

วิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.1.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

การวิจัยนี้เป็นการหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยทำการสกัดและแยกสิ่งสกปรก ซึ่งมีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพควบคู่ไปด้วย โดยในขั้นตอนแรก เป็นการสกัดสารจากต้นงาขาว ร้อยเอ็ดด้วยเฮกเซน ตามด้วยคลอโรฟอร์ม, เมทานอล และเอทิลเอซิเตต จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพบว่า สิ่งสกปรกในเอทิลเอซิเตต ซึ่งมีองค์ประกอบ 0.31% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือ สิ่งสกปรกจากเมทานอล, คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ซึ่งมีองค์ประกอบ 2.83%, 1.34% และ 2.83% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง ตามลำดับ โดยจะพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4

ขั้นตอนต่อมา เป็นการนำสิ่งสกปรกจากเฮกเซนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวน้อยที่สุด มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้ S₁-S₁₀ (ตารางที่ 6) พบว่า S₉ ซึ่งมีองค์ประกอบ $1.82 \times 10^{-1}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.02 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด ซึ่งจากการแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้น้ำมันสีเขียวบนของแข็งสีขาว ในลำดับส่วนที่ 33-52 (ตารางที่ 9) ซึ่งนำมาแยกซ้ำอีกครั้งโดยวิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าจะได้ของแข็งสีขาว (สาร ฉ) ในลำดับส่วนที่ 1-3 (ตารางที่ 10) และอีกส่วนของ S₉ ที่นำมาแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้ของแข็งสีขาว (สาร ช) ในลำดับส่วนที่ 1-4 และ (สาร จ) ในลำดับส่วนที่ 7-17 (ตารางที่ 11) รองลงมาคือ S₁₆ ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองบนผลึกรูปเข็ม โดยสามารถกรองแยกผลึกรูปเข็มได้ (สาร ง), S₁₈ และ S₁₇ ซึ่งเมื่อนำ S₁₈ มาทำการแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าจะได้ผลึกสีเหลืองอ่อนแวววาว ในลำดับส่วนที่ 9-40

(ตารางที่ 8) เช่นเดียวกับ S₁₇ (สาร จ) ส่วนสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวรองขึ้นมาจากเฮกเซน นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ S₂₁-S₂₁₃ (ตารางที่ 12) พบว่า S₂₁₁ ซึ่งมีองค์ประกอบ 4.04x10⁻²% โดยน้ำหนักต้นงาแห้งและความเข้มข้น 0.05 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด และนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ รองลงมาคือ S₂₁₂, S₂₈ ซึ่งจากการแยก S₂₈ ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ของแข็งสีขาว ในลำดับส่วนที่ 9-12 (ตารางที่ 14) ซึ่งมีคุณลักษณะเหมือน สาร ฉ, S₂₇ และ S₂₆ นอกจากนี้ยังนำ S₂₉ มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ของแข็งสีขาวอมเขียว ในลำดับส่วนที่ 53-91 (ตารางที่ 15) ซึ่งเมื่อนำมาแยกซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้ของแข็งสีขาวในลำดับส่วนที่ 1-2 ซึ่งก็จะมีคุณลักษณะเหมือน สาร ฉ เช่นกัน และสำหรับสิ่งสกัดในเมทานอล ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวรองจากเอทิลเอซิเตต เมื่อนำมาแยกด้วยควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ S₃₁-S₃₈ (ตารางที่ 19) พบว่า S₃₂ ซึ่งมีองค์ประกอบ 5.84x10⁻¹% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็งสีเหลือง โดยสามารถกรองแยกเอาของแข็งสีเหลืองออกมาได้ (สาร ญ) รองลงมาคือ S₃₃ ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็งสีเหลือง สามารถตกผลึกแยกเอาของแข็งสีเหลืองออกมาได้และทำให้บริสุทธิ์อีกครั้ง โดยใช้ preparative HPLC (สาร ฎ) แต่สำหรับสิ่งสกัดในเอทิลเอซิเตต ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด เมื่อนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ S₄₁-S₄₇ (ตารางที่ 23) พบว่า S₄₄ ซึ่งมีองค์ประกอบ 1.09x10⁻¹% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.01 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือ S₄₅, S₄₃ และ S₄₁ ตามลำดับ

3.1.2 การศึกษาความเป็นพิษกับปลา

การศึกษาความเป็นพิษกับปลาเป็นการศึกษาในส่วนที่เป็นสิ่งสกัดจากตัวทาละลายต่าง ๆ ของต้นงาขาวร้อยเอ็ด อันได้แก่ สิ่งสกัดในเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล และเอทิลเอซิเตต ผลการทดสอบเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. หลังจากใส่สาร แสดงดังตารางที่ 5

พบว่า ที่อัตราความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.10 กรัม ในน้ำ 200 ซม.³ สิ่งสกัดในเฮกเซน ที่ความเข้มข้น 0.10 เท่านั้น ที่ทำให้ปลาตาย 14.28 % นอกจากนี้ยังพบว่า สิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นถึง 0.10 กรัม จำนวนปลาที่ตายก็ยังคงเป็น 14.28 %, ส่วนสิ่งสกัดในเมทานอล พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.10 เท่านั้น ที่ทำให้ปลาตาย 28.57 % และ สิ่งสกัดในเอทิลเอซิเตต ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 กรัม เท่านั้น ที่ทำให้ปลาตาย 14.28 %

3.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้ในสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอลและเอทิลเอซิเตต ของต้นงาขาวร้อยเอ็ด

3.2.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ก

สาร ก มีลักษณะเป็นผลึกแวววาวสีขาวหนัก 1.23 กรัม (4.10×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 65-67 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.94 [เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ก ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเอซิโตน-เฮกเซน ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ก จะให้ผลลกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, 2,4 DNP, 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ก ไม่ใช่สารประกอบประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์, ไม่มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล, ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารที่อิมตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 17) จะปรากฏเฉพาะแถบการดูดกลืนของหมู่ CH_3 และ CH_2 เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี จากข้อมูลดังกล่าว สาร ก น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน (49) สำหรับข้อมูลแถบการดูดกลืนแสงของ สาร ก แสดงดังตารางที่ 30

ตารางที่ 30 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ก

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
2920, 2860	สูง	C-H สัมแบบยืดของ CH ₂ , CH ₃
1480-1470	สูง	C-H สัมแบบงอของ CH ₂
1375	ต่ำ	C-H สัมแบบงอของ CH ₃
730-720	ปานกลาง	C-H สัมแบบงอแบบโค้งของ (-CH ₂) _n , n ≥ 4

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 18) ปรากฏสัญญาณของ 3 ประเภท โดยที่ δ 0.83 ppm เป็นสัญญาณของหมู่ CH₃ นอกจากนี้ที่ δ 1.65 และ 1.30 ppm จะปรากฏสัญญาณของหมู่ CH₂ ซึ่งมีความเข้มสูงมาก แสดงว่า สาร ก ประกอบไปด้วยหมู่ CH₂ จำนวนมากในโมเลกุล

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 19) ปรากฏสัญญาณของหมู่ CH₃ และ CH₂ อยู่ในช่วง 14.0-29.0 ppm เท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 31 ซึ่งจะสอดคล้องกับคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเชิงตรง โดยให้สัญญาณของหมู่ CH₃ และ CH₂ อยู่ในช่วงนี้เช่นเดียวกัน (50)

ตารางที่ 31 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ก

ตำแหน่งคาร์บอน	เคมีคัลชิฟท์ของ สาร ก
C ₁	14.0
C ₂	23.0
C ₃	24.0
C ₄	28.0
C ₅	29.0

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด แสดงว่า สาร ก น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนไซตรง ซึ่งสามารถทำการยืนยันพิสูจน์โครงสร้างของ สาร ก ได้ โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไฮโดรคาร์บอนไซตรง ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (รูปที่ 20) พบว่า สาร ก ให้ค่า retention time เท่ากับ 13.51, 17.36, 22.36, 29.30, 38.16 และ 45.44 นาที ตามลำดับ และจากกราฟการเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 21) ก็พบว่า สาร ก เป็นของผสมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไซตรง 6 ชนิด ซึ่งแสดงดังตารางที่ 32

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 32 ไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรงชนิดต่าง ๆ ใน สาร ก

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -CH ₃	408	1.98
triacontane	C ₃₀ H ₆₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -CH ₃	422	1.03
hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -CH ₃	436	26.12
dotriacontane	C ₃₂ H ₆₆	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -CH ₃	450	7.34
tritriacontane	C ₃₃ H ₆₈	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -CH ₃	464	62.63
tetratriacontane	C ₃₄ H ₇₀	CH ₃ -(CH ₂) ₃₂ -CH ₃	478	0.88

3.2.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ข

สาร ข มีลักษณะเป็นของแข็งอสัณฐานสีขาวหนัก 0.06 กรัม (2.10×10^{-3} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยละแห้ง) จุดหลอมเหลว 80-81 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.90 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ข ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ข จะให้ผลลบกับ 5% FeCl₃ และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ข ไม่ใช่สารประกอบพีนอล แต่เป็นสารที่อิ่มตัวตามลำดับ

