บทที่ 2

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองและผลการทดลอง

2.1 พืชตัวอย่าง

รากประยงค์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ นำมาจากบริเวณรอบ ๆ ตึกเคมี 3 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งนำมาปลูกโดย ศาสตราจารย์ ดร.เทพ เชียงทอง ต้นประยงค์นี้มีอายุประมาณ 15 ปี และได้เก็บรากประยงค์ในเดือน กุมภาพันธ์ 2534 หลังจากนั้นสับให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วตากให้แห้งจึงนำมาบดให้มีขนาดเล็กลง ก่อนนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่อไป

2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

2.2.1 เครื่องมือสกัดซอกฮ์เลท ( Soxhlet Extraction Apparatus ) ขนาด 20 ลิตร ของบริษัท Quickfit

2.2.2 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ( Rotary Vacuum Evaporator ) ของบริษัท Tokyo Rikakikai ประเทศญี่ปุ่น

2.2.3 Fisher Johns Melting point Apparatus ของบริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

019183

2.2.4 Infrared Spectrophotometer Model 781 หรือ 1430 ของบริษัท Perkin - Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับวัดอินฟราเรดสเปกตรัม ถ้าสารเป็นของแข็งจะผสมกับโปแตสเซียมโบรไมด์ ( KBr ) อัดให้หนาประมาณ 1 มิลลิเมตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ถ้าสารเป็นของเหลวข้นจะทำให้เป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ บนแผ่นโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

2.2.5 Mass Spectrometer Model JMS-DX 300 ของบริษัท Jeol ประเทศญี่ปุ่น สำหรับบันทึกแมสสเปกตรัม

2.2.6 Gas-Liquid Chromatography Model GC R1A ของบริษัท Shimadzu สำหรับบันทึกแก๊สโครมาโทแกรม

2.2.7 Fourier Tranfrom Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer Model AC-F 200 ของบริษัท Bruker-Spectrospin ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ สำหรับบันทึกโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม

2.2.8 Elemental Analyzer Model 240 C และ Model 2400 ของบริษัท Perkin - Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.3 สารเคมี

2.3.1 ตัวทำละลาย ใช้เกรดทางการค้า โดยนำมากลั่นก่อนใช้ทุกครั้ง ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตต เอธานอล เมธานอล บิวธานอล

2.3.2 รีเอเจนต์ ใช้ทดสอบปฏิกิริยาเคมี เช่น 2,4- dinitrophenyl-hydrazine ( 2,4-DNP ), 5 % $FeCl_3$, $Br_2$ ใน $CCl_4$, อะซีติกแอนไฮไดร์กับกรดซัลฟิวริกเข้มข้น

2.3.3 ตัวดูดซับ ใช้ซิลิกาเจลชนิด 60 Art.7734 สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซิลิกาเจลชนิด 60 G Art.7731 สำหรับธินแลร์โครมาโทกราฟี และควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี หรือ ซิลิกาเจลชนิด 60 $GF_{254}$ Art. 7730 สำหรับธินแลร์โครมาโทกราฟี อะลูมินา Art.1077 สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี ของบริษัท E. Merck, Darmstadt

2.4 การทดสอบปฏิกิริยาเคมี

2.4.1 การทดสอบด้วยปฏิกิริยา Liebermann-Burchard [31]

ละลายสารประมาณ 1 มิลลิกรัม ในคลอโรฟอร์มจำนวนเล็กน้อย หยดอะซีติกแอนไฮไดร์ 2-3 หยด เขย่า แล้วหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด สังเกตสีทันที และถ้าภายใน 1 ชั่วโมงสีเปลี่ยนจาก ชมพู --> ม่วง --> น้ำเงิน --> เขียว แสดงว่าเป็นสเตอรอยด์ ถ้าเป็นไตรเทอพีนอยด์ สีจะเปลี่ยนจาก ชมพู --> ม่วง

2.4.2 การทดสอบหมู่คาร์บอนิล [32]

ละลายสาร 1 มิลลิกรัม ในเอธานอล 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติม 2,4-DNP เขย่าแรงๆ ถ้าสารมีหมู่คาร์บอนิลจะได้ตะกอนสีเหลืองหรือส้ม

2.4.3 การทดสอบความไม่อิ่มตัว [32]

ละลายสาร 1 มิลลิกรัมในคาร์บอนเตตระคลอไรด์ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลาย 3 % $Br_2$ ใน $CCl_4$ ทีละหยด เขย่าทุกครั้ง ถ้าสีของโบรมีนจางหายไปและไม่มีแก๊สไฮโดรเจนโบรไมด์เกิดขึ้น (ตรวจสอบโดย ใช้กระดาษลิตมัสสีน้ำเงินชื้น) แสดงว่าสารมีความไม่อิ่มตัว

2.4.4 การทดสอบหมู่ฟีนอล [32]

นำสารประมาณ 1 มิลลิกรัม ละลายในเอธานอล หรือ น้ำ หรือคลอโรฟอร์มแล้วหยดสารละลาย 5 % $FeCl_3$ ทีละหยด เขย่า ถ้าเป็นสารประเภท ฟีนอล จะได้สารละลายสีชมพู ม่วง หรือ เขียว

2.4.5 การทดสอบแอลคาลอยด์ [33]

นำสารละลายของสารที่จะทดสอบ มาเติม Dragendroff reagent 2-3 หยด เขย่า ถ้าเกิดตะกอนสีส้ม แสดงว่าสารนั้นเป็นแอลคาลอยด์

2.5 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

2.5.1 ควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Quick Column Chromatography)

การแยกสารโดยวิธีนี้นิยมใช้แยกสารออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ก่อน เนื่องจากมีความรวดเร็วในการแยก หลังจากนั้นจึงแยกสารออกเป็นกลุ่มย่อยด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป

วิธีนี้จะใช้ Sinter Glass เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตรเป็นคอลัมน์ นำ Sinter Glass วางลงบนขวดดูดซึ่งมีขอบยางรองรับและต่อกับปั๊มน้ำ บรรจุซิลิกาเจล ชนิด 60 G Art.7731 หรือ อะลูมินา Art.1077 เป็นตัวดูดซับใน Sinter Glass ให้สูงประมาณ 4 เซนติเมตร ขณะบรรจุซิลิกาเจล หรือ อะลูมินาลงในคอลัมน์ต้องกดให้แน่นและเกลี่ยผิวหน้าให้เรียบ หลังจากนั้นเทตัวทำละลายลงบนผิวหน้าซิลิกาเจล หรืออะลูมินา แล้วเปิดปั๊มน้ำเพื่อให้ตัวทำละลายไหลผ่านลงขวดดูด ซึ่งจะทำให้ซิลิกาเจล หรืออะลูมินาอัดตัวแน่นยิ่งขึ้น นำสิ่งสกัดที่ต้องการแยกมาผสมกับซิลิกาเจล หรืออะลูมินาให้เข้ากัน แล้วบรรจุลงในคอลัมน์ และต้องกดผิวหน้าให้เรียบ ชะคอลัมน์ที่เตรียมเรียบร้อยแล้วด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสารครั้งละเท่าๆ กัน

