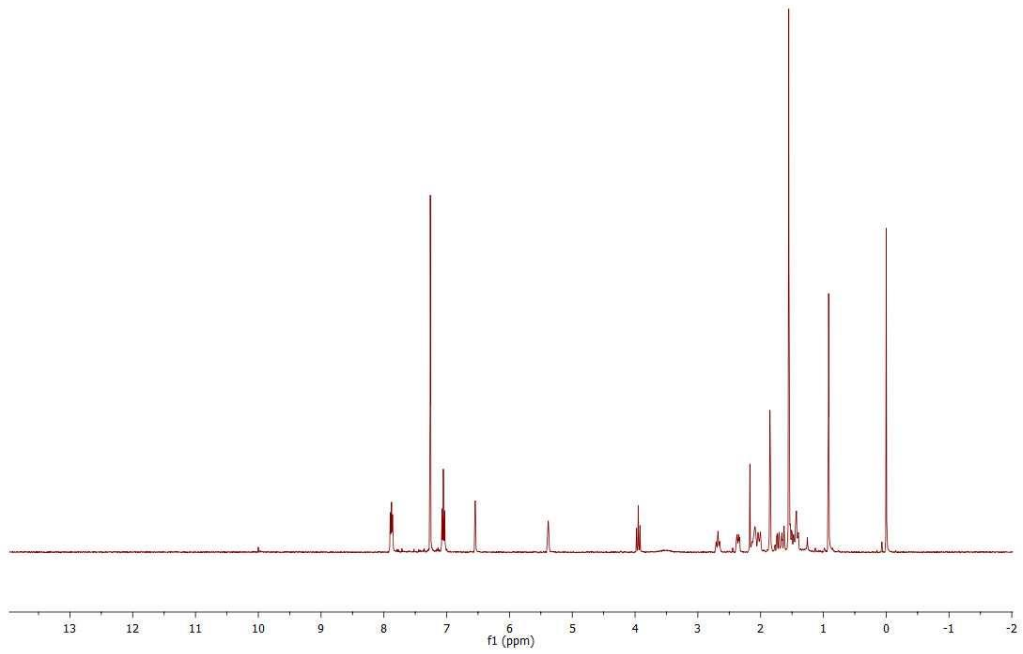
รูปที่ A.22 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (14) ใน CDCl_3



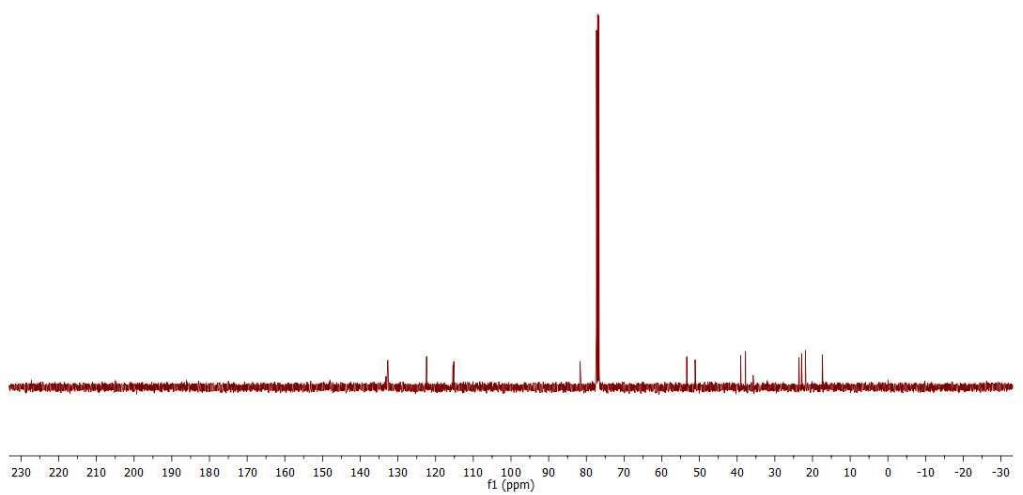
รูปที่ A.23 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (15) ใน CDCl_3



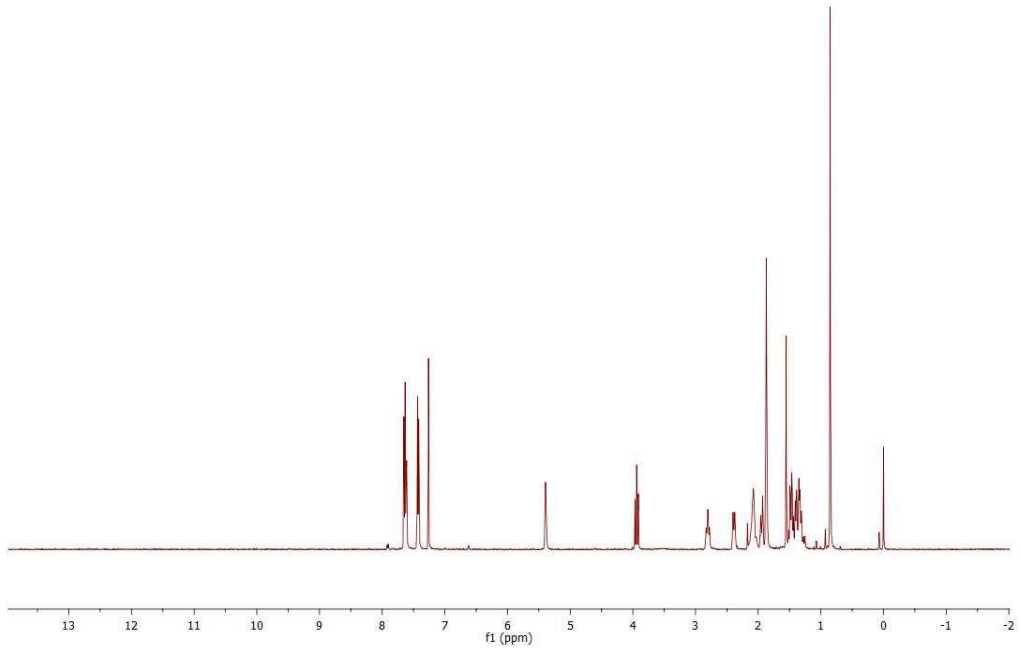
รูปที่ A.24 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (15) ใน CDCl_3