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 22) แสดงแถบการดูดกลืนแสง อันได้แก่ แถบการดูดกลืนแสงของหมู่คาร์บอนิลของเอสเทอร์ที่ความถี่ 1730 ซม.⁻¹ และลักษณะเฉพาะของไฮโดรคาร์บอน โดยข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ข แสดงดังตารางที่ 33

ตารางที่ 33 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ข

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
2920, 2840	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₂ , CH ₃
1730	สูง	C=O สั่นแบบยืดของเอสเทอร์
1450	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₂ , CH ₃
1170	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด
730-720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโค้งของ (-CH ₂ -) _n , n ≥ 4

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด แสดงว่า สาร ข น่าจะเป็นสารประกอบประเภท เอสเทอร์ไฮดรอกซ์ ดังนั้นจึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ข โดยการไฮโดรไลส์ สาร ข ออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนแอลกอฮอล์ และส่วนกรดด้วย 5% NaOH ในเอทานอล ได้ส่วนของ แอลกอฮอล์คือ สาร 1ข

สาร 1ข มีลักษณะเป็นของแข็งอัสฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 75-76 องศาเซลเซียส ให้ผลลกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ซึ่งจากการทำทินเนอร์โครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับแอลกอฮอล์ไฮดรอกซ์ พบว่ามีค่า R_f เท่ากัน และจากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีของ สาร 1ข ซึ่งเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ไฮดรอกซ์ (รูปที่ 23) ให้ค่า retention time เท่ากับ 7.14, 9.26, 11.44, 15.39, 19.29, 25.26 และ 33.59 และจากการเทียบกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 24) พบว่า สาร 1ข เป็น ของผสมของสารประกอบแอลกอฮอล์ไฮดรอกซ์ 7 ชนิด แสดงดังตารางที่ 34

ตารางที่ 34 แอลกอฮอล์โซ่ตรงชนิดต่าง ๆ ของ สาร 1ข

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -OH	410	1.21
nonacosanol	C ₂₉ H ₆₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -OH	424	0.53
triacontanol	C ₃₀ H ₆₂ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -OH	438	32.15
hentriacontanol	C ₃₁ H ₆₄ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -OH	452	3.38
dotriacontanol	C ₃₂ H ₆₆ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -OH	466	60.03
tritriacontanol	C ₃₃ H ₆₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₂ -OH	480	0.15
tetratriacontanol	C ₃₄ H ₇₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₃ -OH	494	2.54

และเนื่องจากในการไฮโดรไลส์ สาร 1ข ในส่วนของกรด พบว่าปริมาณสารที่ได้มีน้อยมาก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สาร 1ข เป็นสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์โซ่ตรง (C₂₈-C₃₄) กับกรดโซ่ตรง ซึ่งไม่สามารถระบุจำนวนคาร์บอนได้

3.2.3 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ค

สาร ค มีลักษณะเป็นของแข็งสีฐานสีขาวหนัก 0.03 กรัม (1.05×10^{-3} g โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 81-82 องศาเซลเซียส มีค่า R_F เท่ากับ 0.49 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ค ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (4:1) และเฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (4:1) กับ (3:1) ตามลำดับ และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล และจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ค จะให้ผลลบกับ 5% FeCl₃, และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ค ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารที่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 25) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ 3500-3100 cm^{-1} และ 1050 (C-O) cm^{-1} นอกจากนั้นจะพบเพียงแถบการดูดกลืนของหมู่ CH_3 และ CH_2 ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาวเท่านั้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของแอลกอฮอล์โซ่ตรงยาวทั่วไป พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน (49) สำหรับข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ค แสดงดังตารางที่ 35

ตารางที่ 35 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ค

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3100	ปานกลาง	O-H สั้นแบบยืดของ R-OH
2910, 2840	สูง	C-H สั้นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1460	ปานกลาง	C-H สั้นแบบงอของ CH_2 , CH_3
1050	ปานกลาง	C-O สั้นแบบยืดและ O-H สั้นแบบงอ
730-720	ปานกลาง	C-H สั้นแบบงอแบบโค้งของ $(-\text{CH}_2-)_n$, $n \geq 4$

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด แสดงว่า สาร ค น่าจะเป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์โซ่ตรง ซึ่งสามารถทำการยืนยันพิสูจน์โครงสร้างของ สาร ค ได้ โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (รูปที่ 26) พบว่า สาร ค จะให้ค่า retention time เท่ากับ 5.15, 8.10, 13.19, 17.54 และ 22.10 นาที ตามลำดับ และจากกราฟการเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 27) พบว่า สาร ค เป็นของผสมของสารประกอบแอลกอฮอล์โซ่ตรง 5 ชนิด แสดงดังตารางที่ 36

ตารางที่ 36 แอลกอฮอล์เชิงตรงชนิดต่าง ๆ ใน สาร ค

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -OH	410	3.37
triacontanol	C ₃₀ H ₆₂ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -OH	438	3.08
dotriacontanol	C ₃₂ H ₆₆ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -OH	466	25.29
tritriacontanol	C ₃₃ H ₆₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -OH	480	7.39
tetratriacontanol	C ₃₄ H ₇₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -OH	494	60.87

3.2.4 การตรวจสอบสูตรโครงสร้างของสาร ง

สาร ง มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.80 กรัม (2.70×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 140-143 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.67 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] สาร ง ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน, คลอโรฟอร์มและเอทิลเอซิเตต ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1) เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (3:1) และเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3) กับ (3:7) ตามลำดับ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซน ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ง จะให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และฟอกจางสี Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ง น่าจะเป็นสารประกอบประเภทสเตอรอยด์และไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 28) แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่เป็นลักษณะของหมู่ไฮดรอกซิลที่มีความถี่ 3600-3300 ซม.⁻¹ นอกจากนี้ยังแสดง disubstitued vinyl ที่ความถี่ 970, 960 ซม.⁻¹ และ trisubstitued vinyl ที่ความถี่ 840, 800 ซม.⁻¹ ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ง แสดงดังตารางที่ 37

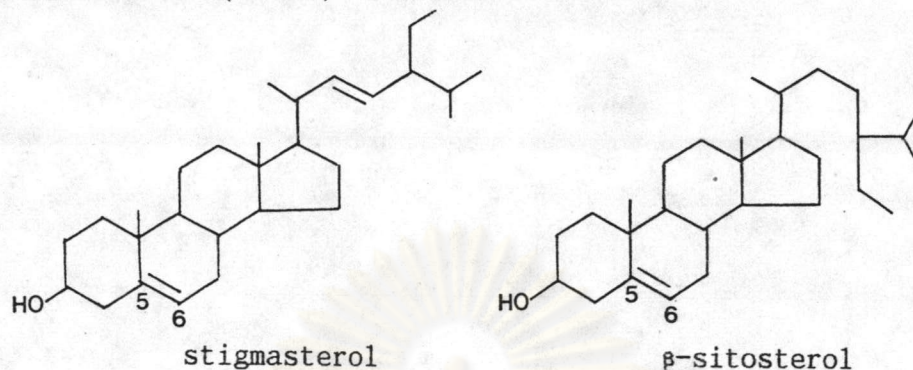
ตารางที่ 37 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๑

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3300	ปานกลาง	O-H ลื่นแบบยืดของ R-OH
2980-2940	สูง	C-H ลื่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1650-1640	ต่ำ	C=C ลื่นแบบยืดของแอลคีน
1460	ปานกลาง	C-H ลื่นแบบงอของ CH_2 , CH_3
1380	ปานกลาง	C-H ลื่นแบบงออย่างมีสมมาตรของ CH_3
1060-1050	ปานกลาง	C-O ลื่นแบบยืดและ O-H ลื่นแบบงอ
970, 960	ต่ำ	C-H ลื่นแบบงอนอกระนาบของ $\text{R}_1\text{CH}=\text{CHR}_2$
840, 800	ต่ำ	C-H ลื่นแบบงอนอกระนาบของ $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}_3$

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 29) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน แสดงลักษณะเฉพาะที่ δ 0.50-2.50 ppm แสดง CH_3 , CH_2 , CH ของสเตอรอยด์ นอก จากนี้ที่ δ 3.65 ppm แสดงโปรตอนบนคาร์บอนที่อยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซี, ที่ δ 5.00 ppm แสดง $-\text{CH}=\text{CH}-$ และที่ δ 5.50 ppm แสดง $\text{C}=\text{CH}-$ ซึ่งลักษณะของสเปกตรัมจะเหมือนกับ stigmasterol ทุกประการ (51) และจากการสังเกต พบว่า β -sitosterol และ campesterol จะให้สเปกตรัมที่คล้ายคลึงกัน เพียงแต่ไม่พบสัญญาณที่ δ 5.00 ppm เท่านั้น