2.5.2 คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

ใช้คอลัมน์แก้วขนาดสม่ำเสมอ เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 4.5 เซนติเมตร ยาว 1.20 เมตร หรือใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ยาว 90 เซนติเมตร หรือ คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตร ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบช้า อัตราส่วนของสารที่ต้องการแยกต่อตัวดูดซับ ( Adsorbent ) ประมาณ 1:20-30

นำคอลัมน์แก้วมาอุดปลายด้านล่างเหนือ stop-cock ด้วยสำลีที่สะอาด บรรจุตัวทำละลายลงไปประมาณครึ่งหนึ่งของคอลัมน์ เปิดให้ตัวทำละลายไหลออกอย่างช้าๆเพื่อไล่ฟองอากาศ ผสมซิลิกาเจล 60 Art.7734 หรืออะลูมินา Art.1077 กับตัวทำละลายชนิดเดียวกับที่อยู่ในคอลัมน์ เขย่าให้เข้ากันแล้วเทลงในคอลัมน์ เคาะคอลัมน์เบาๆเพื่อให้ซิลิกาเจลหรืออะลูมินาลงไปในคอลัมน์อย่างสม่ำเสมอ ขณะบรรจุซิลิกาเจล หรืออะลูมินาลงในคอลัมน์ต้องเปิดให้ตัวทำละลายไหลออกจากคอลัมน์ช้า ๆ และกระทำเช่นนี้เรื่อยไปจนหมดซิลิกาเจล หรืออะลูมินา หลังจากนั้นปล่อยให้ตัวทำละลายลดลงเหลือประมาณ 5 เซนติเมตรจากระดับผิวหน้าของซิลิกาเจล หรืออะลูมินาจึงปิดคอลัมน์ นำสิ่งที่ต้องการแยกมาคลุกกับซิลิกาเจล หรืออะลูมินาให้เข้ากันจนร่วน แล้วบรรจุลงในคอลัมน์อย่างช้า ๆ โดยไม่ให้มีฟองอากาศ ปรับผิวหน้าให้เรียบ ฉีดล้างด้านในคอลัมน์ให้สะอาดด้วยตัวทำละลายชนิดเดิมในปริมาณเล็กน้อย ปรับให้ตัวทำละลายของสารละลายลดลงจนเกือบถึงผิวหน้าของซิลิกาเจล แล้วจึงชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสาร

2.5.3 ธินแลร์โครมาโทกราฟี (Thin-Layer Chromatography)

การเตรียมโครมาโทเพลท ( chromatoplate ) ใช้ซิลิกาเจลชนิด 60 G Art. 7731 ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:2 เขย่าให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอ แล้วเทลงใน Desage Spreader ที่ปรับความหนา 0.25 มิลลิเมตร เคลือบบนกระจกที่-สะอาดขนาด 5 x 20 เซนติเมตร จำนวน 20 แผ่น หรือขนาด 20 x 20 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100-110 °C นาน 1 ชั่วโมง จะได้โครมาโทเพลท

สำหรับการเตรียมภาชนะสำหรับ Develop จะใช้ขวดแก้วหรือ Tank ที่สะอาด มีฝาปิด ใส่กระดาษกรองให้ทาบผิวด้านในภาชนะ ใส่ตัวทำละลายลงในภาชนะให้สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาแล้วเอียงภาชนะ เพื่อให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย หลังจากนั้นใช้หลอดรูขนาดเล็ก (capillary tube) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 0.05 เซนติเมตร แต้มสารที่ต้องการทดสอบลงบนโครมาโทเพลท โดยให้จุดอยู่ห่างจากขอบประมาณ 1.5 เซนติเมตร และแต่ละจุดอยู่ห่างกันไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร ด้านบนขีด Solvent frontไว้ เมื่อจุดแต้มสารแห้งสนิทแล้วจึงนำไป Develop โดยจุ่มโครมาโทเพลทลงในภาชนะที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายที่เหมาะสม ปิดฝาทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายซึมขึ้นไปจนถึงขีด Solvent front นำเอาโครมาโทเพลทออกจากภาชนะ ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง จึงนำไปตรวจหาตำแหน่งสาร โดยใช้ไอโอดีน หรือแสงอัลตราไวโอเลต (ในกรณีที่ใช้แสงอัลตราไวโอเลตตรวจหาตำแหน่งสาร จะใช้ซิลิกาเจล 60 $GF_{254}$ Art. 7730 เตรียมโครมาโทเพลท)

2.5.4 <u>การกลั่น</u>

การกลั่นเป็นการแยกตัวทำละลายออกจากสารละลาย การกลั่นมี 2 แบบ คือ การกลั่นธรรมดา และการกลั่นลดความดัน การกลั่นธรรมดาใช้กับตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน เป็นต้น ส่วนการกลั่นลดความดันใช้กับตัวทำละลายที่มีขั้วและจุดเดือดสูง เช่น เอธิลอะซิเตต เอธานอล เมธานอล บิวธานอล เป็นต้น เพื่อให้ตัวทำละลายเดือดที่อุณหภูมิต่ำลง หรือใช้กลั่นเมื่อสารเกิดการสลายตัวง่ายเมื่อได้รับความร้อนสูง เพราะการกลั่นแบบลดความดันนั้นจะใช้ความร้อนต่ำกว่าการกลั่นแบบธรรมดาเมื่อเป็นตัวทำละลายชนิดเดียวกัน เครื่องมือที่ใช้ในการกลั่นแบบลดความดันเรียกว่า เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน

2.6 การสกัด

นำรากประยงค์สดหนัก 4 กิโลกรัม มาสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตากให้แห้งได้รากประยงค์แห้งหนัก 3.8 กิโลกรัม แล้วจึงนำไปบดด้วยเครื่องบดให้มีขนาดเล็กลง นำรากประยงค์บางส่วนมาสกัดด้วยเมธานอลจำนวน 18 ลิตร โดยใช้เครื่องมือสกัดซอกฮ์เลทขนาด 20 ลิตร กรองสารละลายสีน้ำตาลแดงที่ได้จากการสกัดโดยใช้กรวยบุชเนอร์(Buchner funnel) และปั๊มน้ำช่วยเพื่อให้กรองได้เร็วขึ้น แล้วนำสารละลายไปกลั่นแบบลดความดัน โดยใช้เครื่องมือกลั่นสุญญากาศ เมธานอลที่ได้จากการกลั่นนำกลับไปใช้ในการสกัดรากประยงค์ที่เหลือ ทำเช่นนี้เรื่อยไปจนเสร็จ ได้สารที่มีลักษณะข้น เหนียว สีน้ำตาลแดงเข้มหนัก 355 กรัม (คิดเป็น 9.3 % ของน้ำหนักรากแห้ง)

นำสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้เมธานอลมา กวน, แช่ ด้วยเฮกเซนในอ่างน้ำเดือด ได้สารละลายสีเขียวเหลือง นำไปกรอง แล้วกลั่นเอาเฮกเซนออก เฮกเซนที่ได้นำกลับไปใช้สกัดใหม่ จนเฮกเซนที่ใช้สกัด ใส ไม่มีสี ได้สิ่งสกัดด้วยเฮกเซนที่มีลักษณะ ข้น เหนียว สีเขียว หนัก 59.2 กรัม (คิดเป็น 1.6 % ของน้ำหนักรากแห้ง)