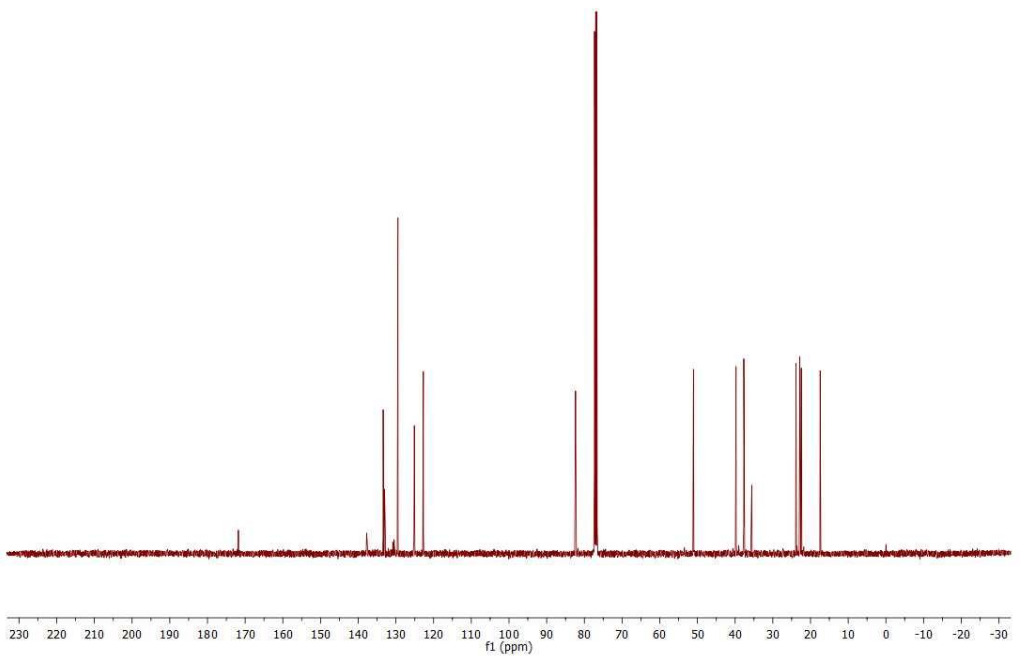
รูปที่ A.25 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (16) ใน CDCl_3



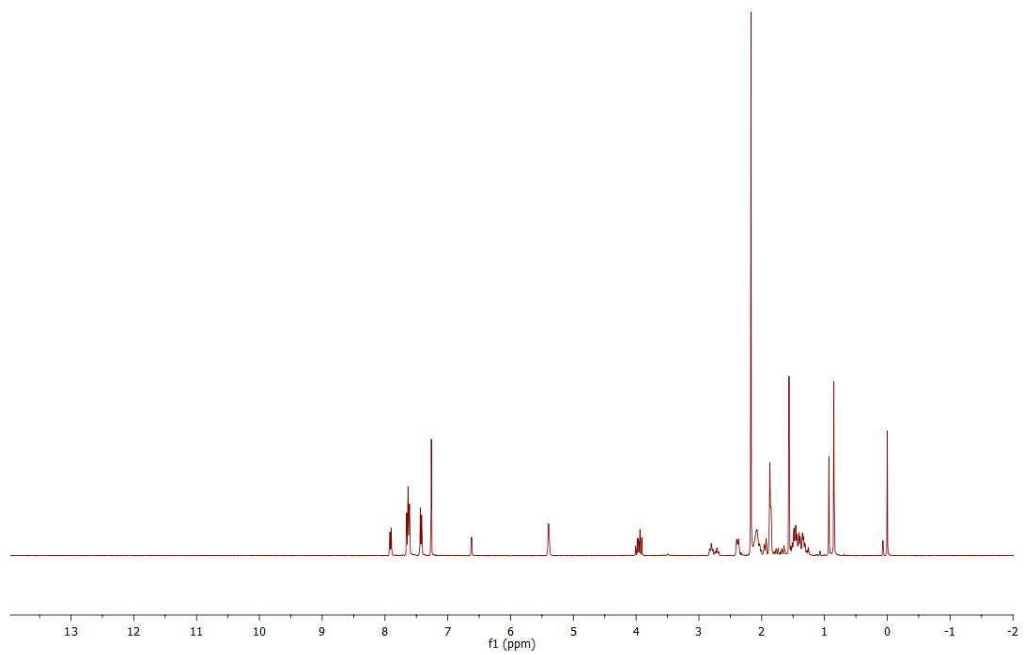
รูปที่ A.26 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (16) ใน CDCl_3