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 30) ปรากฏสัญญาณของ 37 คาร์บอน และผลจากการทำ DEPT 135 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 32) จะ ปรากฏสัญญาณดังนี้คือ ที่ δ 11.78-56.79 ppm แสดง CH_3 , CH_2 และ CH ของสเตอรอยด์ ส่วนที่ δ 71.71 ppm แสดงคาร์บอนที่อยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซี นอกจากนี้ที่ δ 121.63 ppm

แสดง $-\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$, ที่ δ 129.18 และ 138.24 ppm แสดง $-\underline{\text{C}}\text{H}=\underline{\text{C}}\text{H}-$ และที่ δ 140.67 ppm จะแสดง $-\text{C}\text{H}=\text{C}$ โดยงานนี้ที่ได้ทำการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ stigmasterol และ β -sitosterol (51-53) ดังแสดงในตารางที่ 38



ตารางที่ 38 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๖ เมื่อเทียบกับ stigmasterol และ β -sitosterol

ตำแหน่งคาร์บอน	สาร ๖		stigmasterol (51-53)	β -sitosterol (51-53)
	stigmasterol	β -sitosterol		
1	37.17	37.17	37.40	37.30
2	31.55	31.55	31.70	31.80
3	71.71	71.71	71.80	71.90
4	42.12	42.12	42.40	42.40
5	140.67	140.67	140.90	140.90
6	121.63	121.63	121.70	121.80
7	31.81	31.81	31.90	32.00
8	31.81	31.81	31.90	32.00
9	50.05	50.05	50.30	50.30
10	36.42	36.42	36.60	36.60

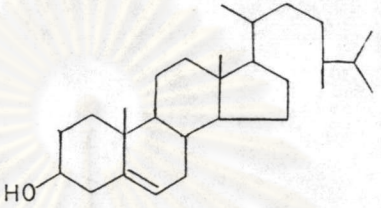
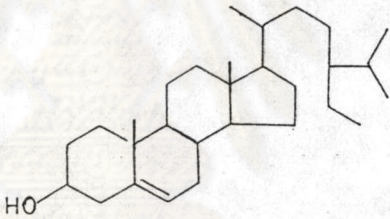
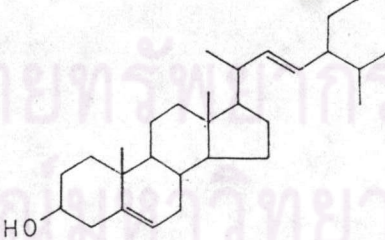
ตารางที่ 38 (ต่อ)

ตำแหน่งคาร์บอน	สาร ง		stigmasterol (51-53)	β -stioosterol (51-53)
	stigmasterol	β -stioosterol		
11	21.00	21.00	21.10	21.10
12	39.59	39.59	39.80	39.90
13	42.20	42.20	42.40	42.40
14	56.79	56.68	57.00	56.80
15	24.29	24.22	24.40	24.30
16	28.85	28.16	28.90	28.20
17	55.86	55.98	56.00	56.20
18	12.18	11.78	12.20	11.90
19	19.33	19.33	19.40	19.40
20	40.43	36.42	40.50	36.20
21	21.00	18.96	21.10	19.10
22	138.24	33.86	138.40	34.00
23	129.18	28.85	129.40	29.30
24	51.16	45.74	51.19	50.30
25	31.81	25.34	31.90	26.20
26	18.96	18.91	19.00	18.80
27	21.15	19.33	21.10	19.80
28	25.34	24.22	25.40	32.10
29	11.97	11.90	12.00	11.90

จากข้อมูลที่กล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ง น่าจะเป็นสารประกอบประเภท สเตอรอยด์ ดังนั้นจึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ง อีกครั้ง โดยการเปรียบเทียบกับ สารละลายมาตรฐานของสเตอรอยด์ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (รูปที่ 32) พบว่า สาร ง ให้ค่า retention time เท่ากับ 18.78, 19.75 และ 22.65 นาที ซึ่งตรงกับ retention time ของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol ตามลำดับ และเมื่อ พิจารณาจุดหลอมเหลวของ สาร ง พบว่า มีค่าอยู่ระหว่างจุดหลอมเหลวของ β -sitosterol (136-137 องศาเซลเซียส), campesterol (157-158 องศาเซลเซียส) และ stigmasterol (170 องศาเซลเซียส) จึงสรุปได้ว่า สาร ง เป็นของผสมของ 9.77 % campesterol, 35.69 % β -sitosterol และ 54.54 % stigmasterol

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 39 สเตอรอยด์ชนิดต่าง ๆ ของ สาร ง

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	%
campesterol	$C_{28}H_{50}O$		400	9.77
β -sitosterol	$C_{29}H_{50}O$		414	35.69
stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$		412	54.54

3.2.5 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร จ

สาร จ ลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อนหนัก 0.30 กรัม ($9.9 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.93 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3) และจากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำของลำดับส่วนที่ 105-108 ของสิ่งสกัดจากเฮกเซนเช่นกัน ซึ่งสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน และจากการทดสอบทางเคมีพบว่า สาร จ จะให้สารละลายสีม่วงแดงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร จ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 33) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะของสารประกอบประเภทแอโรมาติก ที่ความถี่ 3070 (C-H) และ 1600, 1490 และ 1440 (C=C) cm^{-1} นอกจากนี้ที่ความถี่ 1250, 1020 cm^{-1} จะแสดงลักษณะของ C-O ที่สันแบบยึดแบบสมมาตร โดยที่ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร จ แสดงดังตารางที่ 40

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 40 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร จ

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3070	ต่ำ	C-H สั้นแบบยืดของแอโรมาติก
2960-2820	ปานกลาง	C-H สั้นแบบยืดของ CH ₂ , CH ₃
1600, 1490	สูง	C=C สั้นแบบยืดของแอโรมาติก
1440, 1380	สูง	C-H สั้นแบบงอของ CH ₂ , CH ₃
1250	สูง	C-O สั้นแบบยืดแบบมีสมมาตร C-O-C
1190, 1090	ปานกลาง	C-H สั้นแบบงอในระนาบของแอโรมาติก
1050, 1020	สูง	C-O สั้นแบบยืดแบบมีสมมาตร =C-O-C
850, 800	ปานกลาง	C-H สั้นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติกที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 1,3 และ 4
770	ปานกลาง	=C-H สั้นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก

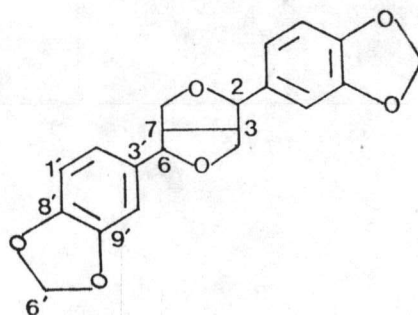
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 34) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่เมโทรมและหมู่เมทิลใน furanofuran type ที่ δ 3.02 (2H, m, CH), 3.85 (2H, dd, CH₂) และ 4.23 (2H, dd, CH₂) ppm ตามลำดับ ส่วนสัญญาณของหมู่เมโทรมที่ต่อกับวงแอโรมาติก จะปรากฏสัญญาณที่ 4.72 (d, 2H) ppm สำหรับสัญญาณของ 6 โปรตอนของวงแอโรมาติก จะให้สัญญาณที่ 6.79 และ 6.84 (6H, m, CH) ppm และโปรตอนของหมู่เมทิลที่ δ 5.94 (2H, s, CH₂) แสดงถึงการต่อกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 35) ปรากฏสัญญาณ 10 สัญญาณของคาร์บอน 20 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 54.24, 85.69, 106.41, 108.09 และ 109.06 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 2 สัญญาณที่ δ 71.61 และ 100.99 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 3 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 134.99, 147.00 และ 147.88 ppm

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 38) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 354 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₂₀H₁₈O₆ โดยพบว่า จำนวนของโปรตอนและคาร์บอนจะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัว (double bond equivalent) เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด พบว่า สาร จ น่าจะเป็นสารประกอบประเภท furanofuran type ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบจุดหลอมเหลวของ สาร จ กับสารประกอบประเภท furanofuran type ที่พบใน *Sesamum indicum* L. พบว่า สาร จ มีจุดหลอมเหลวตรงกับ sesamin คือ 120-121 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกตรัมของ สาร จ กับ sesamin (54) เพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร จ ดังแสดงในตารางที่ 41