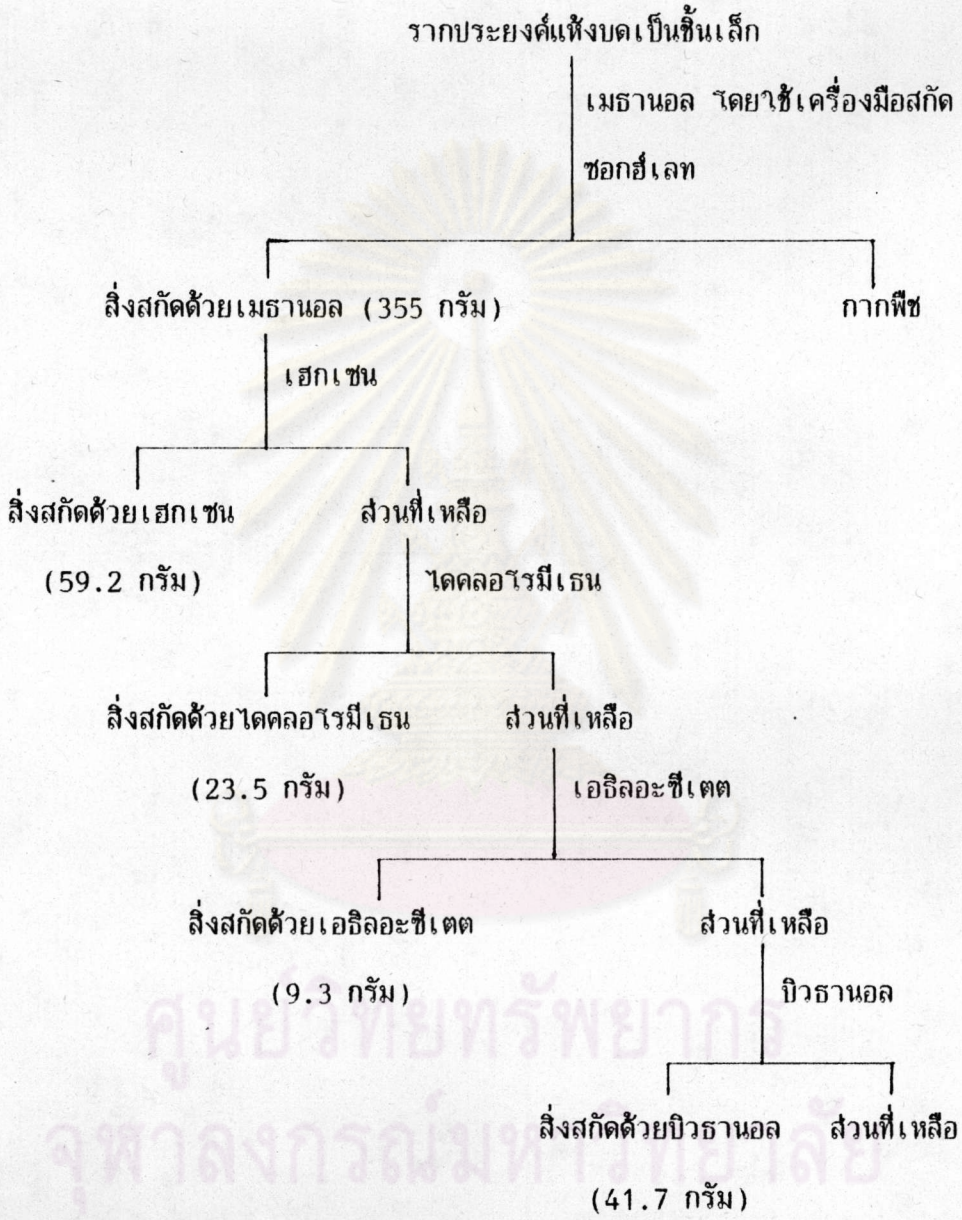
นำส่วนที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซนแล้วมาสกัดด้วย ไดคลอโรมีเธน โดยใช้วิธีเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ได้สิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน ที่มีลักษณะ ข้น เหนียว สีน้ำตาลหนัก 23.5 กรัม (คิดเป็น 0.6 % ของน้ำหนักรากแห้ง)

นำส่วนที่ผ่านการสกัดด้วยไดคลอโรมีเธนแล้วมาสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต ด้วยวิธีเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ได้สิ่งสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต ที่มีลักษณะ เหนียว ข้น และ สีน้ำตาลแดง หนัก 9.3 กรัม (คิดเป็น 0.2 % ของน้ำหนักรากแห้ง)

นำส่วนที่ผ่านการสกัดด้วยเอธิลอะซีเตตแล้วมาสกัดด้วยบิวธานอล ด้วยวิธีเดียวกับการสกัดด้วยเฮกเซน ได้สารละลายสีเหลือง นำไปกลั่นไล่ตัวทำละลายโดยใช้เครื่องกลั่นสุญญากาศ บิวธานอลที่ได้จากการกลั่นนำกลับไปใช้ในการสกัดใหม่จนบิวธานอลที่ใช้ในการสกัด ใส ไม่มีสี ได้สิ่งสกัดด้วยบิวธานอล มีลักษณะ ข้น เหนียว มีสีน้ำตาลเกือบดำ หนัก 41.7 กรัม (คิดเป็น 1.1 % ของน้ำหนักรากแห้ง)

ขั้นตอนการสกัดได้สรุปไว้ในแผนภาพที่ 2.1

<u>แผนภาพที่ 2.1</u> ขั้นตอนการสกัดรากประยงค์แห้ง




ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2.7 การแยกสารและทำให้บริสุทธิ์

### 2.7.1 การแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน

นำสิ่งสกัดด้วยเฮกเซนหนัก 27 กรัมและ 19.9 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์-โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลหนัก 540 กรัม และ 400 กรัม ตามลำดับ เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก คือ เฮกเซน สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและไดคลอโรมีเธน ไดคลอโรมีเธน สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเธนและเมธานอล และเมธานอล ตามลำดับ เก็บสารละลายที่ได้จากคอลัมน์ครั้งละ 800 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำแต่ละส่วนที่ได้ไปกลั่นไล่ตัวทำละลายออกโดยการกลั่นธรรมดา จนเหลือสารในขวดกลั่นประมาณ 25-30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถ่ายใส่ขวดรูปกรวยขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำสารละลายแต่ละส่วนมาตรวจสอบว่า มีองค์ประกอบเหมือนกันหรือไม่ โดยใช้ธินแลร์โครมาโทกราฟี ตามวิธีการข้อ 2.5.3 รวมส่วนที่ให้ผลเหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2.1 และตารางที่ 2.2 ตามลำดับ

ส่วนคอลัมน์ที่ใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับนั้น ใช้อะลูมินาหนัก 300 กรัม และใช้สิ่งสกัดด้วยเฮกเซนหนัก 12.2 กรัม ทำการแยกเหมือนกับกรณีที่ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และเก็บสารละลายที่ได้ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผลการแยกแสดงดังตารางที่ 2.3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ( ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ) ครั้งที่ 1