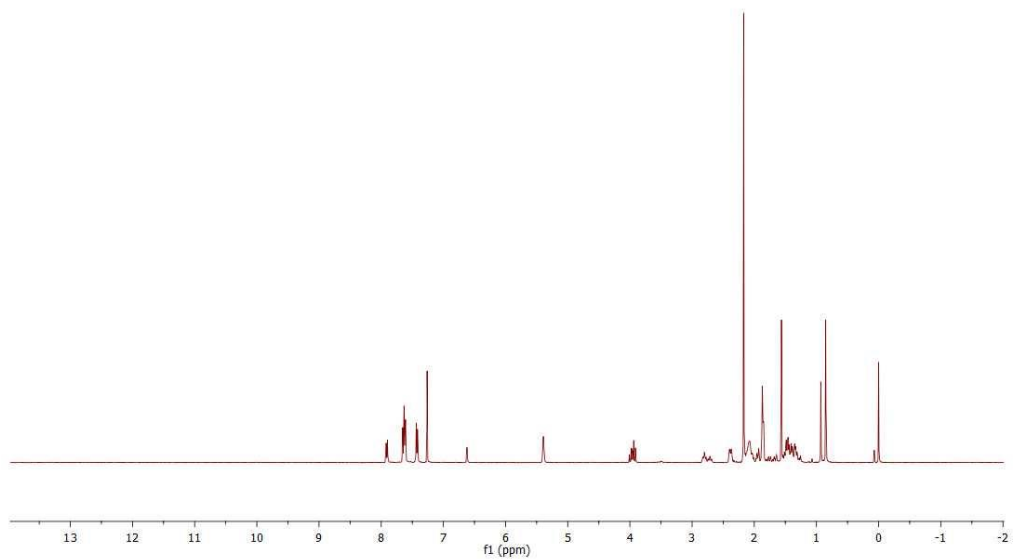
รูปที่ A.27 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (17) ใน CDCl_3



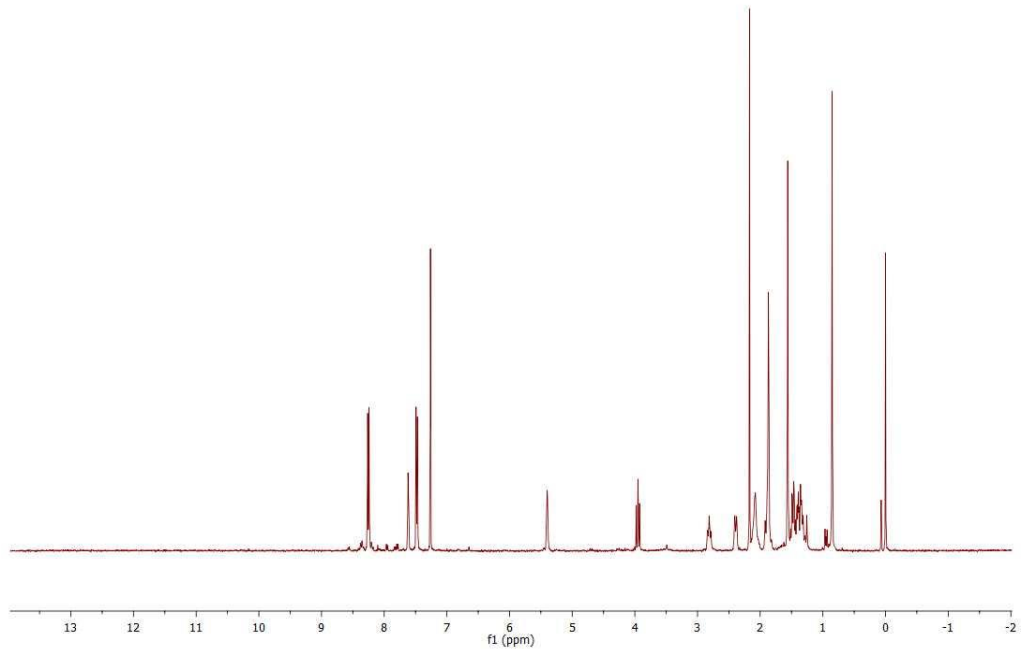
รูปที่ A.28 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (17) ใน CDCl_3



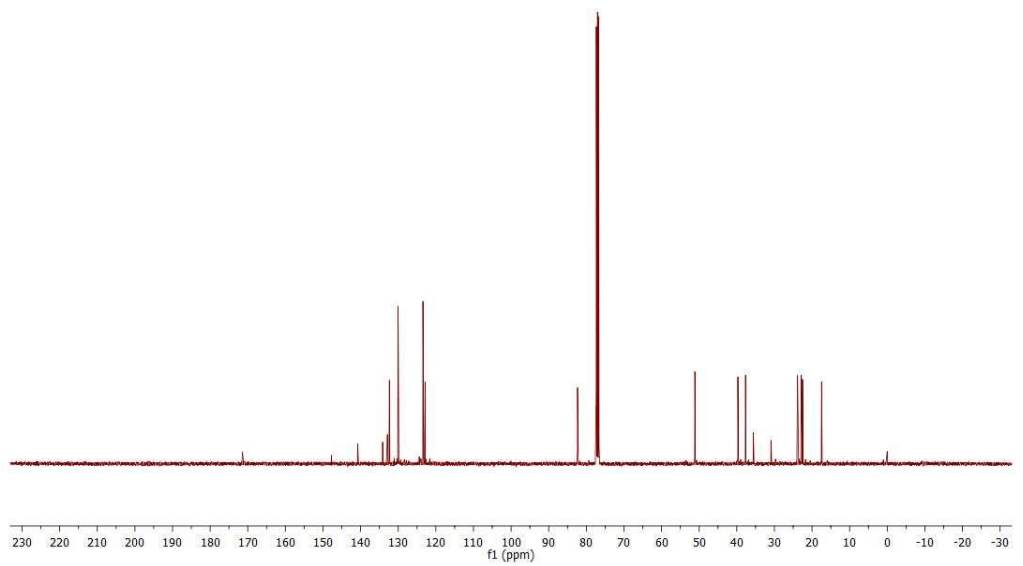
รูปที่ A.29 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (18) ใน CDCl_3