สูตรโครงสร้างของ sesamin เป็นดังนี้

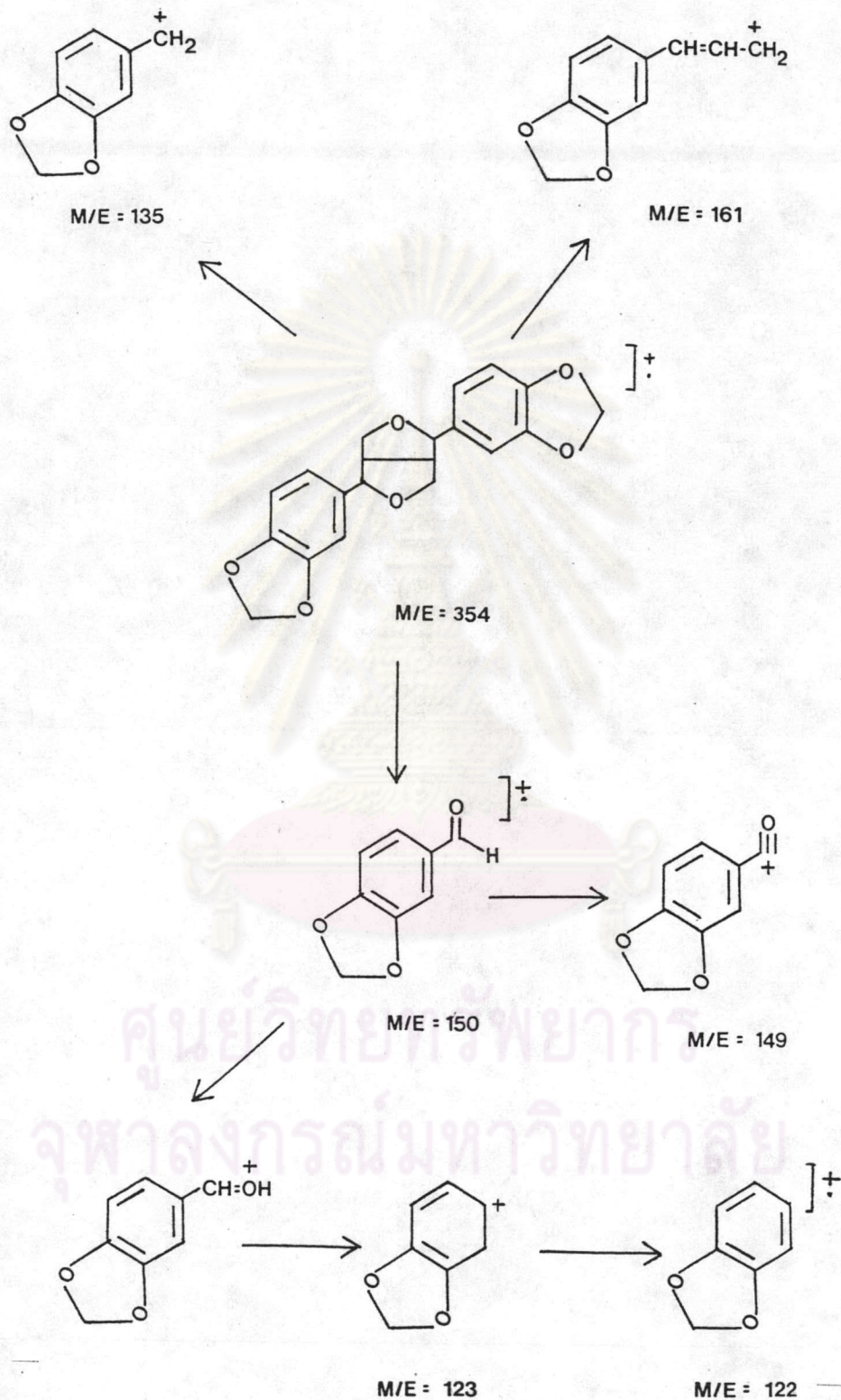


ตารางที่ 41 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร จ เมื่อเปรียบเทียบกับ sesamin (54)

ตำแหน่ง โปรตอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	sesamin	สาร จ
3,7	3.06 (2H,m)	3.02 (2H,m)
4	3.88 (2H,dd)	3.85 (2H,dd)
8	4.25 (2H,dd)	4.23 (2H,dd)
2,6	4.73 (2H,d)	4.72 (2H,d)
6'	5.95 (2H,s)	5.94 (2H,s)
1',2',4'	6.80 และ 6.86 (6H,m)	6.79 และ 6.84 (6H,m)

สำหรับข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของ sesamin ได้มีการศึกษาโดย Greger, H. และ Hofer, O. (54) พบว่า sesamin จะเกิดการแตกตัวของ 2 พันธะที่ต่อกับออกซิเจนอะตอมพร้อมกัน ซึ่งจะทำให้เกิดคาร์บอนิลที่เชื่อมต่อกับวงเบนซีน ได้พีคที่ M/E 149 ซึ่งเป็นพีคที่มีความเข้มสูงสุด นอกจากนี้ยังเกิดพีคที่ M/E 122, 135, 150 และ 161 ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบประเภทนี้ และจากข้อมูลดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัมของ สาร จ พบว่าเหมือนกัน ซึ่งรูปแบบการแตกตัวของ สาร จ ได้แสดงในแผนภาพที่ 2

แผนภาพที่ 2 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร จ



3.2.6 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร จ

สาร จ มีลักษณะเป็นของแข็งอสัณฐานสีขาวหนัก 0.51 กรัม (1.7×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาชาวร้อยเอ็ดแฉ่ง) จุดหลอมเหลว 236-239 องศาเซลเซียส มีค่า R_F เท่ากับ 0.89 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)] สาร จ ได้จากถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี พบว่า สาร จ ให้สารละลายสีม่วงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร จ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 39) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ $3500-3200 \text{ cm}^{-1}$ และที่ความถี่ 1690 cm^{-1} จะแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิล ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร จ แสดงดังตารางที่ 42

ตารางที่ 42 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร จ

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2990-2880	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1690	สูง	C=O สั่นแบบยืดของเอสเทอร์
1450	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_2
1375, 1385	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ gem-dimethyl
1050, 1010	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดของ OH ที่ต่อกับวง (ring)
880	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ $=CH_2$

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 40) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ δ 0.59-2.18 (m, CH₃, CH₂ และ CH) ppm ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ ส่วนสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล จะปรากฏสัญญาณที่ δ 2.51-2.95 (H,s,-OH) ppm และสัญญาณของพันธะคู่ จะปรากฏสัญญาณที่ δ 5.13 (2H,d,-CH=CH-) ppm

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 41) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 27 สัญญาณ และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH₃-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 27.98, 39.11, 47.16, 52.41, 54.90, 77.70, 77.84 และ 124.84 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 8 สัญญาณ ที่ δ 18.00, 23.90, 26.86, 27.67, 30.36, 32.70, 36.44 และ 38.34 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 38.71, 40.97, 41.70, 138.01 และ 179.44 ppm ส่วนเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 15.15, 15.59, 16.77, 20.95, 23.22, 27.98 และ 52.41 ppm โดยในที่นี้ได้ทำการเปรียบเทียบสเปกตรัมของ α -amyrin (52) ดังแสดงในตารางที่ 43

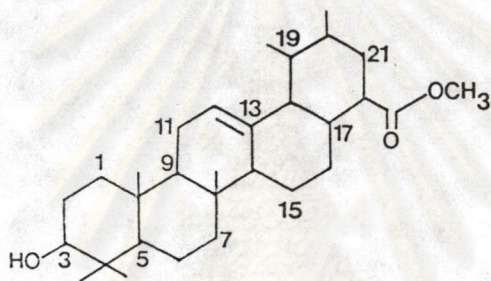
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 43 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร จ เมื่อเทียบกับ α -amyrin

ตำแหน่ง คาร์บอน	เคมีกัลซีฟท์ (ppm)		ตำแหน่ง คาร์บอน	เคมีกัลซีฟท์ (ppm)	
	สาร จ	α -amyrin		สาร จ	α -amyrin
1	38.34	38.70	16	27.67	26.60
2	26.86	27.20	17	27.98	33.70
3	77.84	78.80	18	54.90	58.90
4	38.71	38.70	19	39.11	39.60
5	54.90	55.20	20	39.11	39.60
6	18.00	18.30	21	36.44	31.20
7	32.70	32.90	22	77.70	41.50
8	41.70	40.00	23	52.41	28.10
9	47.16	47.70	24	15.15	15.60
10	40.97	39.90	25	15.59	15.60
11	23.90	17.40	26	16.77	16.80
12	124.84	124.30	27	23.22	23.30
13	138.01	139.30	28	27.98	28.10
14	52.41	42.40	29	23.22	23.30
15	30.36	28.70	30	20.95	21.30