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| เฮกเซน | 1 | น้ำมันใส | 0.12 |
| | 2-4 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.05 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (10:90) | 5-9 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.93 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) | 10 | น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งเล็กน้อย | 0.03 |
| | 11 | น้ำมันสีม่วงแดง | 0.02 |
| | 12-14 | น้ำมันสีเขียวปนเหลืองปนตะกอนขาว | 0.28 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (50:50) | 15-16 | น้ำมันสีเหลืองส้ม | 0.60 |
| | 17-19 | น้ำมันสีเหลืองส้มปนกับผลึกรูปเข็ม | 1.23 |
| | 20-21 | น้ำมันสีเหลืองปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.69 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) | 22-26 | น้ำมันสีเหลือง | 1.40 |
| | 27 | น้ำมันสีเขียว | 0.22 |
| | 28-30 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.65 |
| | 31-35 | น้ำมันสีเขียวอ่อน | 0.51 |
| ไดคลอโรมีเธน | 36-40 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.19 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) | 41-42 | น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน | 10.77 |
| | 43-44 | น้ำมันสีเหลือง | 0.10 |

(ต่อ)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (15:85) | 45-46 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.18 |
| | 47-50 | คราบสีเหลือง | 0.05 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (25:75) | 51-53 | คราบสีน้ำตาลอ่อน | 0.06 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (50:50) | 54-58 | คราบสีน้ำตาลอ่อน | 0.06 |
| เมธานอล | 59-63 | คราบสีน้ำตาล | 0.05 |

ตารางที่ 2.2 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ( ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ) ครั้งที่ 2

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| เฮกเซน | 1 | น้ำมันใส | 0.12 |
| | 2-6 | น้ำมันสีเขียวอ่อน | 0.16 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (10:90) | 7-12 | น้ำมันสีเหลือง | 0.67 |

(ต่อ)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) | 13-15 | น้ำมันสีเขียว | 0.16 |
| | 16 | น้ำมันสีเหลืองส้ม | 0.04 |
| | 17-18 | น้ำมันสีม่วงปนของแข็ง | 0.13 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (50:50) | 19-20 | น้ำมันสีเหลือง | 0.19 |
| | 21 | น้ำมันสีเหลืองส้ม | 0.31 |
| | 22 | น้ำมันสีแดงส้มปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.63 |
| | 23-25 | น้ำมันสีเหลืองปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.32 |
| | 26-28 | น้ำมันสีเหลือง | 0.23 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (75:25) | 29-31 | น้ำมันสีเขียวปนกับผลึก | 0.10 |
| | 32-35 | น้ำมันสีเขียวปนคราบสีขาว | 0.75 |
| ไดคลอโรมีเธน | 36-40 | น้ำมันสีเขียวปนผลึกสีขาว | 0.26 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) | 41 | น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน | 11.65 |
| | 42-47 | น้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 1.25 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (15:85) | 48-50 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.10 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (50:50) | 51-54 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.08 |
| เมธานอล | 55-61 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนสีน้ำตาล | 0.06 |

ตารางที่ 2.3 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ( ใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ )

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| เฮกเซน | 1-4 | น้ำมันใส | 0.94 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน | 5-6 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.44 |
| (10:90) | 7-12 | น้ำมันสีเหลืองปนสีน้ำตาล | 0.32 |
| | 13-19 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.02 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน | 20-22 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.28 |
| (25:75) | | | |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน | 23-24 | น้ำมันสีเขียวปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.29 |
| (50:50) | 25-28 | น้ำมันสีเหลือง | 0.63 |
| ไดคลอโรมีเธน | 29-33 | น้ำมันสีเหลือง | 1.07 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 34-37 | น้ำมันสีเหลืองเข้ม | 0.64 |
| (5:95) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 38-42 | สารละลายสีเหลือง | 0.15 |
| (25:75) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 43-48 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.18 |
| (75:25) | | | |
| เมธานอล | 49-55 | คราบน้ำมันสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.20 |

2.7.1.1 การแยกสารลำดับส่วนที่ 41-42 และ 41 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน ครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

นำสารลำดับส่วนที่ 41-42 และ 41 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยเฮกเซนครั้งที่ 1 และ 2 ที่มีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลอ่อนหนัก 22.32 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลหนัก 400 กรัมเป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก เก็บสารละลายที่ได้ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 41-42 และ 41 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยเฮกเซนครั้งที่ 1 และ 2 แสดงดังตารางที่ 2.4

2.7.2 การแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน

นำสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธนหนัก 23.5 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลหนัก 500 กรัม เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามากเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 เก็บสารละลายจากคอลัมน์ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 ผลการแยกสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธนแสดงดังตารางที่ 2.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.4 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 41-42 และ 41 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน ครั้งที่ 1 และ 2 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-3 | น้ำมันสีเหลือง | 0.20 |
| | 4-5 | น้ำมันสีเขียวปนสีเหลือง | 1.03 |
| | 6-20 | น้ำมันสีเขียว | 1.77 |
| | 21 | น้ำมันสีน้ำตาลปนสีเหลือง | 4.71 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (1:99) | 22-28 | น้ำมันสีเขียวปนสีเหลือง | 5.21 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) | 29 | น้ำมันสีเหลืองปน | 7.21 |
| | 30 | น้ำมันสีเหลืองปนผลึกสีขาว | 0.55 |
| | 31 | น้ำมันสีเหลืองปนผลึกสีขาว | 0.13 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (25:75) | 32-34 | น้ำมันสีเหลือง | 0.13 |
| เมธานอล | 35-44 | คราบสีเหลือง | 0.10 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.5 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ( ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ )

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| เฮกเซน | 1-3 | น้ำมันใส | 1.02 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) | 4-7 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.14 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (50:50) | 8 | น้ำมันสีเขียวเข้ม | 0.02 |
| | 9 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.02 |
| | 10 | น้ำมันสีเขียว | 0.08 |
| | 11-12 | น้ำมันสีชมพูปนตะกอนขาว | 0.22 |
| | 13-14 | ของเหลวสีน้ำตาลปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.53 |
| ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (75:25) | 15-17 | น้ำมันสีเขียวปนกับผลึกรูปเข็ม | 0.20 |
| | 18-22 | น้ำมันสีเหลือง | 0.15 |
| ไดคลอโรมีเธน | 23-26 | น้ำมันสีเหลือง | 0.12 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) | 27-28 | น้ำมันสีน้ำตาล | 16.56 |
| | 29-30 | น้ำมันสีน้ำตาล | 1.54 |
| | 31-37 | สารละลายสีน้ำตาลปนตะกอนขาว | 0.28 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (25:75) | 38-40 | สารละลายสีน้ำตาลปนตะกอนขาว | 0.34 |
| | 41-46 | คราบสีน้ำตาลปนตะกอนสีน้ำตาล | 0.11 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (50:50) | 47-54 | คราบสีน้ำตาล | 0.65 |
| เมธานอล | 55-60 | คราบสีน้ำตาล | 0.51 |

2.7.2.1 <u>การแยกสารลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน</u>

นำสารจากลำดับส่วนที่ 27-28 จากข้อ 2.7.2 ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลปนเหลือง หนัก 16.56 กรัม มาทำการแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับหนัก 300 กรัม แล้วชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยเก็บสารละลายที่ได้จากคอลัมน์ ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน แสดงดังตารางที่ 2.6