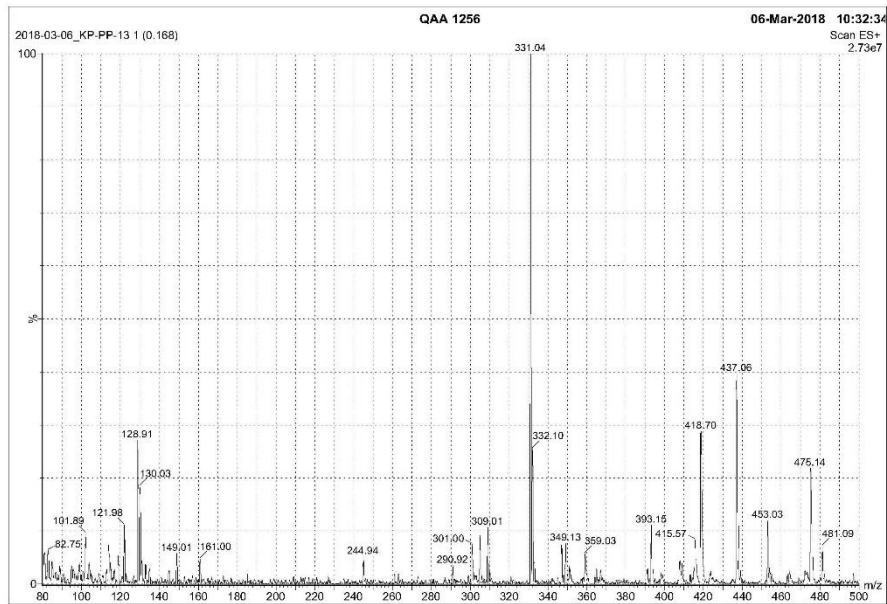
รูปที่ A.30 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (18) ใน CDCl_3



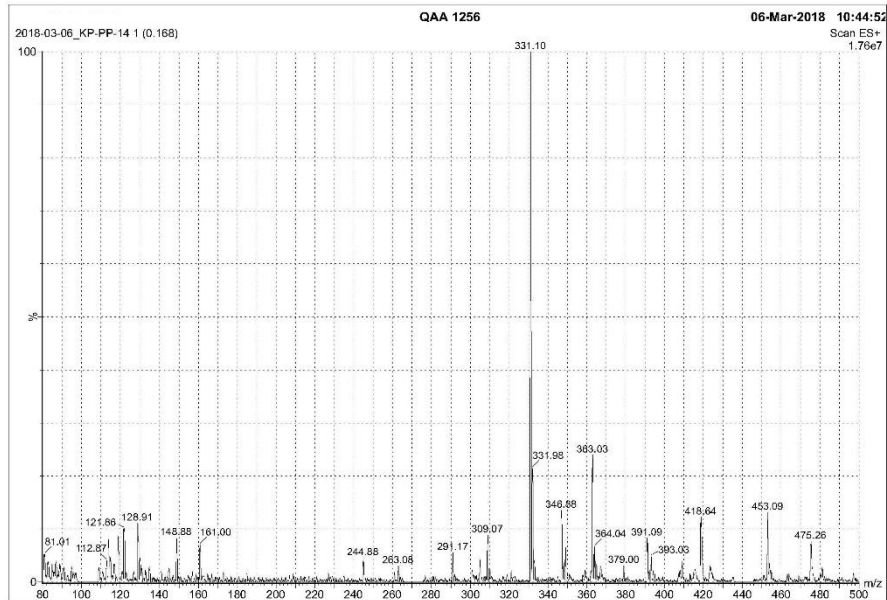
รูปที่ A.31 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ (19) ใน CDCl_3



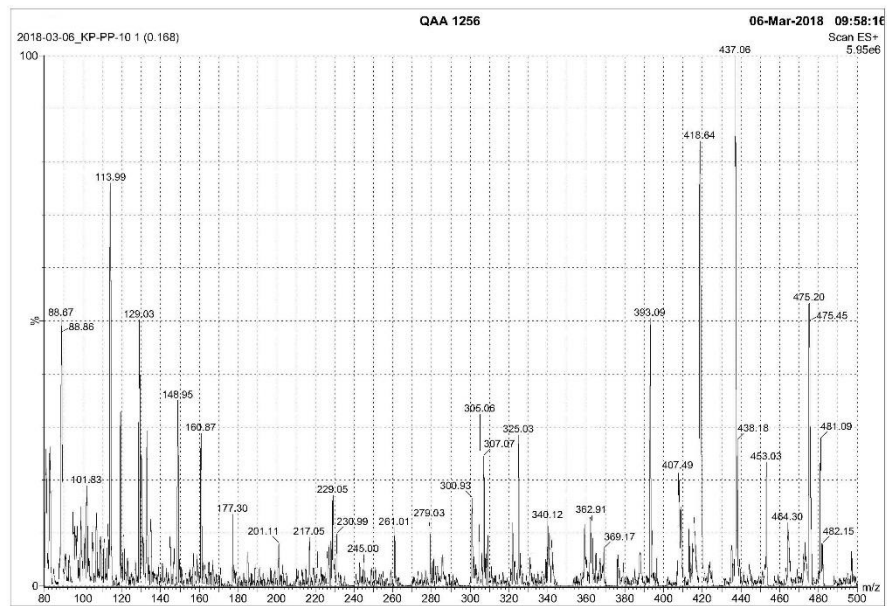
รูปที่ A.32 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ (19) ใน CDCl_3