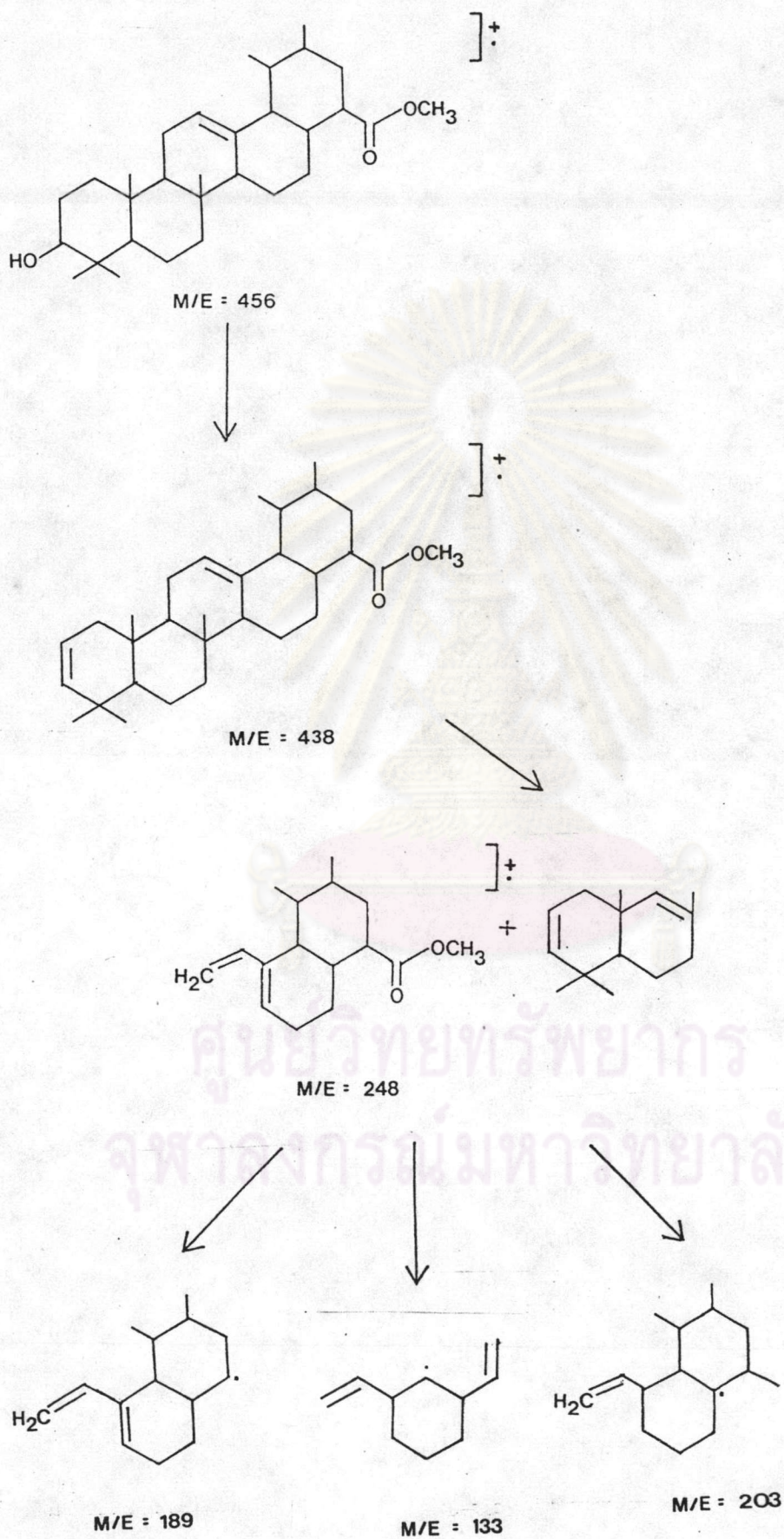
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 44) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) ที่ M/E 456 และจากการวิเคราะห์ที่หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถนำมาคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น $C_{30}H_{48}O_3$ โดยพบว่า จำนวนของโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณหาความไม่อิ่มตัว ได้เท่ากับ 7

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร จ คือสารประกอบประเภท เอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์ สูตรโครงสร้างของ สาร จ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 3 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ฉ



3.2.7 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ซ

สาร ซ มีลักษณะเป็นผลึกอสัณฐานสีขาวหนัก 0.06 กรัม (2.10×10^{-3} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 82-84 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.02 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ซ ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:4) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ซ จะให้ผลลบกับปฏิกิริยา 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ซ ไม่ใช่สารประกอบประเภทฟีนอล และเป็นสารอิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 45) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลที่ 3500-3200 และ 1710 cm^{-1} นอกจากนี้ยังพบแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ CH_3 และ CH_2 ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาว ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ซ แสดงดังตารางที่ 44

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 44 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ช

แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3200	ต่ำ	O-H สั่นแบบยืดของหมู่คาร์บอกซิลิก
2940, 2880	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
1710	ปานกลาง	C=O สั่นแบบยืดของหมู่คาร์บอกซิลิก
1465, 1450	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₃ , CH ₂
1410	ปานกลาง	C-O-H สั่นแบบงอในระนาบ
1300	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด
1010	ต่ำ	O-H สั่นแบบงอนอกระนาบ
730, 720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโคลงของ (-CH ₂ -) _n , n ≥ 4

จากข้อมูลดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่า สาร ช น่าจะเป็นสารประกอบประเภทกรดไขมัน ซึ่งสามารถทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ช ได้ด้วยการทำแก๊สโครมาโทกราฟีเปรียบเทียบ แต่เนื่องจากสารประกอบประเภทกรดไขมัน ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีได้โดยตรง ต้องทำ methylation สาร ช ด้วย BF₃/MeOH ให้อยู่ในรูปของ methyl ester (สาร 1ช) ก่อนแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ และจากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีของ สาร 1ช (รูปที่ 46) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน methyl ester ของกรดไขมัน ที่มีจำนวนคาร์บอน 12, 16 และ 18 พบว่า สาร 1ช ให้ค่า retention time เท่ากับ 1.73, 3.72, 4.53, 5.89, 7.68, 10.00, 13.12 และ 17.28 ตามลำดับ และจากการเทียบกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 47) พบว่า สาร ช เป็นของผสมของสารประกอบกรดไขมัน 8 ชนิด แสดงดังตารางที่ 45

ตารางที่ 45 กรดไขมันตรงชนิดต่าง ๆ ของ สาร ข

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวล โมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₉ -CH ₂ -COOH	200	40.60
hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₃ -CH ₂ -COOH	256	18.97
heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CH ₂ -COOH	270	0.42
octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₅ -CH ₂ -COOH	284	0.19
doicosanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₇ -CH ₂ -COOH	312	3.29
heneicosanoic acid	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CH ₂ -COOH	326	6.12
dodecosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₉ -CH ₂ -COOH	340	18.22
tetraacosanoic acid	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂₁ -CH ₂ -COOH	368	12.19

3.2.8 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ฅ

สาร ฅ มีลักษณะเป็นผลึกรูปสี่เหลี่ยมหนัก 0.58 กรัม (3.6×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาวร่อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 196-199 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.09 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)] สาร ฅ ได้จากการทำควิควอลิมน์โคโรมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเมทานอล ที่ถูกชะด้วยไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี พบว่า สาร ฅ ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP แสดงว่า สาร ฅ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทสเตอรอยด์และมีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 48) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ (-OH) ที่ความถี่ 3400-3300 cm^{-1} นอกจากนี้ที่ 1730 cm^{-1} ยังแสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิล ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ๕ แสดงดังตารางที่ 46

ตารางที่ 46 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๕

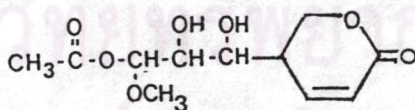
แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3400-3300	สูง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
3005	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของแอลคีน
2940, 2960	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3 , CH_2
1730	สูง	C=O สั่นแบบยืดของ เอสเทอร์
1445	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_2
1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_3
1250	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1060, 1070, 1090	สูง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
940	ปานกลาง	O-H สั่นแบบงอนอกระนาบ
880	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ R-CH=CH-R

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 49) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนแสดงลักษณะเฉพาะที่ δ 3.13 (3H, s, CH_3) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่เมทิล ส่วนสัญญาณของหมู่เมทอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 3.78 (3H, s, CH_3) ppm สำหรับสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 3.84-3.94 (m, -OH) ppm และสัญญาณของหมู่เมทิล ปรากฏสัญญาณที่ δ 2.52-2.81, 4.34-4.50 และ 4.72 ppm ส่วน 5.13 ppm จะเป็นสัญญาณของ CH=CH

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 50) ปรากฏสัญญาณ 10 สัญญาณของคาร์บอน 11 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH₃-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 41.53, 43.57, 52.17, 73.11 และ 78.38 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 1 สัญญาณที่ δ 66.24 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 169.80 และ 172.55 ppm สุกท้ายเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 22.99 และ 50.18 ppm