2.7.2.2 <u>การแยกสารของลำดับส่วนที่ 22 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน</u>

นำสารลำดับส่วนที่ 22 จากข้อ 2.7.2.1 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 7.75 กรัม มาทำการแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลหนัก 150 กรัม เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยรับสารละลายที่ชะได้ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 22 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน แสดงดังตารางที่ 2.7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.6 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-2 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.02 |
| | 3-7 | น้ำมันสีเขียวปนกับตะกอน | 0.63 |
| | 8-12 | น้ำมันสีเขียว | 0.19 |
| | 13-18 | น้ำมันสีเขียวเข้ม | 0.19 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 19-21 | น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน | 0.08 |
| (2:98) | 22 | น้ำมันสีน้ำตาล | 7.75 |
| | 23-24 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.61 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 25-27 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.28 |
| (5:95) | 28-34 | น้ำมันสีน้ำตาลปนตะกอนขาว | 0.35 |
| | 35-39 | สารละลายสีเหลืองปนตะกอนขาว | 0.85 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 40-48 | คราบสีเหลือง | 0.53 |
| (10:90) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 49-55 | คราบสีน้ำตาล | 0.38 |
| (25:75) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 56-64 | คราบสีน้ำตาล | 0.30 |
| (50:50) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 65-72 | คราบสีน้ำตาล | 0.18 |
| (75:25) | | | |
| เมธานอล | 73-82 | คราบสีน้ำตาล | 0.16 |

ตารางที่ 2.7 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 22 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 27-28 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-3 | น้ำมันสีเขียวปนเหลือง | 0.28 |
| | 4-6 | น้ำมันสีเหลืองปนกับสีน้ำตาล | 0.45 |
| | 7-9 | น้ำมันสีเหลือง | 0.22 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 10-11 | น้ำมันสีน้ำตาลแดง | 2.17 |
| (2:98) | 12-14 | น้ำมันสีเหลืองปนสีน้ำตาล | 1.82 |
| | 15-20 | น้ำมันสีเหลืองปนสีน้ำตาล | 0.58 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 21 | น้ำมันสีน้ำตาลแดง | 0.45 |
| (5:95) | 22-25 | น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน | 0.17 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 26 | น้ำมันสีเหลือง | 0.02 |
| (10:90) | 27 | คราบสีน้ำตาล | 0.02 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 28-29 | คราบสีน้ำตาล | 0.05 |
| (25:75) | | | |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 30 | คราบสีน้ำตาล | 0.02 |
| (50:50) | | | |
| เมธานอล | 31-35 | คราบสีน้ำตาล | 0.06 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.7.2.3 การแยกสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 22 จากข้อ 2.7.2.2

นำสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.2 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลแดงหนัก 2.17 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งมีซิลิกาเจลหนัก 40 กรัมเป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยเก็บสารละลายที่ได้ครั้งละ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 22 จากข้อ 2.7.2.2 แสดงดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 22 จากข้อ 2.7.2.2 (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-10 | น้ำมันสีเหลือง | 0.08 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (1:99) | 11-12 | น้ำมันสีน้ำตาลแดง | 1.25 |
| | 13-16 | น้ำมันสีน้ำตาลแดง | 1.01 |
| | 17-18 | น้ำมันสีม่วงแดง | 0.52 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (2:98) | 19-23 | น้ำมันสีน้ำตาลปนสีเหลือง | 0.28 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) | 24-25 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.12 |
| | 26-30 | น้ำมันสีเหลือง | 0.08 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (75:25) | 30-32 | คราบสีเหลือง | 0.05 |
| เมธานอล | 33-36 | คราบสีเหลือง | 0.02 |

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



2.7.2.4 <u>การแยกสารลำดับส่วนที่ 11-12 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3</u>

นำสารลำดับส่วนที่ 11-12 จากข้อ 2.7.2.3 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลแดงหนัก 1.25 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีอะลูมินาเป็นตัวดูดซับหนัก 20 กรัม ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก โดยเก็บสารละลายที่ได้ครั้งละ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 11-12 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 แสดงดังตารางที่ 2.9

<u>ตารางที่ 2.9</u> ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 11-12 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 ( ใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ )

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-8 | ผลึกสีขาว | 0.19 |
| | 9 | ผลึกสีขาวในน้ำมันสีเหลือง | 0.18 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (1:99) | 10 | ผลึกสีขาวในน้ำมันสีน้ำตาลแดง | 0.09 |
| | 11-17 | น้ำมันสีน้ำตาลแดง | 0.08 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (2:98) | 18-22 | คราบสีเหลือง | 0.06 |
| เมธานอล | 23-29 | คราบสีเหลือง | 0.04 |

i17192924

2.7.2.5 การแยกสารลำดับส่วนที่ 13-16 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3

นำสารลำดับส่วนที่ 13-16 จากข้อ 2.7.2.3 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลแดงหนัก 1.01 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีอะลูมินาหนัก 20 กรัม เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก เก็บสารละลายที่ได้ครั้งละ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 13-16 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 แสดงดังตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 13-16 จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 (ใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-9 | น้ำมันสีเหลือง | 0.43 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (1:99) | 10 | น้ำมันสีส้ม | 0.03 |
| | 11-14 | น้ำมันสีเหลืองปนสีน้ำตาลอ่อน | 0.09 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (75:25-27:75) | 15-18 | คราบน้ำมันสีเหลือง | 0.04 |
| เมธานอล | 19-24 | น้ำมันสีแดง | 0.02 |
| | 25-27 | น้ำมันสีส้ม | 0.01 |

2.7.3 การแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต

นำสิ่งสกัดด้วยเอธิลอะซีเตตหนัก 9.3 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับหนัก 120 กรัม ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก เช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 เก็บสารละลายที่ได้จากคอลัมน์ครั้งละ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสิ่งสกัดด้วยเอธิลอะซีเตตโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี แสดงดังตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-3 | น้ำมันสีเขียว | 0.15 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 4-6 | น้ำมันสีน้ำตาลปนกับตะกอนขาว | 1.58 |
| (5:95) | 7-9 | น้ำมันสีน้ำตาลปนกับตะกอนขาว | 0.92 |
| | 10-14 | น้ำมันสีน้ำตาลปนกับตะกอนขาว | 0.60 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 15-17 | น้ำมันสีน้ำตาล | 0.41 |
| (20:80) | 18-23 | น้ำมันสีน้ำตาลเข้มปนตะกอนขาว | 0.58 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน | 24 | คราบสีน้ำตาลปนตะกอน | 0.45 |
| (50:50) | 25-28 | คราบสีน้ำตาลปนตะกอน | 0.32 |
| เมธานอล | 29-36 | คราบสีน้ำตาลปนตะกอน | 0.36 |

2.7.4 การแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยบิวธานอล

นำสิ่งสกัดด้วยบิวธานอล หนัก 41.7 กรัม มาแยกโดยใช้คิวคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีซิลิกาเจล หนัก 600 กรัม เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเรียงตามสภาพมีขั้วจากน้อยไปหามาก คือไดคลอโรมีเธน สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเธนและเมธานอล เมธานอล ตามลำดับ เก็บสารละลายที่ได้จากคอลัมน์ครั้งละ 800 ลูกบาศก์-เซนติเมตร และเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1