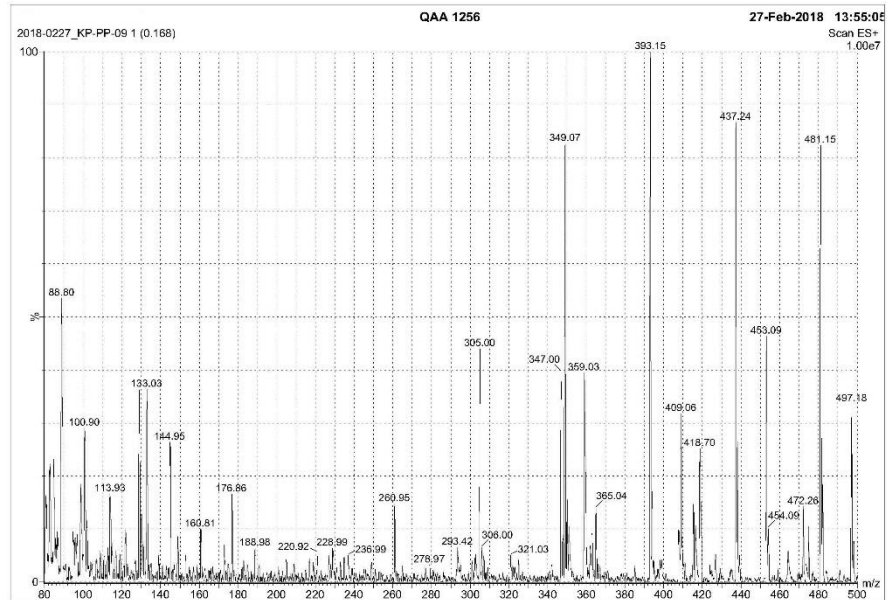
รูปที่ A.33 Mass Spectrum ของสารประกอบ (5) ใน methanol



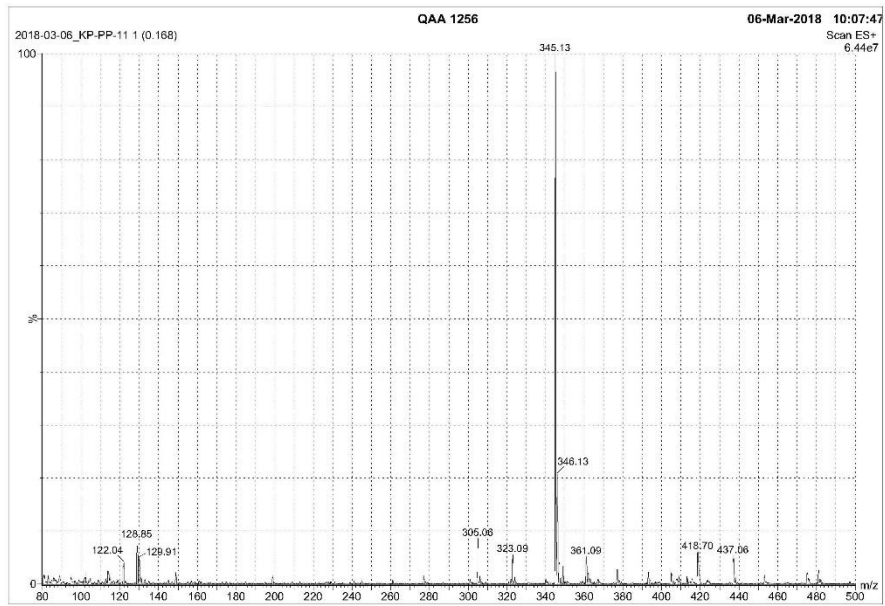
รูปที่ A.34 Mass Spectrum ของสารประกอบ (6) ใน methanol



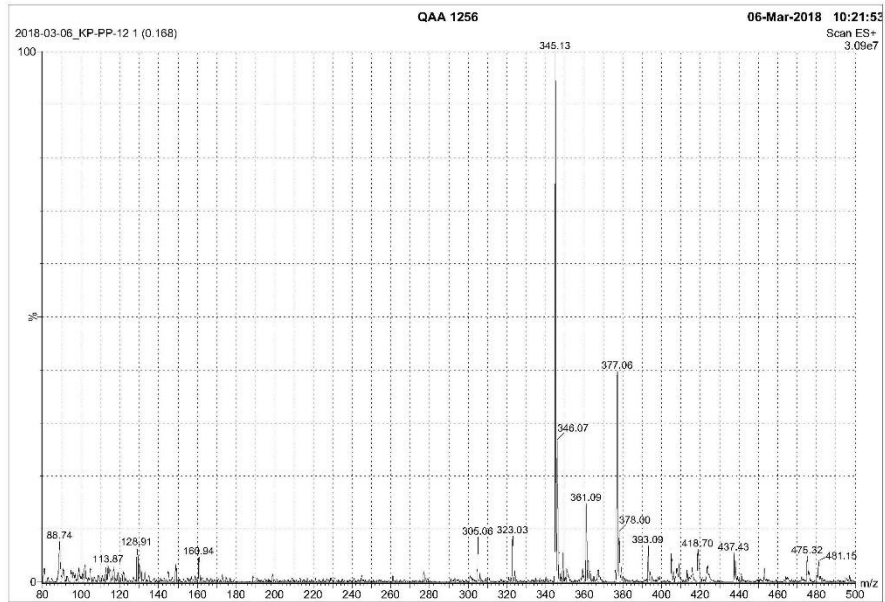
รูปที่ A.35 Mass Spectrum ของสารประกอบ (7) ใน methanol