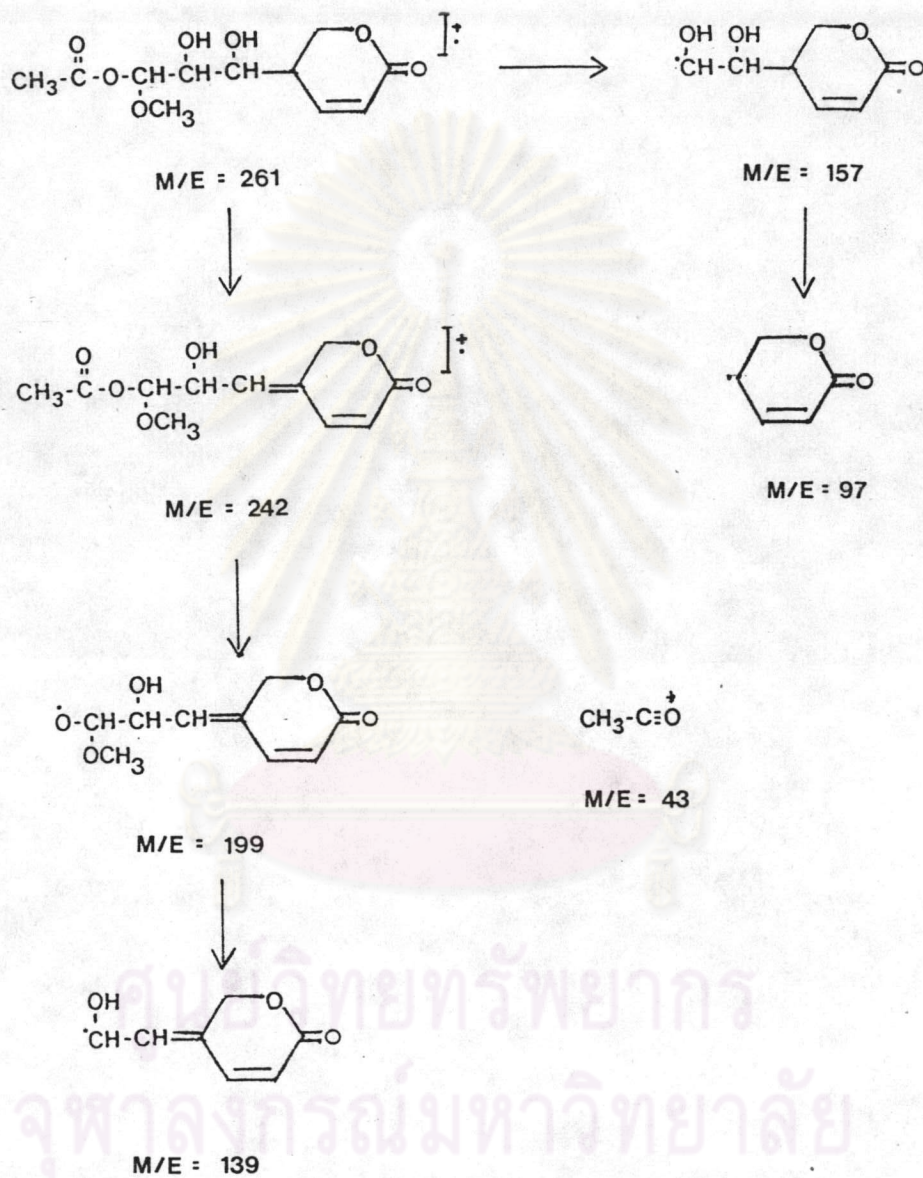
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 53) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 261 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₁₁H₁₆O₇ โดยพบว่าจำนวนของโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัวเท่ากับ 4

จากข้อมูลดังกล่าว แสดงว่า สาร ๗ เป็นสารประกอบประเภท acetate lactone ที่มีหมู่แทนที่เป็นเอสเทอร์, ไฮดรอกซีและเมทอกซี สูตรโครงสร้างของ สาร ๗ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ



ศูนย์วิจัยสมุนไพร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 4 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ๘



3.2.9 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ฅ

สาร ฅ มีลักษณะเป็นผลึกแวววาวสีเหลือง หนัก 0.14 กรัม (8.6×10^{-3} %) โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยละหนึ่ง (จุดหลอมเหลว 89-91 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.95 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] สาร ฅ ได้จากการทาคิวคอลลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเมทานอล ซึ่งถูกชะด้วยไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1) และ (9:1) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่าสาร ฅ จะให้สารละลายสีม่วงแดงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ฅ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 54) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะของสารประกอบประเภทแอโรมาติก ที่ 1600, 1500 และ 1490 cm^{-1} นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะของ C-O ที่ 1250, 1070, 1050, 1040, และ 1010 cm^{-1} ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ฅ แสดงดังตารางที่ 47

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 47 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๗

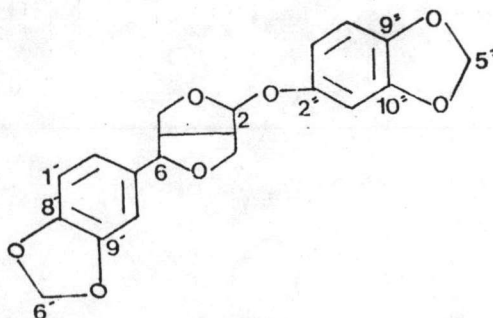
แถบการดูดกลืน (ซม. ⁻¹)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
2990-2890	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยืดของ CH ₃ , CH ₂
1600, 1500, 1490	สูง	C=C สั่นแบบยืดของแอโรมาติก
1450	สูง	C-H สั่นแบบงอของ CH ₂
1250	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1220, 1100	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอในระนาบของแอโรมาติก
1070, 1050, 1040, 1010	สูง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
970, 920	สูง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 1,3,4
810	สูง	=C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 55) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่เมโทล และหมู่เมทิลีนใน furanofuran type ที่ δ 3.23 (H,q, CH), 5.45 (H,s,CH) ppm และ 3.89 (2H,dd,CH₂) ppm ตามลำดับ ส่วน 3 โปรตอนของแอโรมาติก จะปรากฏสัญญาณที่ δ 6.87 (3H,m,CH) ppm แต่สำหรับ 3 โปรตอนของวงแอโรมาติกที่ต่อกับออกซิเจนอะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 6.45 (H,dd,CH), 6.57 (H,d,CH) และ 6.68 (H,d,CH) ppm ตามลำดับ และที่ δ 5.94 (2H,s,CH₂) ppm จะเป็นสัญญาณของหมู่เมทิลีนที่ต่อกับออกซิเจนอะตอม 2 อะตอม

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 56) ปรากฏสัญญาณของ 19 สัญญาณ ของคาร์บอน 20 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมโทไคร์บอน (-CH-) ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ δ 52.72, 53.25, 87.03, 100.18, 106.54, 106.94, 108.01, 108.18, 109.00 และ 119.64 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 4 สัญญาณที่ δ 69.83, 71.25, 101.07 และ 101.22 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 134.45, 142.69, 147.35, 148.01 และ 151.85 ppm

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 59) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 370 และจากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₂₀H₁₈O₇ โดยพบว่า จำนวนของคาร์บอนและโปรตอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอน และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณหาความไม่อิ่มตัว ได้ เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ๗ เป็นสารประกอบประเภท furanofuran type ดังนั้นจึงนำ สาร ๗ มาเปรียบเทียบกับจุดหลอมเหลวกับสารประกอบประเภท furanofuran type ที่พบใน *sesamum indicum* L. พบว่า สาร ๗ มีจุดหลอมเหลวตรงกับ sesamolol คือ 89-91 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกตรัมของ สาร ๗ กับ sesamolol (55) เพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร ๗ ดังแสดงในตารางที่ 47 สูตรโครงสร้างของ sesamolol เป็นดังนี้