ผลการแยกสิ่งสกัดด้วยบิวธานอล โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี แสดงดังตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 ผลการแยกสารจากสิ่งสกัดด้วยบิวธานอล โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ)

| ตัวทำละลาย | ลำดับส่วนที่ | ลักษณะสาร | น้ำหนัก (กรัม) |
|---|---|---|---|
| ไดคลอโรมีเธน | 1-5 | น้ำมันสีเหลือง | 3.54 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (15:85) | 6-9 | น้ำมันสีเหลือง | 4.87 |
| | 10-14 | น้ำมันสีน้ำตาล | 5.32 |
| เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (50:50) | 15-17 | น้ำมันสีน้ำตาล | 4.80 |
| เมธานอล | 18-24 | คราบสีน้ำตาลปนตะกอน | 3.84 |

## 2.8 การทำสารให้บริสุทธิ์และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

### 2.8.1 การทำสาร ก ให้บริสุทธิ์และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

สาร ก เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวในน้ำมันสีเหลืองส้ม จากลำดับส่วนที่ 17-19, 22, 23-24 และ 13-14 ซึ่งชะด้วย ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (50:50) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีจากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน (ตารางที่ 2.1, 2.2 และ 2.3) และสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน (ตารางที่ 2.4) ตามลำดับ นำมาตกผลึกด้วยเฮกเซนหลาย ๆ ครั้ง ได้ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.65 กรัม ($1.7 \times 10^{-2}$ % ของน้ำหนักรากแห้ง) มีจุดหลอมเหลว 135-137 °C ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเธน อีเธอร์ เอธานอล แอซีโตน และเอธิลอะซีเตต ละลายได้เล็กน้อยใน เฮกเซน ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และฟอกจางสี $Br_2$ ใน $CCl_4$

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) พบการดูดกลืนที่ความถี่ (ซม.$^{-1}$) ดังนี้ 3600-3200 (O-H), 2940, 2860 (C-H), 1640 (C=C), 1460, 1380 (C-H), 1060-1040 (C-O), 970, 960 (disubstituted vinyl) และ 840, 800 (trisubstituted vinyl) ดังแสดงในรูปที่ 8

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shifts ($\delta$ , ppm) ดังนี้ 5.32 (d, J=4.39 Hz, 2H, olefinic proton), 5.08 (dd,J=5.86 Hz, 1H, olefinic proton), 3.46 (m, 1H) และ 0.70-2.30 (aliphatic proton) ดังแสดงในรูปที่9

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shifts ($\delta$ , ppm) ดังนี้ 140.76, 138.27, 129.28, 121.64 (olefinic carbon) 71.69 (คาร์บอนที่เกาะกับออกซิเจน) และสัญญาณระหว่าง 56.79-11.83 ดังแสดงในรูปที่ 10

แมสสเปกตรัม ปรากฏพีคสำคัญที่ค่า m/e (ppm) ดังนี้ 414.0, 412.0 และ 400.0 ($C_{29}H_{50}O$, $C_{29}H_{48}O$ และ $C_{28}H_{48}O$ ตามลำดับ) และพีคอื่นๆ ดังนี้ 396.0, 382.0, 329.0, 303.0, 273.0, 255.0 และ 213.0 ดังแสดงในรูปที่ 11

จากการทดสอบปฏิกิริยาเคมี และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี แสดงว่าสาร ก เป็นสารประเภทสเตอรอยด์ จึงนำ สาร ก มาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (คอลัมน์ OV-1, อุณหภูมิคอลัมน์ 260 °C, อุณหภูมิ Injection 300 °C และอัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนคือ 50 มิลลิลิตรต่อนาที) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานสเตอรอยด์ ได้แก่ cholesterol, campesterol, stigmasterol และ $\beta$-sitosterol ได้แก๊สโครมาโทแกรม ดังแสดงในรูปที่ 12 ค่า retention time ของสาร ก เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานสเตอรอยด์ แสดงดังตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.13 ค่า retention time ของสารละลายมาตรฐานสเตอรอยด์ และ สาร ก จากแก๊สโครมาโทแกรม

| สาร | retention time ($R_t$ , นาที) | log $R_t$ | พื้นที่ใต้พีค | ปริมาณสาร ( % ) |
|---|---|---|---|---|
| cholesterol | 16.60 | 1.220 | | |
| campesterol | 20.67 | 1.315 | | |
| stigmasterol | 22.07 | 1.344 | | |
| $\beta$-sitosterol | 25.20 | 1.401 | | |
| สาร ก | 20.95 | 1.321 | 36277 | 5.9 |
| | 22.10 | 1.344 | 186307 | 30.3 |
| | 24.97 | 1.397 | 392288 | 63.8 |

จากแก๊สโครมาโทแกรมสรุปได้ว่า สาร ก ประกอบด้วย 5.9 % campesterol, 30.3 % stigmasterol และ 63.8 % $\beta$-sitosetrol

2.8.2 การทำสาร ข ให้บริสุทธิ์ และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

สาร ข เป็นของแข็งอสัณฐานสีขาวในสารละลายสีเหลือง จากลำดับส่วนที่ 31-37 และ 5 ซึ่งชะด้วย เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีจากสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน (ตารางที่ 2.5) และเอธิลอะซีเตต (ตารางที่ 2.11) ตามลำดับ นำมาตกผลึกด้วยเมธานอลหลาย ๆ ครั้ง ได้ของแข็งอสัณฐานสีขาว หนัก 0.42 กรัม ($1.0 \times 10^{-2}$ % ของน้ำหนักรากแห้ง) ละลายได้ดีในเอธานอล เมธานอล ไม่ละลายในเฮกเซน คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเธน และเอธิลอะซีเตต ทำปฏิกิริยากับ Liebermann-Burchard ได้สารละลายสีเขียว

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) พบการดูดกลืนที่ความถี่ (ซม.$^{-1}$) 3600-3200 (O-H), 2940 (C-H), 1650 (C=C), 1460, 1380 (C-H), 1160-1020 (C-O ของ glycosidic linkage) ดังแสดงในรูปที่ 13

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO-$d_6$) ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift ดังนี้ 5.36 ppm เกิดจากเมไธน์(=CH)โปรตอน, 4.79-3.73 ppm เกิดจากโปรตอนที่อยู่บนส่วนของน้ำตาล และสัญญาณที่ 2.43-0.68 ppm เป็นสัญญาณที่เกิดจากหมู่เมธิลีนและหมู่เมธิลของสารประกอบสเตอรอยด์ ดังแสดงในรูปที่ 14

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม(DMSO-$d_6$) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนที่ค่าchemical shift ดังนี้ 140.25 และ 121.19 ppm เป็นสัญญาณเกิดจาก olefinic carbon, 61.22 ppm เกิดจากคาร์บอนที่ต่ออยู่กับออกซิเจน และ 56.21-11.75 ppm เกิดจากคาร์บอนของสเตอรอยด์ดังแสดงในรูปที่ 15

แมสสเปกตรัม ปรากฏพีคสำคัญที่ m/e ดังนี้ 414, 396, 381, 273, 255 ดังแสดงในรูปที่ 16