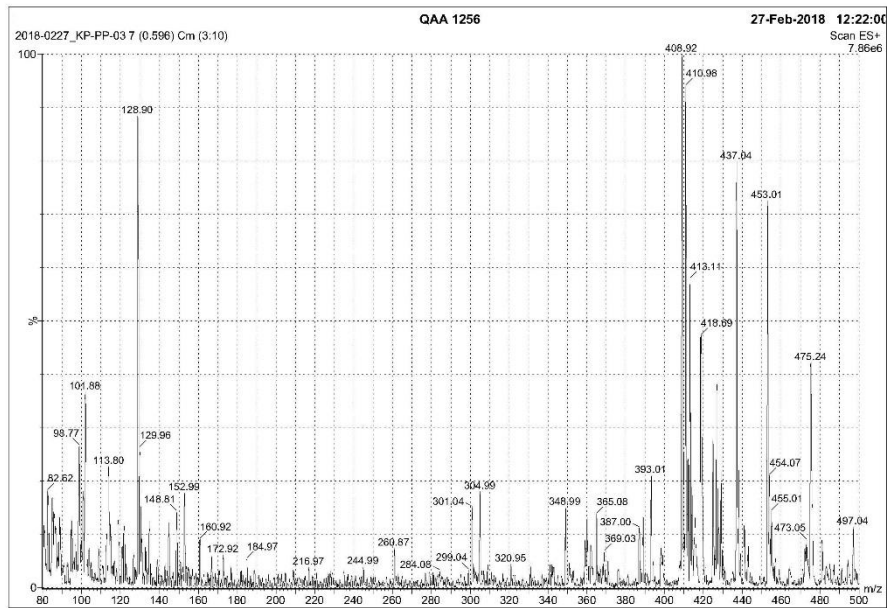
รูปที่ A.36 Mass Spectrum ของสารประกอบ (8) ใน methanol



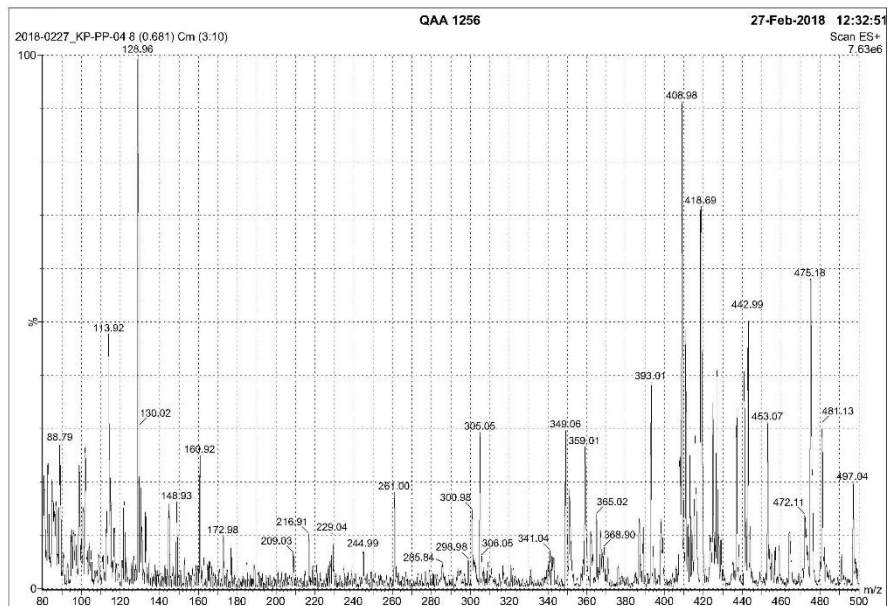
รูปที่ A.37 Mass Spectrum ของสารประกอบ (9) ใน methanol



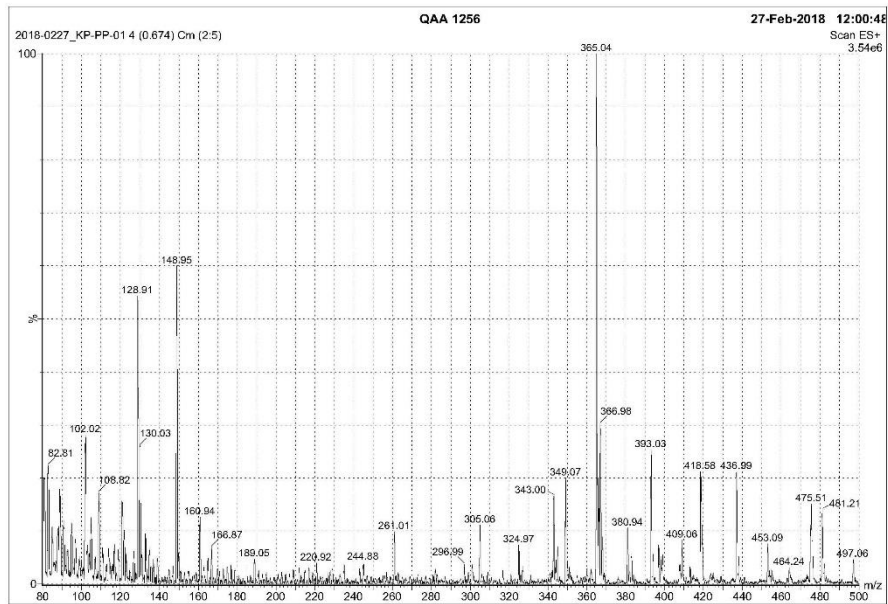
รูปที่ A.38 Mass Spectrum ของสารประกอบ (10) ใน methanol