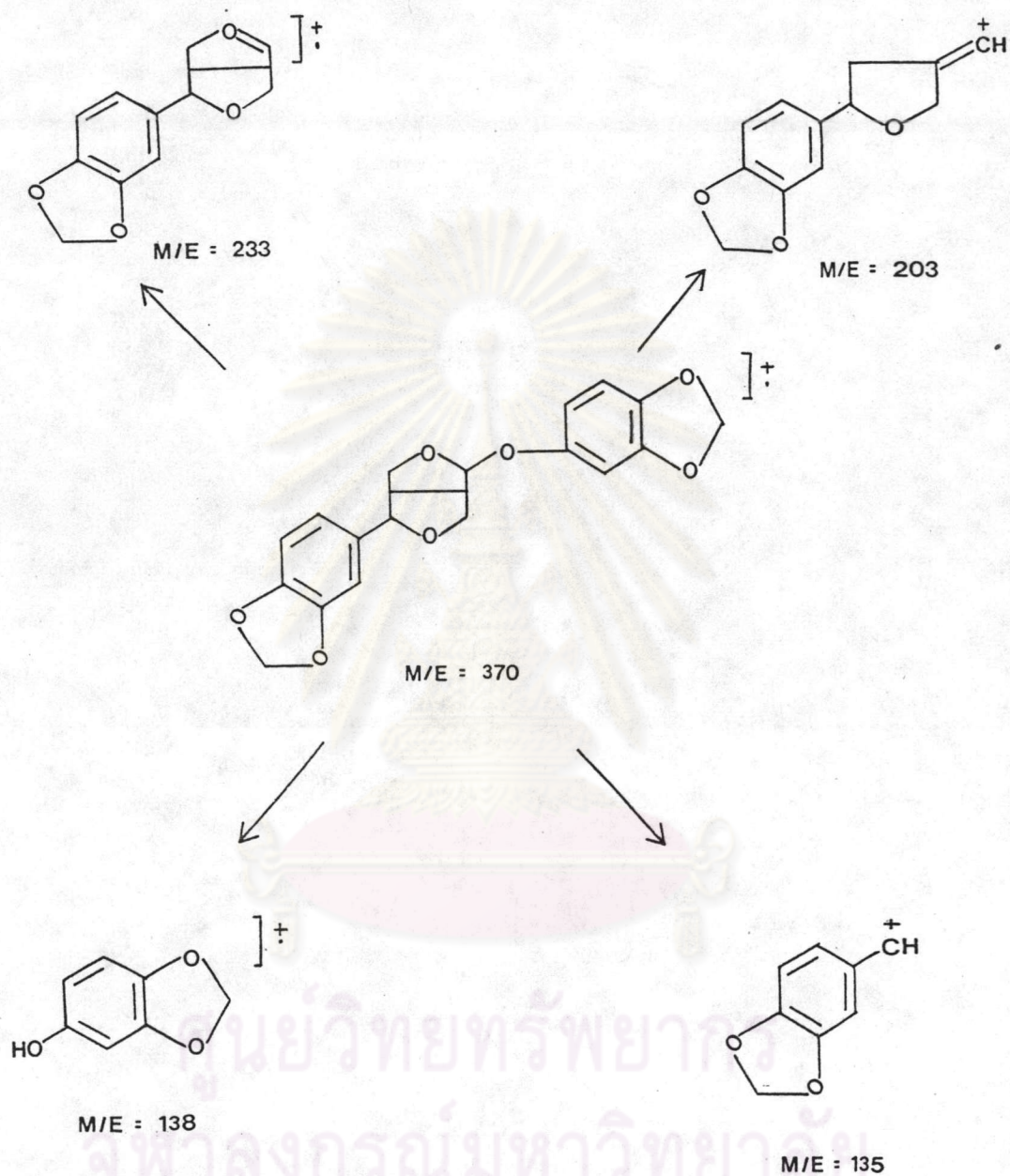


ตารางที่ 48 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๗ เมื่อเปรียบเทียบกับ sesamolin

ตำแหน่ง โปรตอน	เคมีคัลชิฟท์ (ppm)	
	sesamolin	สาร ๗
7	2.85 (H,m)	2.86 (H,m)
3	3.20 (H,q)	3.23 (H,q)
4	3.55 (2H,m)	3.57 (2H,m)
8	3.88 (2H,m)	3.89 (2H,m)
6	4.28 (H,d)	4.30 (H,d)
2	5.43 (H,s)	5.45 (H,s)
5'',6'	5.95 (2H,d)	5.94 (2H,d)
8''	6.44 (H,dd)	6.45 (H,dd)
3''	6.56 (H,dd)	6.57 (H,dd)
7''	6.65 (H,d)	6.68 (H,d)
1',2',4'	6.85 (m,3H)	6.87 (m,3H)

สำหรับข้อมูลทางแมสสเปกตรัมของ sesamolin นั้นได้มีการศึกษาโดย Haslam, E. (55) พบว่า sesamolin จะเกิดการแตกตัวที่ทาให้เกิดพีคที่มีความเข้มสูงสุดที่ M/E 135 นอกจากนี้ยังเกิดพีคที่ M/E 138, 203 และ 233 ซึ่งจะเป็นลักษณะเฉพาะของสารประเภทนี้ จากข้อมูลดังกล่าว เมื่อนำ สาร ๗ มาเปรียบเทียบกับแมสสเปกตรัม พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน ซึ่งสามารถแสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ๗ ได้ดังแผนภาพที่ 5

แผนภาพที่ 5 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ๗



3.2.10 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ๗

สาร ๗ มีลักษณะเป็นของแข็งอสัณฐานสีเหลืองหนัก 0.03 กรัม ($1.86 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักของงาขาวร่อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 216-220 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.03 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (7:3)] สาร ๗ ได้จากการทำ preparative HPLC ของลำดับส่วนที่ 28-45 ที่ได้จากการทำควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี ของสิ่งสกัดจากเมทานอล และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยคลอโรฟอร์ม-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ๗ จะให้ตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP และฟอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ๗ มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุลและเป็นสารไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 61) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งจะแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ $3500-3000 \text{ cm}^{-1}$ และ $1090-1050 \text{ cm}^{-1}$ นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิล ที่ 1690 cm^{-1} ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ๗ แสดงดังตารางที่ 49

ตารางที่ 49 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๗

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3000	สูง	O-H ลื่นแบบยืดของ R-OH
2950, 2900	ต่ำ	C-H ลื่นแบบยืดของ CH_3 , CH_2
1690	สูง	C=O ลื่นแบบยืดของคีโตน
1600, 1550, 1500	สูง	C=C ลื่นแบบยืดของแอโรมาติก
1450, 1375	สูง	C-H ลื่นแบบงอของ CH_3 , CH_2
1280	สูง	C-O ลื่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1090-1050	สูง	C-O ลื่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
800	ต่ำ	=C-H ลื่นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 62) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน แสดงลักษณะเฉพาะที่ δ 3.98 (2H, s, CH₂) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่เมทิลีน สำหรับสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล จะปรากฏสัญญาณที่ δ 4.98-5.33 (H, m, -OH) และ 13.23 (H, s, -OH) ppm และสัญญาณของโปรตอนของวงแหวนโรมาติกจะให้สัญญาณที่ δ 6.87 (H, s, CH), 6.92 (H, d, CH), 7.43 (H, d, CH) และ 8.14 (H, s, CH) ppm ตามลำดับ

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 63) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 17 สัญญาณ และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 91.64, 102.76, 114.82, 128.17, 145.83 และ 149.87 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 1 สัญญาณที่ δ 100.83 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 9 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 104.94, 121.51, 151.75, 152.65, 158.57, 161.98, 162.53, 163.50 และ 182.19 ppm ส่วนเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 56.61 ppm โดยในที่นี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ acacetin ดังแสดงในตารางที่ 50

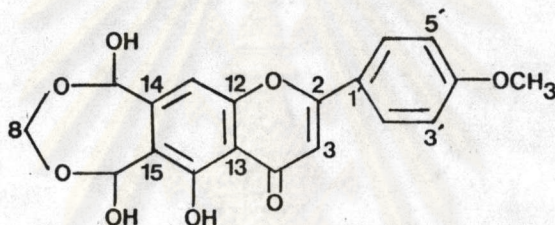
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 50 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ฅ เมื่อเทียบกับ acacetin

ตำแหน่งคาร์บอน		เคมีกัลซีฟท์	
สาร ฅ	acacetin	สาร ฅ	acacetin
2	2	163.50	163.90
3	3	102.76	103.90
4	4	182.19	182.30
5	5	158.57	157.90
6	-	149.87	-
8	-	100.83	-
10	-	145.83	-
11	8	91.64	94.30
12	9	161.98	162.20
13	10	104.94	104.40
14	7	152.65	164.80
15	6	151.75	99.40
1'	1'	121.51	123.50
2', 6'	2', 6'	128.17	128.40
3', 5'	3', 5'	114.82	114.80
4'	4'	162.53	162.80
OCH ₃	OCH ₃	56.61	55.50