จากข้อมูลสเปกโทรสโกปี แสดงว่า สาร ข น่าจะเป็นสารประเภท steroid glycoside จึงนำสาร ข มาไฮโดรไลซ์

การไฮโดรไลซ์ สาร ข

นำสาร ข 70 มิลลิกรัม มาเติมสารละลาย 7 % HCl ในเอธานอลจำนวน 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร รีฟลักซ์บนอ่างน้ำมันที่ 60 °C นาน 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจสอบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์หรือไม่โดยใช้ธินแลร์โครมาโทกราฟี เทียบกับสารตั้งต้น โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และไดคลอโรมีเธน เป็น developing solvent เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้ว นำสารละลายไปกลั่นแบบลดความดันแล้วนำไปเจือจางด้วยน้ำ นำสารละลายมาสกัดด้วยอีเธอร์หลาย ๆ ครั้ง นำสารที่ได้ไปตกผลึกด้วยเมธานอลหลาย ๆ ครั้ง ได้ผลึกสีขาวคือ สาร 1ข หนัก 38 มิลลิกรัม มีจุดหลอมเหลว 135-137 °C ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเธน อีเธอร์ เอธานอล แอซีโตน และเอธิลอะซีเตต ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Lieberman- Burchard และฟอกจางสี $Br_2$ ใน $CCl_4$

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) พบการดูดกลืนที่ความถี่ 3600-3200 ซม.$^{-1}$ (O-H), 2940 ซม.$^{-1}$, 2860 ซม.$^{-1}$ (C-H), 1640 ซม.$^{-1}$(C=C), 1460 ซม.$^{-1}$, 1380 ซม.$^{-1}$ (C-H), 1060-1040 ซม.$^{-1}$ (C-O), 970 ซม.$^{-1}$, 960 ซม.$^{-1}$ (disubstituted vinyl) และ 840 ซม.$^{-1}$, 800 ซม.$^{-1}$ (trisubstituted vinyl) ดังแสดงในรูปที่ 17

จากการทดสอบปฏิกิริยาเคมีและข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม แสดงว่าสาร 1ข น่าจะเป็นสารประเภทสเตอรอยด์ จึงนำสาร 1ข มาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (คอลัมน์ OV-1, อุณหภูมิคอลัมน์ 260 °C, อุณหภูมิ Injection 290 °C และอัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนคือ 50 มิลลิลิตรต่อนาที ) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานสเตอรอยด์ได้แก่ cholesterol, stigmasterol และ $\beta$ -sitosterol ได้แก๊สโครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 18 ค่า retention time ของสาร 1ข เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานสเตอรอยด์ แสดงดังตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 ค่า retention time ของสารมาตรฐานสเตอรอยด์และสาร 1ข จากแก๊สโครมาโทแกรม

| สาร | retention time ($R_t$ , นาที) | log $R_t$ | พื้นที่ใต้พีค | ปริมาณสาร ( % ) |
|---|---|---|---|---|
| cholesterol | 13.98 | 1.145 | | |
| campesterol | 17.38 | 1.240 | | |
| stigmasterol | 18.45 | 1.266 | | |
| $\beta$ -sitosterol | 21.05 | 1.323 | | |
| สาร ก | 17.94 | 1.254 | 23007 | 4.1 |
| | 18.87 | 1.276 | 100587 | 17.9 |
| | 21.04 | 1.323 | 437219 | 78.0 |

จากแก๊สโครมาโทแกรมสรุปได้ว่า สาร 1ข ประกอบด้วย campesterol 4.1 %, stigmasterol 17.9 % และ $\beta$-sitosetrol 78.0 %

การวิเคราะห์ชั้นน้ำ

นำชั้นน้ำมาทำให้เป็นกลางด้วยสารละลาย $AgCO_3$ กรองแยกตะกอน AgCl จะได้สารละลายใสไม่มีสีซึ่งเป็นส่วนของน้ำตาล นำไปกลั่นแบบลดความดันเพื่อระเหยน้ำออก นำสารละลายไปทำเปเปอร์โครมาโทกราฟีเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คือ เทอร์เชียรีบิวธานอล:เบนซีน:ไพริดีน:น้ำ ( 5:1:3:3 ) และตรวจสอบตำแหน่งโดยใช้ Aniline hydrogen phthalate พบว่า น้ำตาลที่พบคือ Glucose เปเปอร์โครมาโทแกรมแสดงดังรูปที่ 19

จากข้อมูลของสเปกโทรสโกปี, แก๊สโครมาโทแกรมและเปเปอร์โครมาโทกราฟี แสดงว่า สาร ข เป็นของผสม campesteryl-3-O-glucopyranoside, stigmasteryl-3-O-glucopyranoside และ $\beta$-sitosteryl-3-O-glucopyranoside

2.8.3 การทำสาร ค ให้บริสุทธิ์ และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

สาร ค เป็นผลึกอสัณฐานสีขาวในน้ำมันสีม่วงแดง จากลำดับส่วนที่ 17-18 ซึ่งชะด้วย ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน (ตารางที่ 2.2) นำมาตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเธน-เมธานอล หลาย ๆ ครั้ง ได้ผลึกอสัณฐานสีขาว หนัก 0.12 กรัม ($0.3 \times 10^{-2}$ % ของน้ำหนักรากแห้ง) มีจุดหลอมเหลว 74-75 °C ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม ให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, $Br_2$ ใน $CCl_4$ แสดงว่า สาร ค ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์ หรือไตรเทอร์พีนอยด์ และไม่มีพันธะคู่ในโมเลกุล

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) พบการดูดกลืนที่ความถี่ (ซม.$^{-1}$) ดังนี้ 3400-3200 (O-H), 2920, 2820 (C-H), 1430 (C-H bend), 1050 (C-O) และ 720, 710 [$(CH_2)_n$, n>4] ดังแสดงในรูปที่ 20

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม($CDCl_3$) ให้สัญญาณโปรตอนที่ค่า chemical shift ดังนี้ 3.67, 1.56, 1.27 และ 0.90 ppm ดังแสดงในรูปที่ 21

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอนที่ค่า chemical shift ดังนี้ 63.1 ppm เกิดจากคาร์บอนที่เกาะอยู่กับออกซิเจนอะตอม และสัญญาณที่ 32.85-14.00 ppm ดังแสดงในรูปที่ 22

แมสสเปกตรัม แสดงในรูปที่ 23 จะไม่ปรากฏพีคของไอออนโมเลกุล ($M^+$) แต่จะปรากฏพีคที่เกิดจากการสูญเสียโมเลกุลของน้ำ ($M^+-H_2O$) ที่ m/e ดังนี้ 392, 378, 364, 350 และ 336 พีคที่เกิดจากการสูญเสียโมเลกุลของน้ำและเอธิลีน ($M^+-46$) ที่ m/e ดังนี้ 364, 350, 336, 322 และ 308 และพีคที่เกิดจากการสูญเสียโมเลกุลของเอธิลีนครั้งละ 1 โมเลกุล (m/e = 28) ทีละขั้น ดังแสดงในรูปที่ 23

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จากข้อมูลสเปกโทรสโกปีและ การทดสอบปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ แสดงว่าสาร ค น่าจะเป็นสารประเภทแอลกอฮอล์โซ่ตรง จึงนำสาร ค มาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (คอลัมน์ OV-1, อุณหภูมิคอลัมน์ 250 °C, อุณหภูมิ Injection 290 °C, การไหลของแก๊สไนโตรเจน 50 มิลลิลิตรต่อนาที) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรงที่มีจำนวนคาร์บอน 14, 16, 18, 20และ 22 อะตอม ได้แก๊สโครมาโทแกรมดังรูปที่ 24 และสร้างกราฟเปรียบเทียบค่า log retention time กับจำนวนคาร์บอนของสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง ดังแสดงในรูปที่ 25 ผลจากการเปรียบเทียบค่า log retention time ของจำนวนคาร์บอนของสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรงกับสาร ค แสดงดังตารางที่ 2.15 และสามารถหาจำนวนอะตอมคาร์บอนในสาร ค ได้

ตารางที่ 2.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า retention time และlog retention time ของสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง และสาร ค กับจำนวนคาร์บอน

| สาร | retention time ($R_t$,นาที) | log $R_t$ | จำนวนคาร์บอน | ปริมาณสาร |
|---|---|---|---|---|
| tetradecanol | 0.86 | -0.0655 | 14 | |
| hexadecanol | 1.16 | 0.0645 | 16 | |
| octadecanol | 1.70 | 0.2304 | 18 | |
| eicosanol | 2.62 | 0.4183 | 20 | |
| docosanol | 4.21 | 0.6243 | 22 | |
| สาร ค | 7.10 | 0.8513 | 24 | 8.9 |
| | 9.37 | 0.9717 | 25 | 1.7 |
| | 11.70 | 1.0682 | 26 | 35.5 |
| | 15.80 | 1.1987 | 27 | 10.8 |
| | 19.70 | 1.2945 | 28 | 43.1 |

2.8.4 การทำสาร ง ให้บริสุทธิ์และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

สาร ง เป็นผลึกรูปแท่งสีขาว จากลำดับส่วนที่ 1-10 ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี ของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 ของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน ( ตารางที่ 2.9 ) ซึ่งชะด้วย ไดคลอโรมีเธน และ เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (1:99) นำมาตกผลึกด้วย ไดคลอโรมีเธน-เมธานอล หลาย ๆ ครั้ง ได้ผลึกรูปแท่งสีขาว หนัก 0.29 กรัม ($0.8 \times 10^{-2}$ % ของน้ำหนักรากแห้ง) มีจุดหลอมเหลว 257-258 °C ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เมธานอล เมื่อตรวจสอบด้วยแสงอัลตราไวโอเลต พบว่าสาร ง เรืองแสงสีม่วงที่ความยาวคลื่น 254 nm ให้ผลลบกับ ปฏิกิริยา Liebermann-Burchard , 2,4- DNP, ไม่ฟอกจางสี $Br_2$ ใน $CCl_4$, แสดงว่า สาร ง ไม่ใช่สารประเภท สเตอรอยด์ หรือ ไตรเทอร์พีนอยด์ ไม่ใช่สารประเภทแอลดีไฮด์หรือคีโตน และไม่มีพันธะคู่ในโมเลกุล

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ (ซม.$^{-1}$) ต่าง ๆ ดังนี้ 3600-3200 (O-H), 3060, 3020 (=C-H ของแอโรมาติก), 2920, 2850 (C-H), 1670 (conjugated C=O หรือ C=O ของแอมีด), 1600, 1530 และ 1500 (C=C aromatic), 1450, 1380 (C-H), 1250 และ 1020 (=C-O-C ของอีเธอร์), 1300 (C-N), 1100 (C-O ของแอลกอฮอล์), 820 และ 810 (=CH ชนิด para-substitued), 740 และ 700 (=CH monosubstitued) ดังแสดงในรูปที่ 26

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณโปรตอนที่ค่า chemical shift ($\delta$ , ppm) ต่าง ๆ ดังนี้ 7.02-7.10 (m, 5H), 6.85-6.89 (m, 2H), 6.52-6.58 (d, J=8 Hz, 2H), 6.19 (d, J=1 Hz, 1H), 6.04 (d, J=1Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.02-4.18 (m, J=8 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.32 (s, 1H), 3.12-3.28 (m, J=8 Hz, 2H), 2.20-2.32 (m, J=8 Hz, 2H) ดังแสดงในรูปที่ 27

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 27 สัญญาณที่ค่า chemical shift (ppm) ดังนี้ 166.7, 166.0, 163.4, 160.8, 159.0, 158.6, 158.0, 136.9, 129.2, 128.9, 127.6, 127.0, 126.7, 121.4, 112.2, 107.2, 103.6, 92.6, 90.3, 89.0, 56.9, 55.6, 55.5, 54.9, 46.7, 32.7 และ 19.4 ดังแสดงในรูปที่ 29

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DEPT 90) ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณของเมไธน์คาร์บอน (CH) 8 สัญญาณที่ค่า chemical shift (ppm) ดังนี้ 129.2, 128.9, 127.6, 126.7, 112.2, 92.6, 89.0, 56.9 ดังแสดงในรูปที่ 30

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DEPT 135) ($CDCl_3$) ปรากฏสัญญาณของเมธิลีนคาร์บอน ($CH_2$) 3 สัญญาณที่ค่า chemical shift (ppm) ดังนี้ 46.7, 32.7 และ 19.4 และสัญญาณของเมธอกซีคาร์บอน ($OCH_3$) 3 สัญญาณที่ค่า chemical shift (ppm) ดังนี้ 55.6, 55.5 และ 54.9 ดังแสดงในรูปที่ 31

แมสสเปกตรัม ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล ( $M^+$ ) ที่ m/e 524 และยังพบพีคที่สำคัญดังนี้ 493, 447, 419, 417, 389, 372, 371, 370 (base peak), 343, 342, 315, 135 และ 107 ดังแสดงในรูปที่ 34

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.9 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สิ่งสกัดด้วยเมธานอลของประยงค์แสดงความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูง ดังแสดงในตารางที่ 2.16

ตารางที่ 2.16 แสดงผลความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูงของประยงค์(Aglaia odorata Lour.)

| ส่วนของพืช | อัตราความเข้มข้น* | % ปลาตายหลังใส่สาร 24 ชั่วโมง |
|---|---|---|
| ราก | 0.01 | 0 |
| | 0.10 | 100 |
| | 1.00 | 100 |
| ใบ | 0.01 | 3.7 |
| | 0.10 | 42.96 |
| | 1.00 | 100 |
| กิ่ง | 0.01 | 0 |
| | 0.10 | 0.27 |
| | 1.00 | 31.82 |

* หน่วยความเข้มข้น คือ กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร

จากตารางที่ 2.16 สรุปได้ว่าสิ่งสกัดด้วยเมธานอลของรากประยงค์แสดงความเป็นพิษต่อปลาที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร ทำให้ปลาตายหมด ส่วนสิ่งสกัดของใบประยงค์แสดงความเป็นพิษต่อปลาที่ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร ทำให้ปลาตาย 3.7 % และสำหรับกิ่งประยงค์จะแสดงความเป็นพิษต่อปลาที่ความเข้มข้น 1.00 กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร ทำให้ปลาตาย 31.82 %