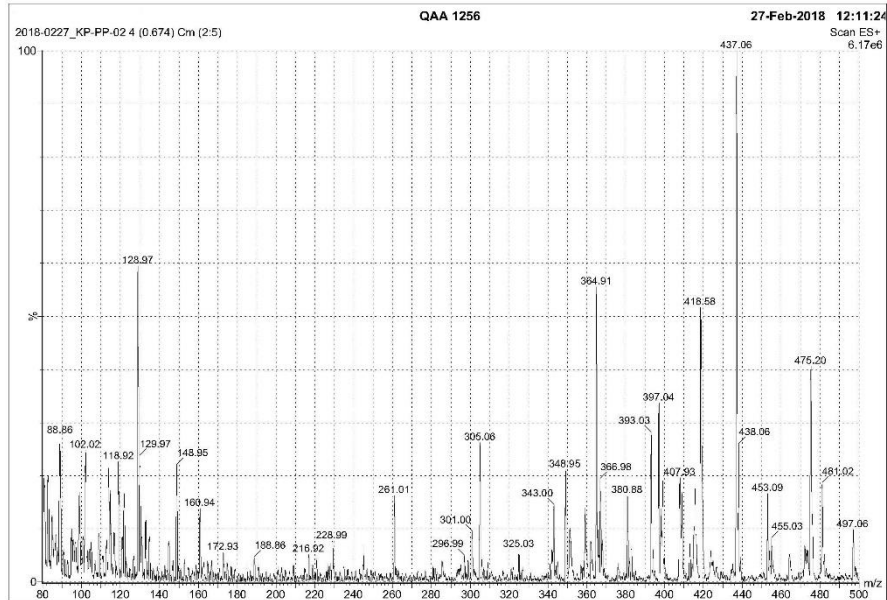
รูปที่ A.39 Mass Spectrum ของสารประกอบ (11) ใน methanol



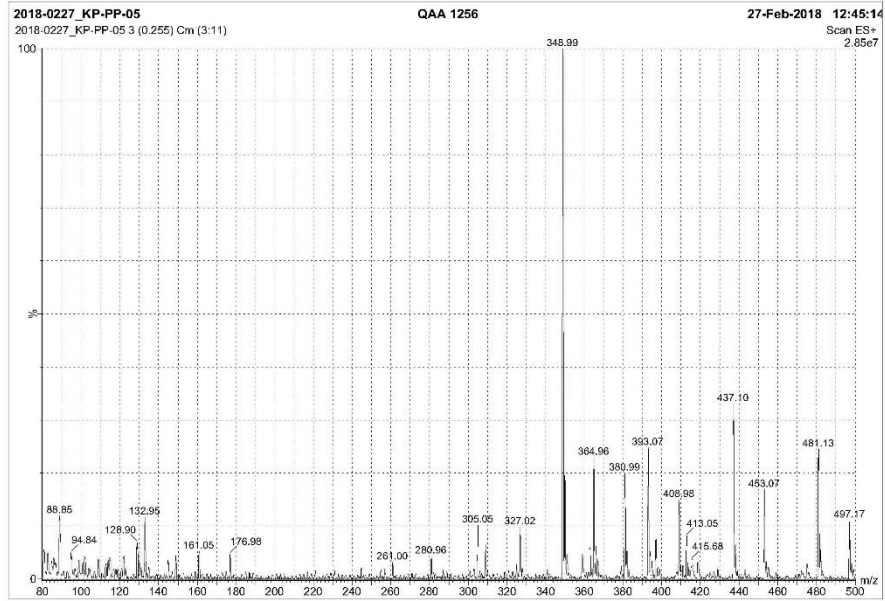
รูปที่ A.40 Mass Spectrum ของสารประกอบ (12) ใน methanol



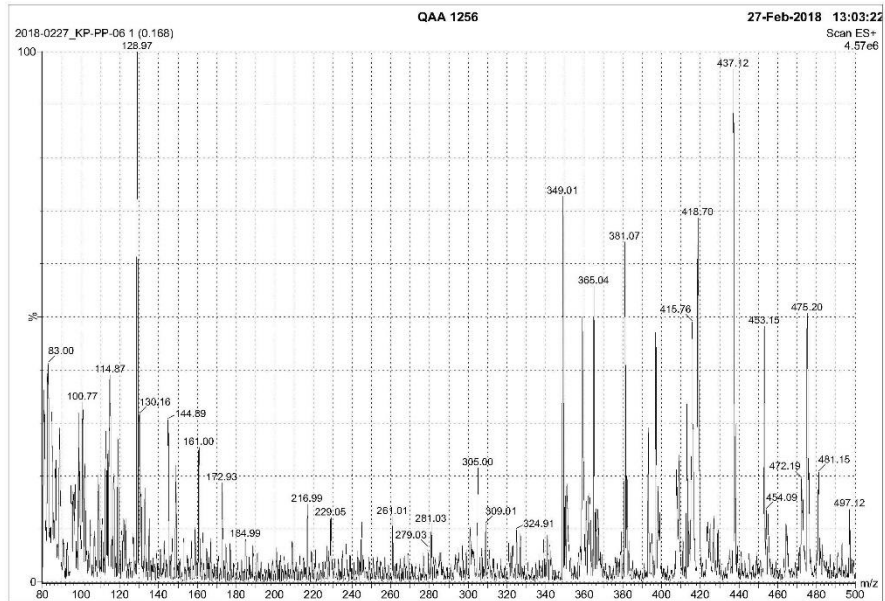
รูปที่ A.41 Mass Spectrum ของสารประกอบ (13) ใน methanol



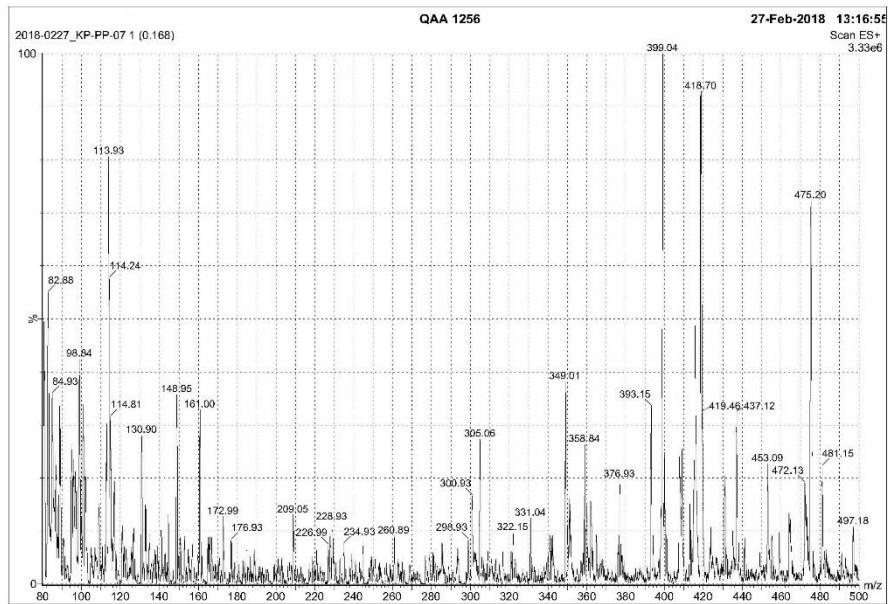
รูปที่ A.42 Mass Spectrum ของสารประกอบ (14) ใน methanol



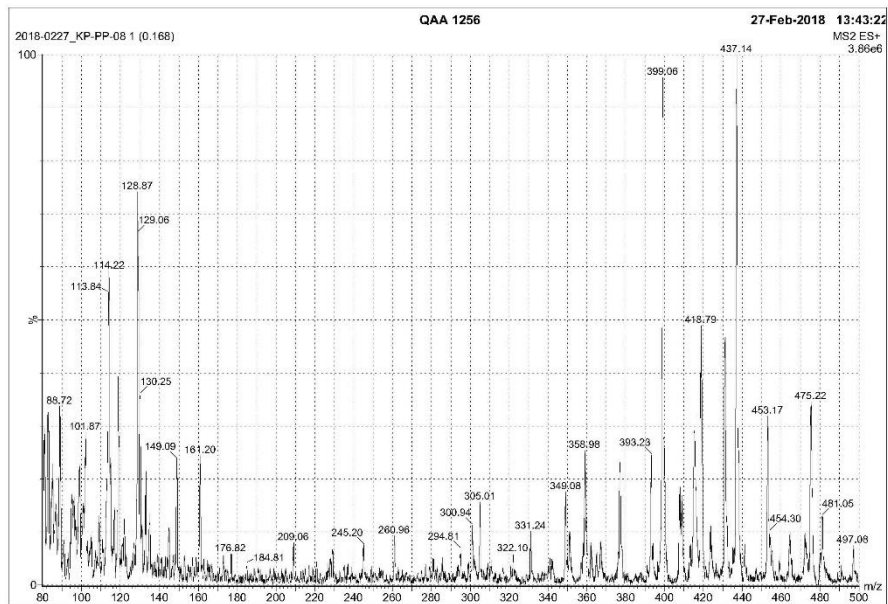
รูปที่ A.43 Mass Spectrum ของสารประกอบ (15) ใน methanol



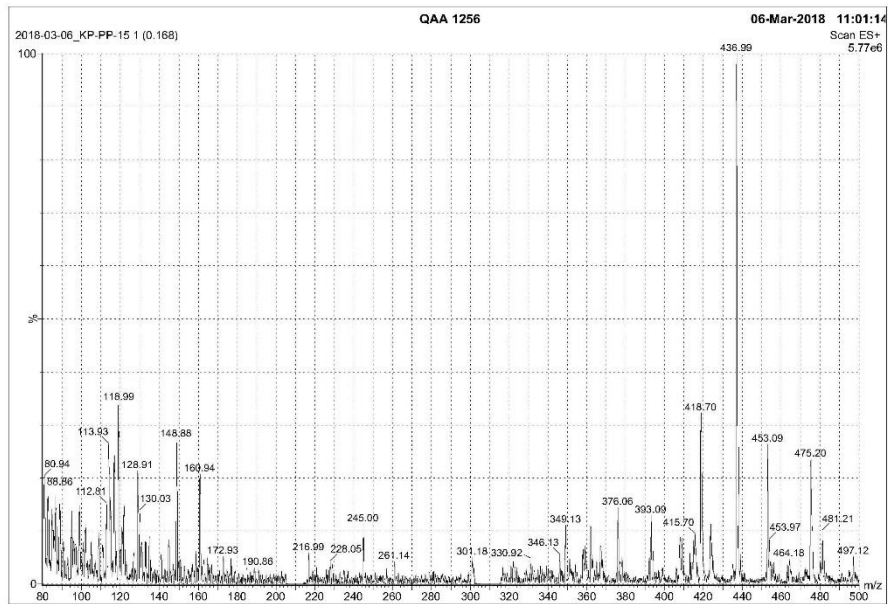
รูปที่ A.44 Mass Spectrum ของสารประกอบ (16) ใน methanol



รูปที่ A.45 Mass Spectrum ของสารประกอบ (17) ใน methanol



รูปที่ A.46 Mass Spectrum ของสารประกอบ (18) ใน methanol



รูปที่ A.47 Mass Spectrum ของสารประกอบ (19) ใน methanol

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวพรพิมล พงศ์พนัส เกิดเมื่อวันที่ 29 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2538 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนปรางจินราชฎาราม อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี. เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 33/4 ตำบล บ้านพระ อำเภอเมือง จังหวัด ปราจีนบุรี รหัสไปรษณีย์ 25230 อีเมล moog.aiepoissac@hotmail.com