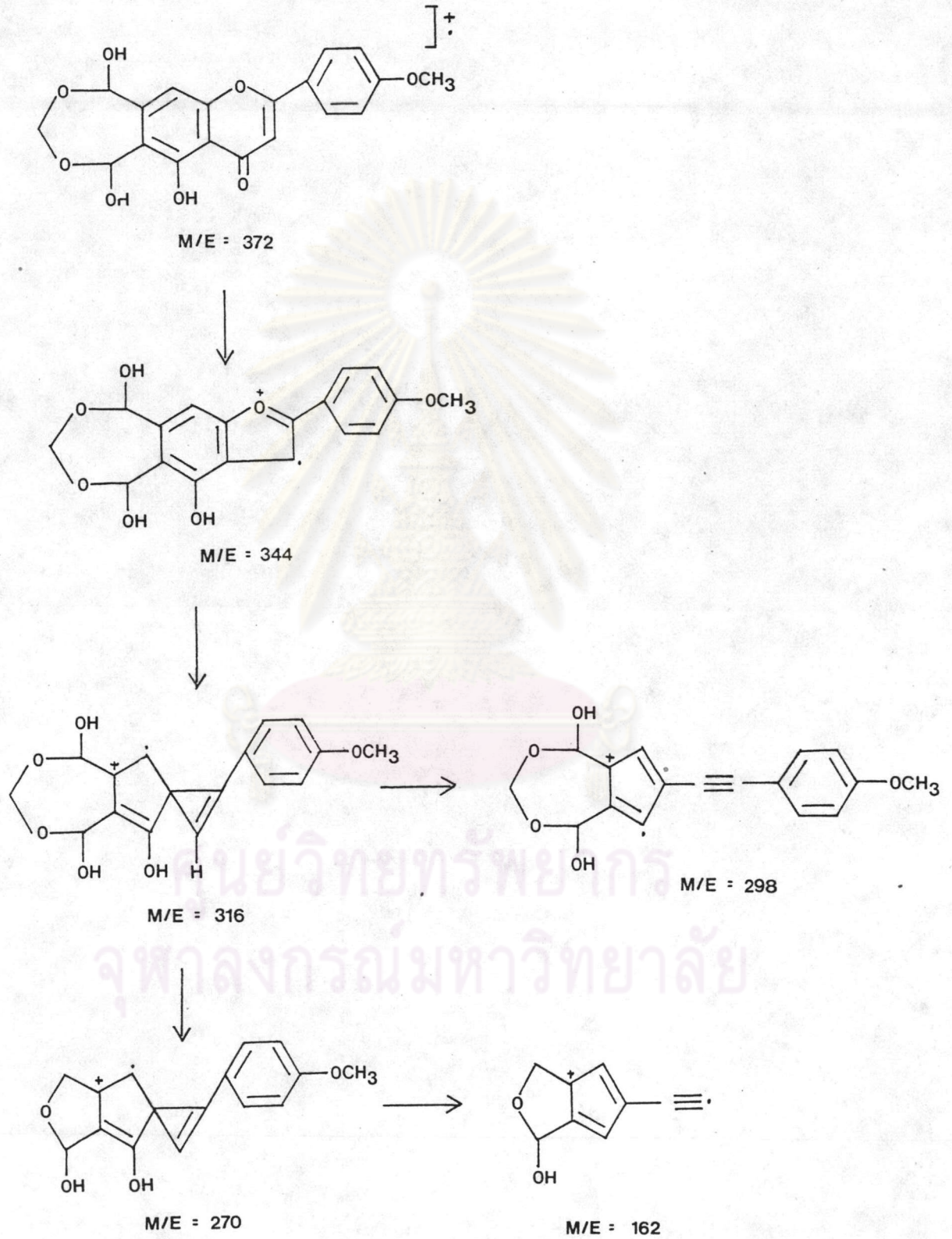
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 66) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) ที่ M/E 372 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น $C_{19}H_{16}O_8$ โดยพบว่า จำนวนโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัว ได้เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ๓ คือสารประกอบประเภท flavone สูตรโครงสร้างของ สาร ๓ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 6 แสดงรูปแบบการแตกตัวของ สาร ๗





3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้

3.3.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

การทดสอบนี้ เป็นการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว เมื่อได้รับสารจากต้นงาขาวร้อยเอ็ด โดยเป็นการศึกษาจากความยาวของรากและกาบใบของต้นข้าว เทียบกับความยาวมาตรฐาน เท่ากับ 100% ถ้าความยาวของราก และกาบใบใกล้เคียงกับความยาวมาตรฐาน แสดงว่า สารนั้นไม่มีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าว แต่ถ้าแตกต่างกัน แสดงว่า สารนั้นมีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าว และจากการทดสอบพบว่า

สาร ก คือ ของผสมไฮโดรคาร์บอนไฮโดรเจน มีองค์ประกอบ $4.10 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร ข คือ ของผสมเอสเทอร์ไฮโดรเจน มีองค์ประกอบ $1.05 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในส่วนรากและกาบใบได้ 83.61% และ 74.79% ตามลำดับ

สาร ค คือ ของผสมแอลกอฮอล์ไฮโดรเจน มีองค์ประกอบ $1.05 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว น้อยมาก โดยจะยับยั้งการงอกของกาบใบได้เท่านั้น

สาร ง คือ ของผสมของ campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol มีองค์ประกอบ $2.70 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในส่วนรากและกาบใบได้ 100% และ 38.02% ตามลำดับ

สาร จ คือ sesamin มีองค์ประกอบ $9.9 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.01 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในส่วนรากและกาบใบได้ 100% และ 100% ตามลำดับ

สาร จ คือ สารประกอบประเภทเอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์ มีองค์ประกอบ $1.70 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นเงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวน้อยมาก โดยจะยับยั้งการงอกของกาบใบได้เท่านั้น

สาร ช คือ ของผสมของกรดไขมันตรง มีองค์ประกอบ $1.05 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นเงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในส่วนรากและกาบใบได้ 95.08% และ 90.50% ตามลำดับ

สาร ฉ คือ สารประกอบประเภท acetate lactone มีองค์ประกอบ $3.60 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นเงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวเลย

สาร ญ คือ sesamol มีองค์ประกอบ $8.60 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นเงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด โดยจะยับยั้งการงอกของรากและกาบใบได้ 100% และ 82.78% ตามลำดับ

สาร ฎ คือ สารประกอบประเภท flavone มีองค์ประกอบ $1.86 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นเงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้พอสมควร โดยจะยับยั้งการงอกของราก และกาบใบได้ 19.50% และ 58.28% ตามลำดับ

จากผลการทดสอบ พบว่า สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด คือ สาร ญ (sesamol) โดยสามารถยับยั้งการงอกของรากและกาบใบได้ 100% และ 82.78% ตามลำดับ รองลงมาคือ สาร จ (sesamin), สาร ง ซึ่งเป็นของผสมของ campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol, สาร ช (ของผสมกรดไขมันตรง) และ สาร ข (ของผสมเอสเทอร์ไขมันตรง) ตามลำดับ โดยสามารถนำสารเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการเกษตรได้ในอนาคต โดยเฉพาะสารประกอบประเภทสเตอรอยด์ซึ่งพบได้ในพืชส่วนใหญ่นับเป็นปริมาณมาก โดยอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชต่าง ๆ ที่เป็นพืชที่มีความต้านทานต่ำกว่าต่อไป นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวของสารละลายมาตรฐานของกรดไขมันตรง ได้แก่ lauric acid, palmitic

acid และ stearic acid ที่มีจำนวนคาร์บอน 12, 16 และ 18 ตามลำดับ เพื่อใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบระหว่างจำนวนคาร์บอน กับการเจริญเติบโตของต้นข้าว พบว่า เมื่อจำนวนคาร์บอนของกรดไขมันเพิ่มขึ้น จะทำให้การยับยั้งเจริญเติบโตของต้นข้าวเพิ่มขึ้นด้วย แต่จากการทดสอบพืชตัวอย่าง ได้แก่ รากโหนดทะเลแดง (C₁₆-C₃₅), โกงกางใบเล็ก (C₂₁-C₃₆) และผักปอดนา (C₂₉-C₃₃) พบว่า เมื่อของผสมของกรดไขมัน มีจำนวนคาร์บอนเพิ่มขึ้น ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวลดลง จากผลการทดสอบ ทำให้คาดคะเนได้ว่า เมื่อจำนวนคาร์บอนของกรดไขมันเพิ่มขึ้นถึงจุด ๆ หนึ่ง จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 29

3.3.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากเอกสารอ้างอิง

สาร ค คือ ของผสมแอลกอฮอล์ไขมันตรง (C₂₈-C₃₄) จากรายงานพบว่า ของผสมของแอลกอฮอล์ไขมันตรงที่มีจำนวนคาร์บอน 28-32 และ 30-36 มีผลยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายในระดับสูง ดังนั้นจึงคาดว่า สาร ค ซึ่งเป็นสารแอลกอฮอล์ไขมันตรงที่มีจำนวนคาร์บอนในช่วงเดียวกัน น่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพเหมือนกันด้วย (52)

สาร ง คือ ของผสมของ β -sitosterol, stigmasterol และ campesterol มีรายงานว่า β -sitosterol มีผลในการลดคลอเลสเทอรอลในเลือดของไก่ กระต่าย และมนุษย์ เนื่องจาก β -sitosterol จะไปยับยั้งการดูดซึมคลอเลสเทอรอล ส่วน stigmasterol พบว่า แยกได้ครั้งแรกโดย Windaus และ Hauth ใน ค.ศ.1906 จาก Physostigma venosum โดยมีรายงานว่า stigmasterol เป็นสารที่มีความสำคัญเนื่องจากมีพันธะคู่อยู่ที่ side chain ดังนั้นจึงใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศบางชนิด (56) นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายสูง (52)

สาร จ คือ sesamin ซึ่งพบว่า sesamin มีผลในการลดคลอเลสเทอรอลในเลือดของหนู โดย sesamin จะไปยับยั้งการดูดซึมและการสังเคราะห์คลอเลสเทอรอล (57) นอกจากนี้ยังพบว่า sesamin สามารถยับยั้งขบวนการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว (58)

สาร ช คือ ของผสมของกรดไขมันตรง (C_{12} - C_{24}) จากการรายงานพบว่าของผสมของกรดไขมันตรงที่มีจำนวนคาร์บอน 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 34 และ 36 มีผลยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายในระดับสูง ดังนั้นจึงคาดว่า สาร ช ซึ่งเป็นสารประเภทกรดไขมันตรงเหมือนกัน น่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพเหมือนกันด้วย (52)

สาร ฉ คือ sesamol มีรายงานว่า sesamol สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมเป็นสารกันหืนหรือกันปฏิกิริยาออกซิเจน (antioxidant) โดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (59)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย