



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้าน
Chemical Constituents from the Stem Bark of *Pterocarpus indicus*
Willd

ชื่อนิสิต นางสาวชนธิภา เลิศวิภาภัทร

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้าน
Chemical Constituents from the Stem Bark of
Pterocarpus indicus Willd.



โดย

นางสาวชนธิภา เลิศวิภาภักดิ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้าน

โดย นางสาวชั้นธิภา เลิศวิภาภัทร

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ทิพยางค์)


.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โสมวดี ไชยอนันต์สุจริต)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ

ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้าน
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวชนธิภา เลิศวิภาภัทร เลขประจำตัว 5533070223
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ทิพยวงศ์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

จากการนำเปลือกต้นประดู่บ้านมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต แล้วนำสิ่งสกัดที่ได้นั้นมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าสามารถแยกสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ได้ 2 ชนิด คือ lupeol (1) และ canophyllol (2) สารประกอบควิโนน 1 ชนิด คือ 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (3) สารประกอบฟีนอลิก 3 ชนิด คือ vanillic acid (4), *trans*-4-hydroxymellein (5) และ *cis*-4-hydroxymellein (6) และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 6 ชนิด โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเทอโรคาร์พิน 2 ชนิด ได้แก่ (6 α R,11 α R)-medicarpin (7) และ (6 α R, 11 α R)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) และกลุ่มไอโซฟลาโวน 4 ชนิด ได้แก่ afromosin (9), formononetin (10), clycosin (11) และ 8-*O*-methylretusin (12) โดยโครงสร้างทั้งหมดได้พิสูจน์ทราบด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี ร่วมกับการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ และจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของยีสต์พบว่าสาร 1 และ 11 มีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดี โดยมีค่า IC₅₀ = 37.2 และ 29.8 μ M ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า IC₅₀ = 526 μ M และจากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (มอลทอส และซูเครส) พบว่าสาร 11 มีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง โดยมีค่า IC₅₀ = 67.7 และ 103 μ M ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า IC₅₀ = 7.9 และ 10.9 μ M ตามลำดับ

คำสำคัญ: ต้นประดู่บ้าน, ไตรเทอร์พีนอยด์, สารประกอบควิโนน, สารประกอบฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, เทอโรคาร์พิน, ไอโซฟลาโวน, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

Title Chemical Constituents from the Stem Bark of *Pterocarpus indicus*
Willd

Student name Miss Chantipa Lerswipapat ID 5533070223

Advisor name Associate Professor Dr.Santi Tip-pyang

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Academic Year
2015

Abstract

The stem bark of *Pterocarpus indicus* Willd was extracted with ethyl acetate (EtOAc). The EtOAc crude extract was chromatographed which led to isolation of two major triterpenoids, lupeol (**1**) and canophyllol (**2**), one quinone compound, 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (**3**), three phenolic compounds, vanillic acid (**4**), *trans*-4-hydroxymellein (**5**) and *cis*-4-hydroxymellein (**6**), six flavonoids that can be classified into two pterocarpin derivatives, (6 α R,11 α R)-medicarpin (**7**) and (6 α R, 11 α R)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (**8**), together with four isoflavone derivatives, afromosin (**9**), formononetin (**10**), clycosin (**11**) and 8-*O*-methylretusin (**12**). Their structures were determined by spectroscopic methods as well as comparison with previous reports in the literature. Moreover, all compounds were evaluated for their α -glucosidase activity in yeasts. Compounds **1** and **11** showed potent inhibitory activity towards yeast α -glucosidase with the IC₅₀ values of 37.2 and 29.8 μ M, respectively, while the standard acarbose had an IC₅₀ value of 526 μ M. In addition, the rat intestine glucosidase (maltase and sucrase) of all isolated compounds were evaluated. Compound **11** showed moderate inhibitory activity towards α -glucosidase (maltase and sucrase) with the IC₅₀ values of 67.7 and 103 μ M, respectively when compared to the standard acarbose with the IC₅₀ values of 7.9 and 10.9 μ M, respectively.

Keywords: *Pterocarpus indicus* Willd, triterpenoids, phenolic compounds, flavonoid, pterocarpin, isoflavone, α -glucosidase inhibitory activity

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ทิพยางค์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำงานวิจัย รวมทั้งการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โสมวดี ไชยอนันต์สุจิริต ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณที่ ๆ ทุกคนในหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่คอยให้คำแนะนำและเอื้อเพื่ออุปกรณ์ในระหว่างการทำวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.จีราพัทธ์ สีแจ่ม ขอขอบพระคุณหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ทำให้การวิจัยครั้งนี้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

โครงการนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2558 ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
ปกใน	ก
หน้าอ努มดี	ข
บทคัด้ยอ่ (ภาษาไทย)	ค
บทคัด้ยอ่ (ภาษาอังกฤษ)	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
สารบัญแผนภาพ	ญ
สารบัญภาคผนวก	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของต้นประดู่บ้าน	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	6
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	7
2.1 พีชตัวอย่าง	7
2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	7
2.3 สารเคมี	8
2.4 ขั้นตอนการทดลอง	8
2.5 เทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง	8
2.6 การเตรียมวัสดุดิบและการสกัด	12

	หน้า
2.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส	16
บทที่ 3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างและผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้	18
3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 1	18
3.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 2	19
3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 3	20
3.4 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 4	20
3.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 5	21
3.6 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 6	22
3.7 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 7	23
3.8 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 8	24
3.9 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 9	25
3.10 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 10	26
3.11 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 11	27
3.12 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 12	28
3.13 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้	29
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	31
ข้อเสนอแนะ	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	36
ประวัติผู้วิจัย	45



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 1	18
3.2	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 2	19
3.3	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 3	20
3.4	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 4	20
3.5	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 5	21
3.6	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 6	22
3.7	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 7	23
3.8	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 8	24
3.9	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 9	25
3.10	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 10	26
3.11	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 11	27
3.12	ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 12	28
3.13	ค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ (1-12) และ สารมาตรฐาน acarbose	29

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	ลักษณะของใบ ดอก และผลของต้นประดู่บ้าน	2
1.2	สารที่สกัดได้จากต้น <i>Pterocarpus marsupium</i> Roxb	2
1.3	สารที่สกัดได้จากต้น <i>Pterocarpus marsupium</i> Roxb	3
1.4	สารที่สกัดได้จากต้น <i>Pterocarpus marsupium</i> Roxb	3
1.5	สารที่สกัดจากต้น <i>Pterocarpus santalinus</i>	4
1.6	สารสกัดจากใบและดอกต้น <i>Pterocarpus indicus</i> Willd	4
1.7	สารที่สกัดจากต้น <i>Pterocarpus macrocarpus</i> Kurz	5
1.8	สารที่สกัดได้จากต้น <i>Pterocarpus marsupium</i> Roxb	6
3.1	โครงสร้างของสาร 1	18
3.2	โครงสร้างของสาร 2	19
3.3	โครงสร้างของสาร 3	20
3.4	โครงสร้างของสาร 4	20
3.5	โครงสร้างของสาร 5	21
3.6	โครงสร้างของสาร 6	22
3.7	โครงสร้างของสาร 7	23
3.8	โครงสร้างของสาร 8	24
3.9	โครงสร้างของสาร 9	25
3.10	โครงสร้างของสาร 10	26
3.11	โครงสร้างของสาร 11	27
3.12	โครงสร้างของสาร 12	28
4.1	แสดงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ 1-12	31

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่	หน้า
2.6.1 ขั้นตอนการสกัดเปลือกต้นประดู่บ้าน	12
2.6.2 ขั้นตอนการแยกสารประกอบของเปลือกต้นประดู่บ้าน	15



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาคผนวก

รูปที่		หน้า
1	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ lupeol (1) ใน CDCl_3	37
2	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ canophyllol (2) ใน CDCl_3	37
3	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ canophyllol (2) ใน CDCl_3	38
4	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 2,6-dimethoxy- <i>p</i> -benzoquinone (3) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	38
5	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ vanillic acid (4) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	39
6	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ trans-4-hydroxymellein (5) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	39
7	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ cis-4-hydroxymellein (6) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	40
8	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ (6 α R,11 α R)-medicarpin (7) ใน CDCl_3	40
9	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ (6 α R, 11 α R)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) ใน CDCl_3	41
10	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ (6 α R, 11 α R)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) ใน CDCl_3	41
11	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ afromosin (9) ใน CDCl_3	42
12	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ afromosin (9) ใน CDCl_3	42
13	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ formononetin (10) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	43
14	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ glycosin (11) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	43
15	สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ glycosin (11) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	44
16	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 8-O-methylretusin (12) ใน CDCl_3	44

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

NMR	nuclear magnetic resonance
PTLC	Preparative thin layer chromatography
TLC	Thin-Layer Chromatography
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration
<i>J</i>	coupling constant (Hz)
s	singlet
d	doublet
t	triplet
q	quartet
dd	doublet of doublets
dt	doublet of triplets
m	multiplet
br	broad signal
SAR	structure–activity relationship

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันนี้มีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นทุกปี สาเหตุเกิดจากการเผาผลาญอาหารที่มีระดับน้ำตาลสูงเป็นเวลานาน ทำให้ตับอ่อนผลิตอินซูลินไม่เพียงพอต่อร่างกายทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงหรืออาจเกิดจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น พันธุกรรม เป็นต้น โรคเบาหวานยังส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือด โรคหัวใจและโรคไต ซึ่งทำให้เสียชีวิตได้ในที่สุด ปัจจุบันมีการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานขึ้นกับประเภทของโรคเบาหวาน โดยโรคเบาหวานชนิดที่ 1 จะต้องรักษาโดยการฉีดฮอร์โมนอินซูลิน ส่วนในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 สามารถรักษาโดยการบริโภคอาหารที่เหมาะสม การออกกำลังกาย รวมถึงควบคุมน้ำหนักและความดัน หรืออาจรักษาควบคู่ไปกับยาพร้อมกับอินซูลินก็ได้ ในงานวิจัยนี้จึงสนใจหาสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากเปลือกต้นประดู่บ้าน โดยเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสนั้นเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจึงทำให้สามารถชะลอการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และชะลอการเพิ่มของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้

ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของต้นประดู่บ้าน

ประดู่บ้าน (*Pterocarpus indicus* Willd) เป็นพืชวงศ์ Fabaceae (Leguminales-Papilionaceae) ถิ่นกำเนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ออสเตรเลียตอนเหนือ และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกด้านตะวันตก ในประเทศไทยพบได้ในป่าดิบของภาคใต้ และต่อมามีการนำไปปลูกในภูมิภาคต่าง ๆ ในภายหลัง มีชื่อไทยเรียกต่างกัน เช่น ตู่บ้าน (ภาคเหนือ) ประดู่บ้าน ประดู่ลาย อังสนา (ภาคกลาง) หรือสะโน (มาเลย์และนราธิวาส) ลักษณะทั่วไปของประดู่บ้านเป็นไม้ยืนต้นสูง 15-30 เมตร มีพุ่มกว้างกิ่งยาวย่อย ใบประกอบแบบขนนกเรียงสลับ ใบเป็นรูปมนรีปลายใบแหลม ใบจะออกรวมกันเป็นช่อ ดอกเป็นช่อออกตามปลายกิ่ง กลีบดอกมีสีเหลืองขนาดเล็ก ผลมีลักษณะคล้ายโล่มีครีบเป็นแผ่นกลมตรงกลางนูน เปลือกหนามีสีเทาแตกเป็นร่องยาว เนื้อไม้แข็งมีสีขาวอมเหลือง แก่นมีสีแดงอมเหลือง ใช้ทำสิ่งปลูกสร้าง ดำเครื่องมือทางการเกษตร เครื่องดนตรี และของตกแต่งภายในบ้าน¹ นอกจากนี้การแพทย์แผนเดิมได้มีการบันทึกการรักษาโรคต่าง ๆ ดังนี้ ใช้ต่อต้านโรคมะเร็งและโรคบิด แก้กท้องเสียและเจ็บคอ ใช้สมานบาดแผล ใช้เป็นยาระบายและยาขับปัสสาวะ รวมถึงใช้บ้วนปากรักษาโรคเชื้อราในช่องปาก²



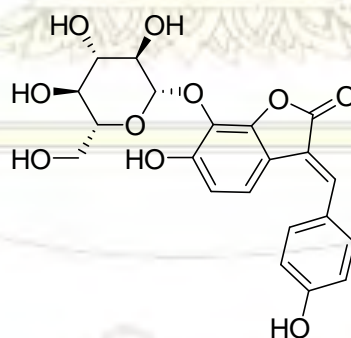
รูปที่ 1.1 ลักษณะของใบ ดอก และผลของต้นประดู่บ้าน

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยในพืชสกุล *Pterocarpus* ส่วนใหญ่จะพบสารในกลุ่ม isoflavonoids, terpenoids และสารประกอบ phenol ได้แก่ β -sitosterol, lupeol และ (-) epicatechin เป็นต้น³

Sundarrao และคณะ⁴ (1993) ทดสอบฤทธิ์ต่อต้านเซลล์แบคทีเรียและเนื้องอก พบว่าใบของ *Pterocarpus indicus* Willd มีฤทธิ์ต่อต้านเนื้องอก

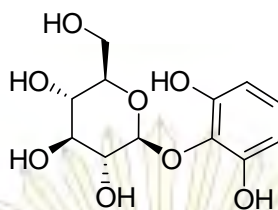
Handa และคณะ⁵ (2000) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb พบว่าได้สารชนิดใหม่คือ pterocarposide ดังแสดงในรูปที่ 1.2 ซึ่งเป็นสารกลุ่ม isoaurone glycoside ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน



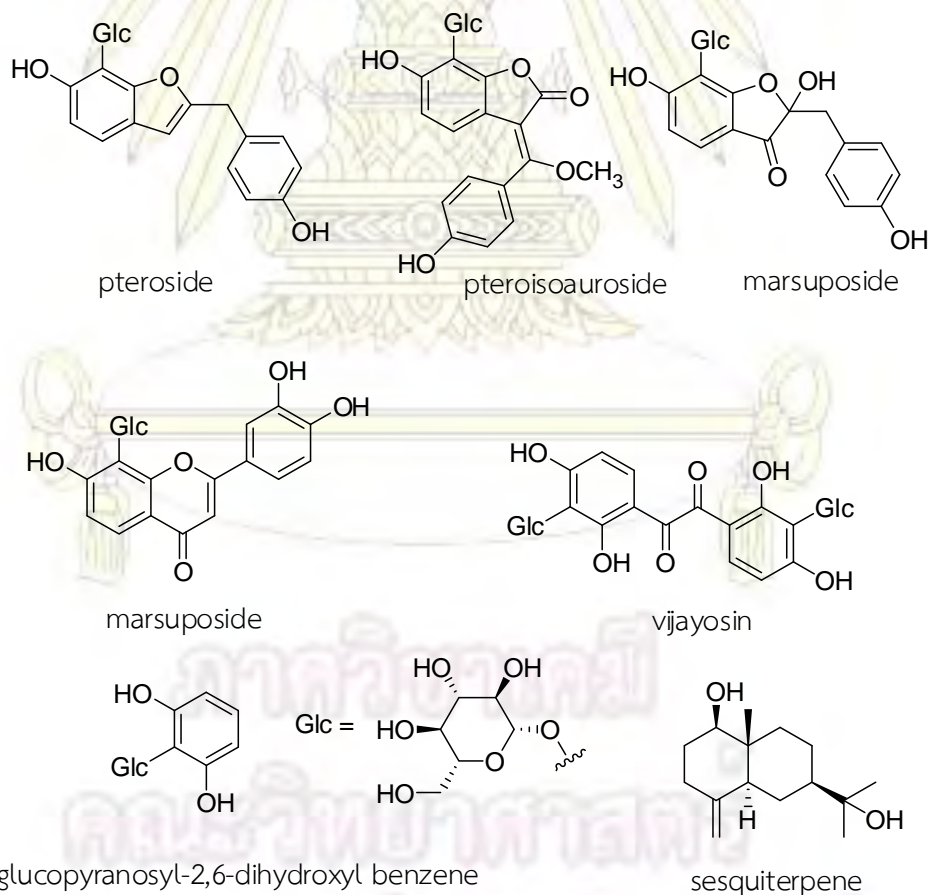
pterocarposide

รูปที่ 1.2 สารที่สกัดได้จากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb

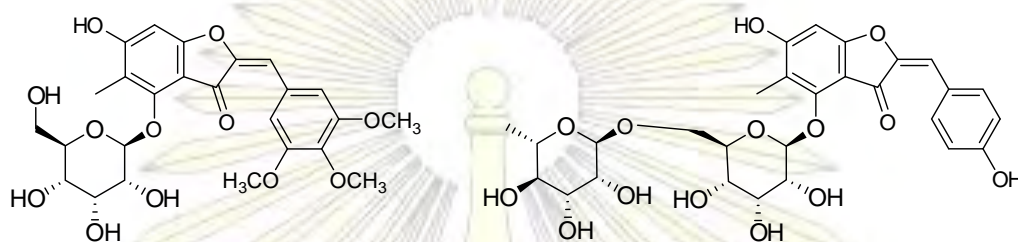
Suri และคณะ⁶ (2003) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb พบว่าได้สาร 1-(2', 6'-dihydroxyphenyl)- β -D-glucopyranoside ดังแสดงในรูปที่ 1.3 ใช้เป็นสารลดน้ำตาลในเลือด

1-(2', 6'-dihydroxyphenyl)- β -D-glucopyranosideรูปที่ 1.3 สารที่สกัดได้จากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb

Rakesh และคณะ⁷ (2004) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb พบว่าได้สารชนิดใหม่ 5 ชนิด คือ pteroside, pteroisoaurosides, marsuposide (เป็นสารในกลุ่ม benzofuranone-C-glucoside), marsuposide (เป็นสารในกลุ่ม flavone-C-glucoside) และ vijayosin (เป็นสารในกลุ่ม flavonoid-C-glucosides) และสารที่เคยค้นพบมาแล้วสองชนิดคือ C- β -D-glucopyranosyl-2,6-dihydroxyl benzene และ sesquiterpene ดังแสดงในรูปที่ 1.4

รูปที่ 1.4 สารที่สกัดได้จากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb

Achyut และคณะ⁸ (2004) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus santalinus* พบว่าได้สาร 2 ชนิด คือ 6-hydroxy-5-methyl 3',4',5' trimethoxyaurone-4-*O*- α -L-rhamnopyranoside และ 6,4'-dihydroxy aurone 4-*O*-rutinoside ดังแสดงในรูปที่ 1.5 โดยสารกลุ่ม aurones มีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยาในเม็ดเลือดได้

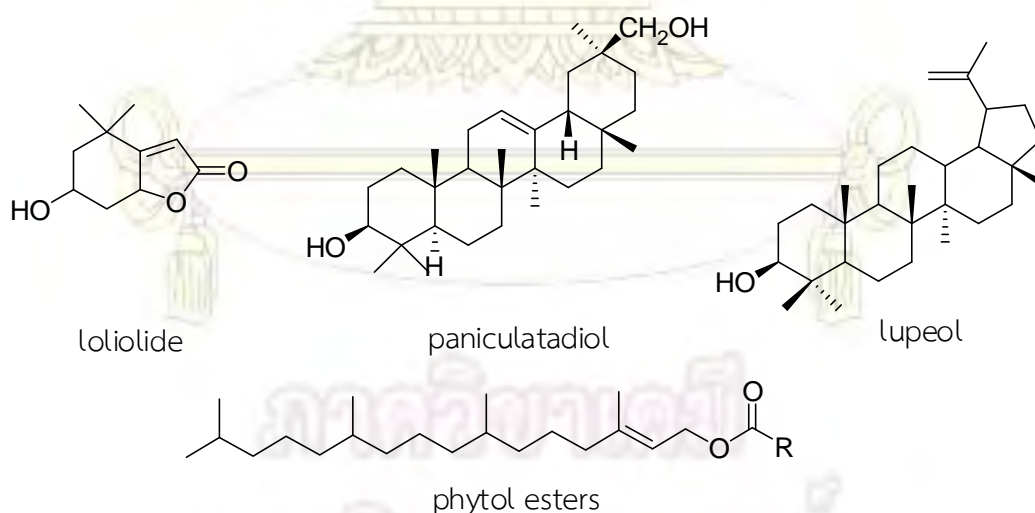


6-hydroxy-5-methyl 3',4',5' trimethoxyaurone
-4-*O*- α -L-rhamnopyranoside

6,4'-dihydroxy aurone 4-*O*-rutinoside

รูปที่ 1.5 สารที่สกัดจากต้น *Pterocarpus santalinus*

Ragasa และคณะ⁹ (2005) ได้สกัดสารจากใบและดอกต้น *Pterocarpus indicus* Willd สารสกัดจากใบสามารถแยกได้สาร loliolide และ paniculadiol และสารสกัดจากดอกพบว่าสามารถแยกได้สาร lupeol และ phytol esters ดังแสดงในรูปที่ 1.6 โดยสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้



loliolide

paniculadiol

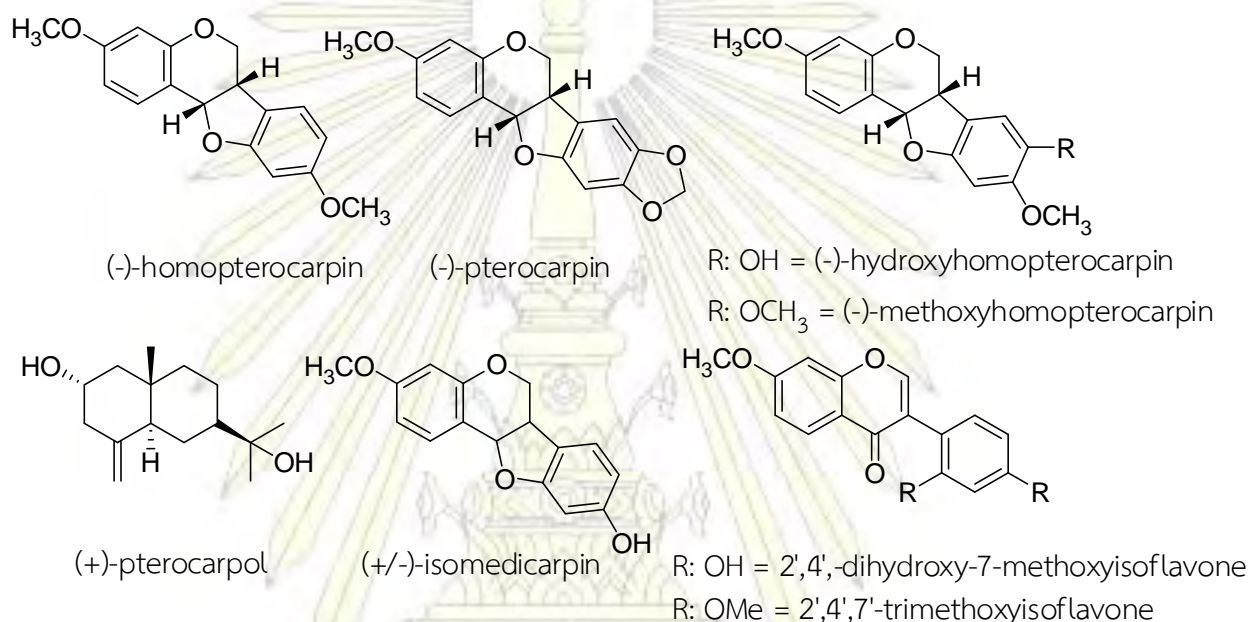
lupeol

phytol esters

R = long chain fatty acids

รูปที่ 1.6 สารสกัดจากใบและดอกต้น *Pterocarpus indicus* Willd

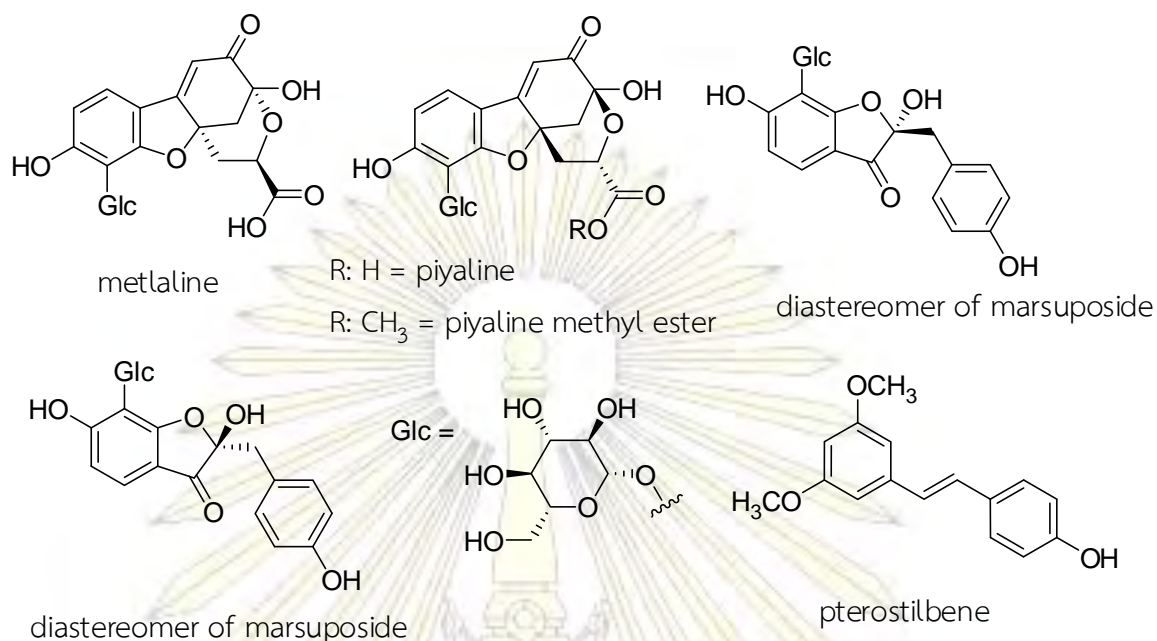
Masanori และคณะ¹⁰ (2006) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus macrocarpus* Kurz พบสารสองกลุ่มคือ pterocarpan และ pterocarpol สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการต่อต้านแมลง โดยสารที่พบคือ (-)-homopterocarpin, (-)-pterocarpin, (-)-hydroxyhomopterocarpin, (-)-methoxyhomopterocarpin, (+)-pterocarpol, (\pm)-isomedicarpin, 2',4',-dihydroxy-7-methoxyisoflavone และ 2',4',7'-trimethoxyisoflavone ดังแสดงในรูปที่ 1.7



รูปที่ 1.7 สารที่สกัดจากต้น *Pterocarpus macrocarpus* Kurz

Khem และคณะ¹¹ (2012) ได้สกัดสารจากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb พบว่าสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 5 ชนิดคือ metlaine, pialine, pialine methyl ester, ไดแอสเตอร์ไอเมอร์ของ marsuposide และ pterostilbene ดังแสดงในรูปที่ 1.8 ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคเบาหวานในผู้ป่วยได้

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.8 สารที่สกัดได้จากต้น *Pterocarpus marsupium* Roxb

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกของต้นประดู่บ้าน โดยสกัดสารด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต เฮกเซน และเมทานอล แล้วทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี และพิสูจน์โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้านด้วยข้อมูลทางกายภาพและทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ แมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry: MS) และ nuclear magnetic resonance (NMR) เป็นต้น รวมถึงนำสารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส นอกจากนี้จากการสืบค้นข้อมูลวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าไม่เคยมีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากต้นประดู่บ้านมาก่อนจึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งโรคเบาหวานจากพืชชนิดนี้

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. หาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้าน
2. พิสูจน์โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นประดู่บ้านด้วยข้อมูลทางกายภาพและทางสเปกโทรสโกปี
3. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 พืชตัวอย่าง

เปลือกต้นประดู่บ้านที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ เก็บมาจากจังหวัดมหาสารคาม เมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. คอลัมน์ (column)
2. ขวดรูปชมพู่ (flask)
3. ปีกเกอร์ (beaker)
4. กระดาษกรอง (filter paper)
5. กรวยแก้ว (glass funnel)
6. แท่งแก้วคนสาร (glass rod)
7. หลอดหยดสาร (dropper)
8. หลอดคะปิลลารี (capillary tube)
9. หลอดทดลอง (test tube)
10. ขวดกำหนดปริมาตร (volumetric flask)
11. ไมโครปิเปต (micropipette)
12. เครื่อง hotplate stirrer
13. เครื่องชั่งไฟฟ้า
14. เครื่อง Mass Spectrometer รุ่น Trio 2000
15. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer
16. UV lamp ใช้ตรวจสอบสารที่ดูดกลืนแสงในช่วง UV บนแผ่น TLC ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ Short wave length = 254 nm และ Long wave length = 365 nm
17. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporation)
18. เครื่องโครมาโทรอน (Chromatotron[®])

2.3 สารเคมี

1. ตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตต และเมทานอล
2. ซิลิกาเจลเบอร์ 7743 สำหรับทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี (open column chromatography)
3. ซิลิกาเจลเบอร์ 7749 สำหรับทำ Preparative thin layer chromatography (PTLC)
4. Sephadex LH-20
5. แผ่น Thin-Layer Chromatography (TLC) ชนิด PF254 ของบริษัท Merck ประเทศเยอรมัน

2.4 ขั้นตอนการทดลอง

1. ค้นคว้าเอกสารข้อมูลที่เกี่ยวข้อง และจัดหาเปลือกต้นประดู่บ้าน อุปกรณ์ และสารเคมี
2. เตรียมสารสกัดจากเปลือกต้นประดู่บ้านด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ศึกษาหาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสม เวลาที่ใช้ในการสกัด 1 สัปดาห์ นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้ง (ระเหยตัวทำละลายออก) ตรวจสอบจำนวนองค์ประกอบทางเคมีที่สกัดด้วย thin layer chromatography (TLC)
3. แยกสารสกัดให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี ศึกษาหาวิฤภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสม ตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยแผ่น TLC หากสารที่ได้ยังไม่บริสุทธิ์ทำการสกัดซ้ำโดยการเปลี่ยนวิฤภาคเคลื่อนที่
4. พิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารสกัดบริสุทธิ์ด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ แมสสเปกโทรเมตรี (MS) และ nuclear magnetic resonance (NMR) นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลของสารที่ทราบสูตรโครงสร้างแล้ว
5. นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส
6. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนรายงาน

2.5 เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

2.5.1 คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

ใช้ตัวดูดซับ (Stationary Phase) คือ ซิลิกาเจล ชนิด 60G Art. 7734 หรือ Sephadex LH-20

ใช้คอลัมน์แก้วขนาดที่เหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการแยก โดยอัตราส่วนของตัวดูดซับต่อสารที่แยกประมาณ 20 ต่อ 1 (โดยน้ำหนัก) บรรจุคอลัมน์โดยวิธีแบบเปียก กล่าวคือ ในตอนแรกต้องทำการเขย่าของผสมระหว่างซิลิกาเจล กับตัวทำละลายให้เข้ากันเป็นอย่างดีในภาชนะที่ปิด

สนิทแล้วจึงค่อย ๆ เทของผสมนี้ลงในคอลัมน์ที่มีสำลือตรงปลาย และมีตัวทำละลายอยู่ประมาณ ครึ่งหนึ่งของคอลัมน์ขณะที่เทซิลิกาเจลลงในคอลัมน์ ควรเปิดวาล์วคอลัมน์ให้ตัวทำละลายไหลออก อย่างช้า ๆ เพื่อให้ซิลิกาเจลอัดตัวในคอลัมน์อย่างสม่ำเสมอ ทำเช่นนี้จนกระทั่งบรรจุซิลิกาเจลใน ระดับที่ต้องการ และระดับซิลิกาเจลไม่ลดลงอีก จากนั้นจึงปล่อยให้ตัวทำละลายลดลงจนเกือบถึง ระดับเดียวกับซิลิกาเจล แล้วปิดคอลัมน์ บรรจุสารที่ต้องการแยกลงไป โดยสารที่ต้องการแยกหรือสิ่ง สกัดควรระเหยตัวทำละลายให้เกือบแห้ง แล้วนำไปผสมกับซิลิกาเจลเบอร์ 7734 โดยใช้ซิลิกาเจล ปริมาณน้อยที่สุด นำไปบดและร่อนผ่านตะแกรง เพื่อให้เป็นผงละเอียดขนาดเท่ากัน จากนั้นบรรจุสาร ที่ผสมกับซิลิกาเจลลงในคอลัมน์ที่เตรียมไว้ในภาชนะปิดที่บรรจุสารที่ต้องการแยก นำไประเหยตัวทำละลาย อีกครั้งเพื่อให้ได้ของผสมแห้งใส่คอลัมน์ แล้วใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกันจำนวนเล็กน้อยล้างผิว ด้านข้างในคอลัมน์ เติมซิลิกาเจลชนิด 60G Art. 7734 เล็กน้อย เพื่อป้องกันการกระแทกกระเทือน ผิวหน้าของของผสมขณะเติมตัวทำละลาย และเปิดให้ตัวทำละลายไหลออกอย่างช้า ๆ จนตัวทำ ละลายด้านบนในไซ จากนั้นจึงเริ่มเปลี่ยนตัวทำละลายชนิดใหม่ต่อไป ตลอดการทดลองต้องระวังไม่ให้ ตัวทำละลายแห้งในคอลัมน์ เพราะอาจทำให้ประสิทธิภาพในการแยกไม่ได้

2.5.2 ทิน-เลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin-Layer Chromatography: TLC)

เป็นเทคนิคอย่างง่ายที่ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร โดยใช้ TLC aluminum sheets silica gel 60 F₂₅₄ ตัดให้มีขนาดพอเหมาะ แล้วทำการระบุระยะทางที่จะให้ตัวทำละลาย เคลื่อนที่ แต้มสารละลายของสารที่ต้องการตรวจสอบบนจุดเริ่มต้นด้วยหลอดคอปิลลารีขนาดเล็กให้มี ระยะห่างระหว่างจุดประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ไปจุ่มในภาชนะปิดที่บุด้วยกระดาษกรอง และมีตัวทำละลายที่เหมาะสมบรรจุอยู่ ปล่อยให้ตัวทำละลายชะสารให้เคลื่อนที่ไปบนแผ่น TLC จนถึงจุดสูงสุด (solvent front) ที่ขีดไว้ ทิ้งให้แผ่น TLC แห้ง แล้วนำไปตรวจหาตำแหน่งของสาร โดยส่องด้วย UV Lamp ที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร หรือนำไปจุ่มในสารละลาย anisaldehyde/H₂SO₄ แล้วอบที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส นาน 1-2 นาที แล้วบันทึก ตำแหน่งของจุดดังกล่าว

ก. การเตรียมภาชนะสำหรับ develop ใช้ขวดแก้วทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าพร้อมฝาปิดที่ สะอาดและมีขนาดพอเหมาะที่จะใส่แผ่น TLC ใส่กระดาษกรองที่มีความสูงและความกว้างพอดีกับ ขนาดของภาชนะให้แนบติดกับผิวด้านใน รินตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไปให้สูงจากก้นภาชนะ ประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะแล้วปล่อยให้ตัวทำละลายซึมเปียกกระดาษกรองทั้งแผ่น เพื่อให้ ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย

ข. การแต้มสาร นำแผ่น TLC มาขีดเส้นด้วยดินสอ เพื่อกำหนดระดับสูงสุดที่ต้องการให้ตัวทำละลายซึมขึ้นไปด้านบน และขีดกำหนดระดับด้านล่างตรงตำแหน่งที่ต้องการแต้มสาร จากนั้นใช้หลอดคะปิลารีจุ่มลงไปบนสารละลายที่ต้องการทดสอบ แล้วแต้มสารนั้นบนแผ่น TLC ที่ระดับเริ่มต้นที่ใช้ดินสอขีดไว้ ให้เป็นจุดวงกลมเล็ก ๆ เส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 2 มิลลิเมตร และแต่ละจุดห่างกันไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร หลังจากจุดสารที่แต้มแห้งสนิทแล้ว จึงนำไป develop ในขั้นต่อไป

ค. การ develop นำแผ่น TLC ที่แต้มสารเรียบร้อยแล้ว จุ่มในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสม และภายในภาชนะนั้นต้องอิมมัวด้วยไอของตัวทำละลายเรียบร้อยแล้ว ทั้งนี้ระดับของจุดสารบน TLC ควรอยู่เหนือระดับสารละลายในภาชนะเล็กน้อย จากนั้นปิดฝาภาชนะแล้วปล่อยให้ตัวทำละลายซึมขึ้นมาจนถึงระดับสูงสุดที่ใช้ดินสอขีดไว้ แล้วจึงนำแผ่น TLC ออกจากภาชนะและปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแผ่น TLC แห้ง

ง. การตรวจหาคำแหน่งของสาร

- นำแผ่น TLC ไปส่องกับแสง UV เพื่อวิเคราะห์การดูดกลืนแสง UV ของสาร
- ในกรณีที่สารไม่สามารถดูดกลืนแสง UV ให้นำแผ่น TLC ไปจุ่มลงใน anisaldehyde ใน conc. H_2SO_4 แล้วเป่าด้วยไดร์ให้แห้ง ตำแหน่งที่มีสารจะปรากฏให้เห็น

2.5.3 Preparative thin layer chromatography (PTLC)

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารโดยอาศัยหลักการที่ว่าสารต่างชนิดกันจะเคลื่อนที่ในวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวทำละลายได้ไม่เท่ากัน วิธีการคล้ายกับเทคนิค TLC ข้อดีของวิธีการแยกนี้คือ ลดระยะเวลาในการทำโครมาโทกราฟี ข้อเสียคือ ใช้สารปริมาณมากและสูญเสียสารในขณะทำการแยก

ก. การเตรียมวัฏภาคนิ่ง นำกระจกไปเคลือบด้วยซิลิกาเจลหนาประมาณ 1.0 มิลลิเมตร จากนั้นรอให้ซิลิกาเจลที่เคลือบนั้นแห้ง

ข. การเตรียมภาชนะสำหรับ develop ใช้ขวดแก้วทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าพร้อมฝาปิดที่สะอาดและมีขนาดพอเหมาะที่จะใส่แผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล รินตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไปให้สูงจากก้นภาชนะประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะเพื่อให้ภายในภาชนะอิมมัวด้วยไอของตัวทำละลาย

ค. การแต้มสาร นำแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลมาขีดเส้นด้วยดินสอ เพื่อกำหนดขอบด้านข้างทั้งซ้ายและขวาให้ห่างจากขอบประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นใช้หลอดหยดสารจุดสารที่ต้องการแยกโดยหลอดหยดสารนั้นหุ้มด้วยสำลีที่ปลาย แล้วปล่อยให้สารนั้นบนแผ่นกระจกที่

เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลที่ระดับเริ่มต้นสูงจากขอบล่างประมาณ 2 เซนติเมตร ปล่อยให้สารแล้วลากเป็นเส้นตรงจากขอบด้านซ้ายไปด้านขวาหรือตามความถนัด หลังจากสารที่แต้มแห้งสนิทแล้ว จึงนำไป develop ในขั้นต่อไป

ง. การ develop นำแผ่นกระจกที่เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลที่แต้มสารเรียบร้อยแล้ว กลุ่มในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสม และภายในภาชนะนั้นต้องอิมมิดด้วยไอของตัวทำละลายเรียบร้อยแล้ว ทั้งนี้ระดับของสารบนแผ่นกระจกที่เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลควรอยู่เหนือระดับสารละลายในภาชนะเล็กน้อย จากนั้นปิดฝาภาชนะแล้วปล่อยให้ตัวทำละลายซึมขึ้นมาจนถึงระดับสูงสุดห่างจากขอบบนประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วจึงนำแผ่นกระจกที่เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลออกจากภาชนะและปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนซิลิกาเจลที่เคลือบบนกระจกแห้ง

จ. การตรวจหาตำแหน่งของสาร นำแผ่นกระจกที่เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลไปส่องกับสาร UV จากนั้นลากเส้นขอบของแถบสารที่แยกด้วยดินสอ แล้วขีดแถบสารนั้นลงในขวดรูปชมพู่

ฉ. การสกัดสารออกจากซิลิกาเจล นำแถบสารที่ขีดออกมาละลายในไดคลอโรมีเทน แล้วนำไป stir 10 นาที จากนั้นนำไปกรองแยกซิลิกาเจลออก จะได้สารที่ต้องการแล้วนำสารที่ได้นั้นไประเหยตัวทำละลายออก

2.5.4 โครมาโทรอน (Chromatotron[®])

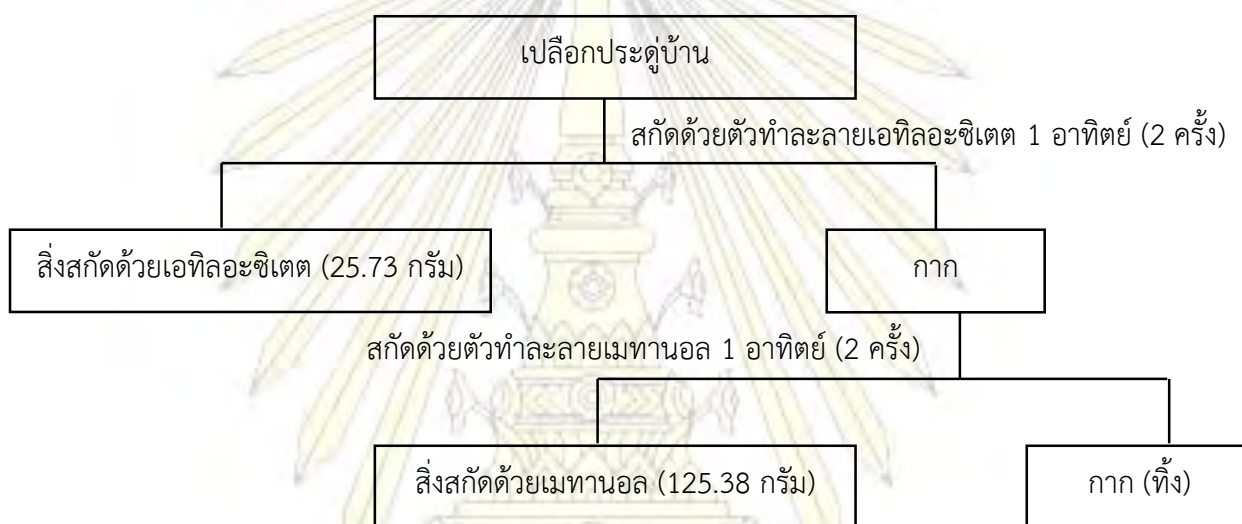
เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารโดยอาศัยแรงเหวี่ยง (centrifugal force) ซึ่งจะมีหลักการทำงานคือ นำสารละลายของสารที่ต้องการแยกหยดลงไปบนกลางแผ่นแก้วทรงกลม ที่เคลื่อนด้วยซิลิกาเจลหนาประมาณ 1.0 มิลลิเมตร ไซตัวทำละลายที่บรรจุอยู่ในกรวยแยก แล้วจึงเปิดเครื่อง โดยแผ่นแก้วทรงกลมจะเกิดการหมุน สารจะเคลื่อนที่จากกึ่งกลางแผ่นพร้อมกับเกิดการแยกเป็นแถบสารขึ้น ซึ่งจะมองเห็นได้โดยนำ UV Lamp มาส่องบนแผ่นแก้วทรงกลม แล้วทำการเก็บแฟรกชันตามแถบสารที่แยกได้ ดังนั้นข้อดีสำหรับเทคนิคนี้คือ ลดระยะเวลาในการทำโครมาโทกราฟี กล่าวคือใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที เนื่องจากแรงจากการหมุนเหวี่ยงจะช่วยให้เกิดการแยกได้ดีและเร็วขึ้น เมื่อเทียบกับเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี และนอกจากนี้ยังสามารถตรวจหาตำแหน่งของสารที่แยกได้ทันทีโดยใช้ UV Lamp ทำให้ง่ายต่อการเก็บแฟรกชัน

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.6 การเตรียมวัตถุดิบและการสกัด

2.6.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำเปลือกประตูบ้านที่ตากแห้ง (3.4 กิโลกรัม) นำมาบดให้ได้ผงละเอียด จากนั้นสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต ได้สิ่งสกัดเอทิลอะซิเตต มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม นำกากที่เหลือมาสกัดต่อด้วยเมทานอลอีกครั้ง ได้สิ่งสกัดเมทานอล ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีแดงอิฐ ตามลำดับ ดังแสดงในแผนภาพที่ 2.6.1



แผนภาพที่ 2.6.1 ขั้นตอนการสกัดเปลือกต้นประตูบ้าน

2.6.2 ขั้นตอนการแยกสารประกอบ

1. นำสิ่งสกัดเปลือกประตูบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporation) ได้สิ่งสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตหนัก 25.73 กรัม

2. นำสิ่งสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจล (silica gel column chromatography) ชะด้วยตัวทำละลายผสม 20% ไดคลอโรมีเทน-เฮกเซน จนถึง 100% ไดคลอโรมีเทน, 20% เอทิลอะซิเตต-ไดคลอโรมีเทน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต และ 50% เมทานอล-เอทิลอะซิเตต จนถึง 100% เมทานอล ตามลำดับ โดยเก็บสารละลายจากคอลัมน์ได้สารสกัดทั้งหมด 6 แฟรงชัน (A-F)

3. นำสารแต่ละแฟรกชัน (A-F) มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporation)

4. นำสารสกัดแต่ละแฟรกชันมาตรวจสอบด้วย TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายผสมของ 20% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน และ 40% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

5. นำแฟรกชัน A ไปตกผลึกด้วยตัวทำละลาย 20% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน แล้วแยกตะกอนออก พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 1

6. นำแฟรกชัน B ไปตกผลึกโดยนำไปละลายใน 30% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน แล้วแยกตะกอนออก พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 2

7. นำแฟรกชัน C มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจล ชะด้วยตัวทำละลายผสม 10% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต โดยเก็บสารละลายจากคอลัมน์ได้สารสกัดทั้งหมด 4 แฟรกชัน (C_1 - C_4) จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก นำสารละลายแต่ละแฟรกชันมาตรวจสอบด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายผสมของ 20% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าแฟรกชัน C_2 และ C_4 น่าจะมีสารที่น่าสนใจ

8. นำแฟรกชัน C_2 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Sephadex LH-20 ชะด้วยตัวทำละลาย 50% ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 7

9. นำแฟรกชัน C_4 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Sephadex LH-20 ชะด้วยตัวทำละลาย 50% ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 8

10. นำแฟรกชัน D มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจล ชะด้วยตัวทำละลายผสม 10% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต โดยเก็บสารละลายจากคอลัมน์ได้สารสกัดทั้งหมด 4 แฟรกชัน (D_1 - D_4) จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก นำสารละลายแต่ละแฟรกชันมาตรวจสอบด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายผสมของ 40% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าแฟรกชัน D_1 , D_2 และ D_3 น่าจะมีสารที่น่าสนใจ

11. นำแฟรกชัน D_1 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคโครมาโทรอน โดยชะด้วยตัวทำละลาย 20% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 2 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 5 และ 6

12. นำแฟรกชัน D_2 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคโครมาโทรอน โดยชะด้วยตัวทำละลาย 20% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 9

13. นำแฟรกชัน D_3 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Sephadex LH-20 ชะด้วยตัวทำละลาย 50% ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 1 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 10

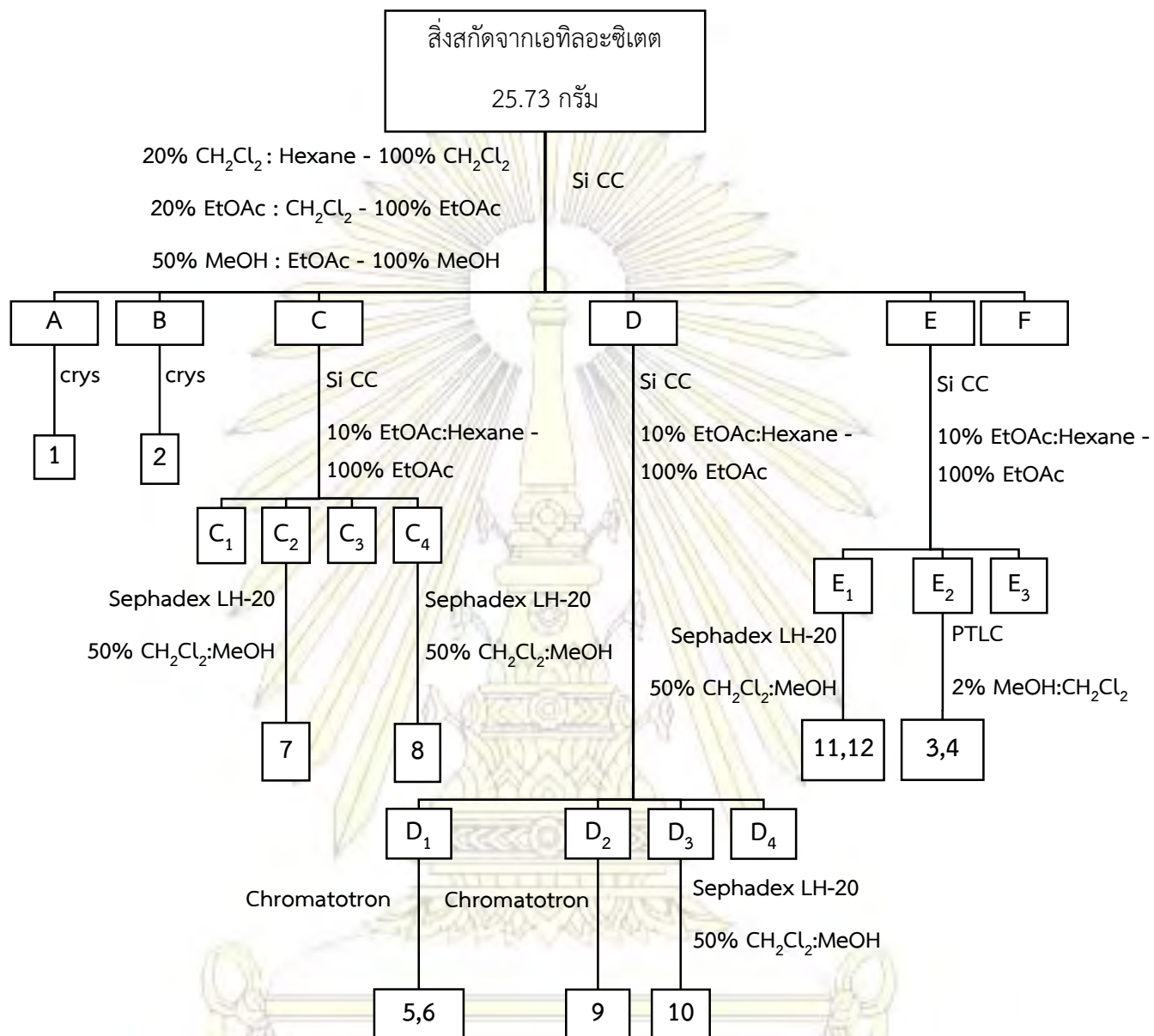
14. นำแฟรกชัน E มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจล ชะด้วยตัวทำละลายผสม 10% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จนถึง 100% เอทิลอะซิเตต โดยเก็บสารละลายจากคอลัมน์ได้สารสกัดทั้งหมด 3 แฟรกชัน (E_1 - E_3) จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก นำสารละลายแต่ละแฟรกชันมาตรวจสอบด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายผสมของ 40% เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าแฟรกชัน E_1 และ E_2 น่าจะมีสารที่น่าสนใจ

15. นำแฟรกชัน E_1 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Sephadex LH-20 ชะด้วยตัวทำละลาย 50% ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 2 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 11 และ 12

16. นำแฟรกชัน E_2 มาทำการแยกต่อด้วยเทคนิค PTLC (Preparative thin layer chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายผสมของ 2% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน พบว่าที่แฟรกชันนี้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์ 2 ชนิด จึงนำไปหาสูตรโครงสร้างของสารที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่แยกได้คือ สาร 3 และ 4

สำหรับขั้นตอนการแยกสารประกอบของเปลือกต้นประดู่บ้าน ได้แสดงไว้ดังแผนภาพที่ 2.6.2

17. นำสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส



แผนภาพที่ 2.6.2 ขั้นตอนการแยกสารประกอบของเปลือกต้นประดู่บ้าน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

2.7.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากยีสต์

1. เตรียมสารละลาย α -glucosidase (0.1 U/mL) และ substrate (1 mM *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ใน 0.1 M phosphate buffer, pH 6.9

2. จากนั้นเติมสารตัวอย่างที่จะทดสอบ (1 mg/mL ใน DMSO) ปริมาตร 10 μ L ใน 96 well plate แล้วเติมสารละลาย α -glucosidase ปริมาตร 40 μ L จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที

3. เติมสารละลาย substrate (PNPG) ปริมาตร 50 μ L แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 20 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 1 M Na₂CO₃ ปริมาตร 100 μ L

4. นำ 96 well plate ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 405 nm (Bio-Rad 3550 microplate reader)

5. นำผลที่ได้ไปคำนวณ % การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

$$\text{โดย} \quad \% \text{inhibition} = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่า absorbance ที่วัดได้โดยมีสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบผสม

A_{control} = ค่า absorbance ที่วัดได้โดยไม่มีสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบผสม

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC₅₀ (The half maximal inhibitory concentration) ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้น ซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC₅₀

2.7.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (maltase และ sucrase)

1. เตรียมสารละลาย crude enzyme ได้จาก rat intestinal acetone powder ที่ใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์ maltase และ sucrase มีวิธีการเตรียมคือ นำ rat intestinal acetone powder (1 g) มาผสมให้เป็นเนื้อก้นกับสารละลาย 0.9% NaCl ปริมาตร 30 mL จากนั้นนำไปปั่น (centrifugation) ที่ 12,000 g \times 30 min นำส่วนใสที่สกัดได้ (aliquot) ไปใช้ในการทดสอบ

2. นำสารตัวอย่างที่จะทดสอบ (1 mg/mL ใน DMSO) ปริมาตร 10 μ L ลงใน 96 well plate นำไปบ่มกับสารละลาย crude enzyme ที่สกัดได้ (maltase, 20 μ L; sucrase, 20 μ L, ตามลำดับ) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที

3. เติมสารละลาย substrate (maltose: 0.58 mM, 20 μ L; sucrose: 20 mM, 20 μ L, ตามลำดับ) ใน 0.1 M phosphate buffer (pH 6.9) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 40 นาที

4. จากนั้นเติมสารละลาย glucose assay kit (SU-GLLQ2, Human) ปริมาตร 80 μ L

5. นำ 96 well plate ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 500 nm (Bio-Rad 3550 microplate reader)

6. นำผลที่ได้ไปคำนวณ % การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

โดย
$$\% \text{inhibition} = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่า absorbance ที่วัดได้โดยมีสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบผสม

A_{control} = ค่า absorbance ที่วัดได้โดยไม่มีสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบผสม

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration) ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้น ซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50}

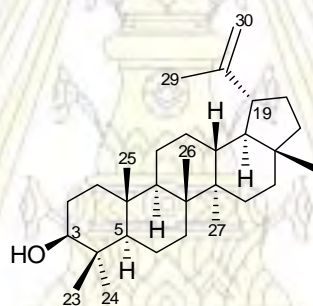
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างและผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้

จากการทดลองพบว่า ในการสกัดสารจากแฟรงก์ชัน A-F ของสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตตจากเปลือกต้นประดู่บ้าน พบว่าสามารถแยกสารได้ 12 ชนิด โดยได้มีการพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แยกได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (^1H -NMR และ ^{13}C -NMR) ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลกับรายงานที่ผ่านมาก่อนหน้านี้

3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 1



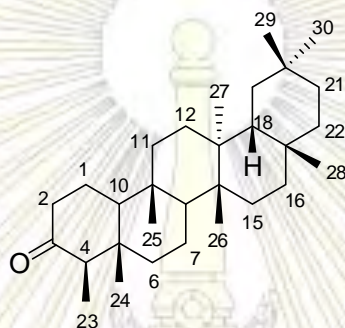
รูปที่ 3.1 โครงสร้างของสาร 1

ตารางที่ 3.1 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม ^1H -NMR ของสาร 1

ตำแหน่งของโปรตอน	สาร 1 (CDCl_3)		lupeol ¹² (CDCl_3)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
3	3.16 (s)	-	3.18 (dd)	-
5	0.66 (d)	9.1	0.69 (t)	-
19	2.35 (d)	9.1	2.38 (dt)	-
23	0.94 (s)	-	0.76 (s)	-
24	0.73 (s)	-	0.78 (s)	-
25	0.80 (s)	-	0.82 (s)	-
26	1.00 (s)	-	0.94 (s)	-
27	0.92 (s)	-	0.96 (s)	-
29	1.65 (s)	-	1.68 (s)	-
30	4.55 (s), 4.65 (s)	-	4.57 (d), 4.55 (d)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 1 กับ lupeol พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 1 คือ lupeol

3.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 2



รูปที่ 3.2 โครงสร้างของสาร 2

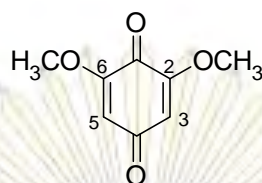
ตารางที่ 3.2 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 2

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 2 (CDCl_3)		canophyllol ¹³ (CDCl_3)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-23	0.88 (d)	6.4	0.87 (d)	7.8
H-4	2.39 (dd)	13.6, 5.2	2.40 (dd)	14, 5.2
H-1a	1.93-2.00 (m)	-	1.96 (m)	-
H-2b	2.22-2.32 (m)	-	2.28 (m)	-
CH_3 -24	0.72 (s)	-	0.74 (s)	-
CH_3 -26	1.00 (s)	-	1.00 (s)	-
CH_3 -27	1.03 (s)	-	1.01 (s)	-
CH_3 -28	1.18 (s)	-	1.18 (s)	-
CH_3 -29	0.87 (s)	-	1.05 (s)	-
CH_3 -30	0.95 (s)	-	0.95 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 2 กับ canophyllol พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 2 คือ canophyllol

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 3



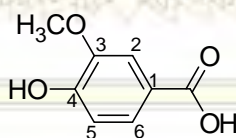
รูปที่ 3.3 โครงสร้างของสาร 3

ตารางที่ 3.3 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 3

ตำแหน่งของโปรตอน	สาร 3 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		2,6-dimethoxy- <i>p</i> -benzoquinone ¹⁴ ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
2-OCH ₃ , 6-OCH ₃	3.81 (s)	-	3.90 (s)	-
H-3, H-5	5.89 (s)	-	5.80 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 3 กับ 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 3 คือ 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone

3.4 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 4



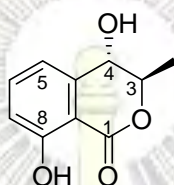
รูปที่ 3.4 โครงสร้างของสาร 4

ตารางที่ 3.4 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 4

ตำแหน่งของโปรตอน	สาร 4 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		vanillic acid ¹⁵ (CD_3OD)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-2	7.56 (d)	2.0	7.56 (d)	1.8
H-5	6.91 (d)	8.4	6.77 (d)	8.2
H-6	7.59 (dd)	8.4, 2.0	7.50 (dd)	8.2, 1.8
OCH ₃	3.91 (s)	-	3.88 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 4 กับ vanillic acid พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 4 คือ vanillic acid

3.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 5



รูปที่ 3.5 โครงสร้างของสาร 5

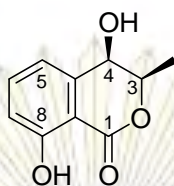
ตารางที่ 3.5 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 5

ตำแหน่งของโปรตอน	สาร 5 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		<i>trans</i> -4-hydroxymellein ¹⁶ (CDCl_3)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า <i>J</i> (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า <i>J</i> (Hz)
3	4.61 (dq)	6.4, 1.6	4.58 (dq)	7.0, 4.5
4	4.68 (br d)	6.4, 6.0	4.60 (bs)	-
5	7.13 (d)	7.9	7.00 (d)	8.5
6	7.06 (t)	7.9	7.52 (t)	8.5
7	6.93 (d)	7.9	6.97 (d)	8.5
OH-8	11.06 (s)	-	10.97 (s)	-
CH_3 -3	1.49 (d)	6.4	1.49 (d)	6.5

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 5 กับ *trans*-4-hydroxymellein พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 5 คือ *trans*-4-hydroxymellein

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 6



รูปที่ 3.6 โครงสร้างของสาร 6

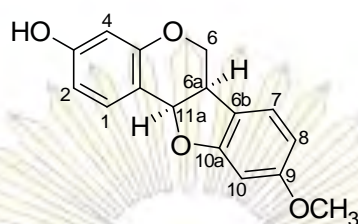
ตารางที่ 3.6 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 6

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 6 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		<i>cis</i> -4-hydroxymellein ¹⁶ (CDCl_3)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
3	4.87 (dq)	6.8, 2.0	4.67 (dq)	6.5, 1.5
4	4.66 (br s)	-	4.55 (bs)	-
5	6.95 (d)	7.8	6.90 (d)	7.0
6	7.57 (t)	7.8	7.47 (t)	7.0
7	7.00 (d)	7.8	7.01 (d)	7.0
OH-8	11.12 (s)	-	11.01 (s)	-
CH_3 -3	1.51 (d)	6.8	1.56 (d)	6.5

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 6 กับ *cis*-4-hydroxymellein พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 6 คือ *cis*-4-hydroxymellein

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.7 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 7



รูปที่ 3.7 โครงสร้างของสาร 7

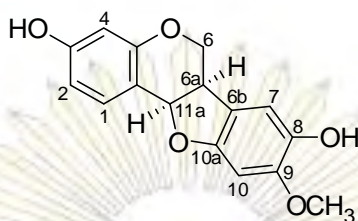
ตารางที่ 3.7 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 7

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 7 (CDCl ₃)		(6 α R,11 α R)-medicarpin ¹⁷ (CDCl ₃)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-1	7.33 (d)	8.4	7.33 (d)	8.4
H-2	6.52 (dd)	8.4, 2.4	6.52 (dd)	8.4, 2.4
H-4	6.39 (d)	2.4	6.39 (d)	2.4
H-7	7.11 (d)	9.0	7.11 (d)	9.0
H-8, H-10	6.47-6.42 (m)	-	6.47-6.42 (m)	-
H-6a	3.54-3.46 (m)	-	3.54-3.46 (m)	-
H-6 α	4.21 (dd)	10.8, 4.8	4.21 (dd)	10.8, 4.8
H-6 β	3.59 (t)	10.8	3.59 (t)	10.8
H-11a	5.48 (d)	6.6	5.48 (d)	6.6
OCH ₃ -9	3.75 (s)	-	3.75 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 7 กับ (6 α R,11 α R)-medicarpin พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 7 คือ (6 α R,11 α R)-medicarpin

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.8 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 8



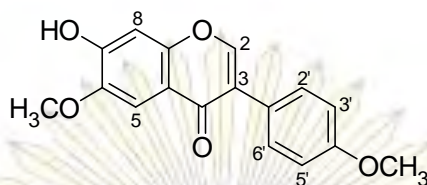
รูปที่ 3.8 โครงสร้างของสาร 8

ตารางที่ 3.8 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 8

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 8 (CDCl_3)		(6aR, 11aR)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan ¹⁸ (CDCl_3)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-1	7.36 (d)	8.4	7.37 (d)	8.4
H-2	6.55 (dd)	8.4, 2.4	6.55 (dd)	8.1, 2.5
H-4	6.42 (d)	2.0	6.41 (d)	2.5
H-7	6.83 (s)	-	6.84 (s)	-
H-10	6.47 (s)	-	6.48 (s)	-
H-6a	3.50 (ddd)	11.4, 6.0, 5.6	3.50 (ddd)	10.4, 6.5, 4.9
H-6ax	3.63 (dd)	10.8, 10.8	3.62 (dd)	10.9, 10.4
H-6eq	4.23 (dd)	11.0, 5.2	4.24 (dd)	10.9, 4.9
H-11a	5.45 (d)	8.4	5.45 (d)	6.5
OCH_3	3.84 (s)	-	3.84 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 8 กับ (6aR, 11aR)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่าสาร 8 คือ (6aR, 11aR)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan

3.9 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 9



รูปที่ 3.9 โครงสร้างของสาร 9

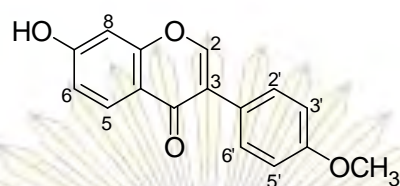
ตารางที่ 3.9 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 9

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 9 (CDCl_3)		afromosin ¹⁹ (DMSO-d_6)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-2	7.93 (s)	-	8.32 (s)	-
H-5	7.66 (s)	-	7.42 (s)	-
H-8	5.99 (s)	-	6.94 (s)	-
H-2', H-6'	7.50 (d)	8.4	7.50 (d)	8.8
H-3', H-5'	6.97 (d)	8.4	6.99 (d)	8.8
6-OCH ₃	4.02 (s)	-	3.87 (s)	-
4'-OCH ₃	3.84 (s)	-	3.78 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 9 กับ afromosin พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 9 คือ afromosin

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.10 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 10



รูปที่ 3.10 โครงสร้างของสาร 10

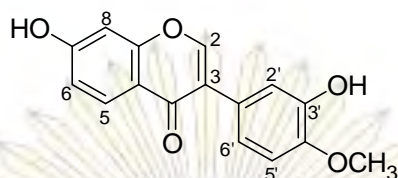
ตารางที่ 3.10 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 10

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 10 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		formononetin ²⁰ (DMSO- d_6)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-2	8.18 (s)	-	8.32 (s)	-
H-5	8.06 (d)	8.4	7.96 (d)	8.7
H-6	6.97 (dd)	8.8, 2.0	6.95 (dd)	8.7, 2.2
H-8	6.91 (d)	2.0	6.85 (d)	2.2
H-2', H-6'	7.56 (dd)	8.0, 1.6	7.48~7.51 (dd)	6.8, 1.9
H-3', H-5'	7.01 (dd)	8.0, 1.6	6.96~6.99 (dd)	6.8, 1.9
OCH_3	3.83 (s)	-	3.78 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 10 กับ formononetin พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 10 คือ formononetin

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.11 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 11



รูปที่ 3.11 โครงสร้างของสาร 11

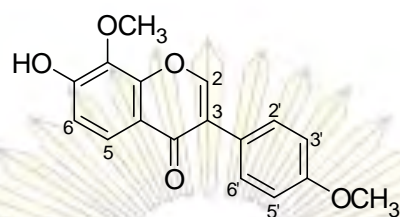
ตารางที่ 3.11 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 11

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 11 ((CD_3) $_2\text{CO}$)		clycosin ²¹ ((CD_3) $_2\text{CO}$)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
2	8.15 (s)	-	8.16 (s)	-
6	6.99 (dd)	8.3, 2.0	7.00 (dd)	8.8, 2.3
8	6.90 (d)	2.0	6.90 (d)	2.3
2'	7.16 (d)	1.8	7.16 (d)	2.1
5'	6.96 (d), 8.06 (d)	8.7, 8.2	6.98 (d), 8.06 (d)	8.8, 8.2
6'	7.06 (dd)	8.2, 1.8	7.07 (dd)	8.2, 2.1
OCH_3	3.87 (s)	-	3.90 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 11 กับ 3'-hydroxyformononetin (clycosin) พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 11 คือ 3'-hydroxyformononetin (clycosin)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.12 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร 12



รูปที่ 3.12 โครงสร้างของสาร 12

ตารางที่ 3.12 ค่า Chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 12

ตำแหน่ง ของโปรตอน	สาร 12 (CDCl_3)		8- <i>O</i> -methylretusin ²² (DMSO-d_6)	
	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)	Chemical shift (ppm)	ค่า J (Hz)
H-2	7.91 (s)	-	8.42 (s)	-
H-5	7.91 (d)	8.8	7.75 (d)	9.0
H-6	6.91 (d)	8.8	7.05 (d)	9.0
H-2',6'	7.43 (d)	8.6	7.53 (d)	8.8
H-3',5'	6.89 (d)	8.6	7.00 (d)	8.8
$\text{C}_8\text{-OCH}_3$	4.01 (s)	-	3.90 (s)	-
$\text{C}_4\text{-OCH}_3$	3.78 (s)	-	3.80 (s)	-

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลด้วยค่า chemical shift (ppm) จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสาร 12 กับ 8-*O*-methylretusin พบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปว่า สาร 12 คือ 8-*O*-methylretusin

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.13 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

จากการนำสารทั้งหมด (1-12) ที่แยกได้โดยวิธีทางโครมาโทกราฟี มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ พบว่าได้ผลตามตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 ค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ (1-12) และสารมาตรฐาน acarbose

Compound	IC ₅₀ (μM)		
	Baker's yeast	Maltase	Sucrase
1	37.2	>3,000	>3,000
2	>600	>3,000	>3,000
3	>600	>3,000	1,486
4	>600	>3,000	>3,000
5	>600	>3,000	>3,000
6	311	>3,000	414
7	288	>3,000	>3,000
8	119	152	177
9	148	>3,000	>3,000
10	>600	>3,000	>3,000
11	29.8	67.7	103
12	162	209	172
Acarbose	526	7.9	10.9

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากยีสต์ พบว่า สาร 1 และ 11 มีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดี โดยมีค่า IC₅₀ = 37.2 และ 29.8 μM ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า IC₅₀ = 526 μM และสาร 6-9 และ 12 มีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง โดยมีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 119-311 μM ส่วนสารอื่น ๆ นั้น ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากยีสต์ เนื่องจากมีค่า IC₅₀ > 600 μM

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (มอลเทส) พบว่า สาร 11 มีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง โดยมีค่า IC₅₀ = 67.7 μM เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า IC₅₀ = 7.9 μM และสาร 8 และ 12 มีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำ โดยมีค่า IC₅₀ = 152 และ 209 μM ตามลำดับ

ส่วนสารอื่น ๆ นั้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (มอลเทส) เนื่องจากมีค่า $IC_{50} > 3,000 \mu M$

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (ซูเครส) พบว่า สาร 8, 11 และ 12 มีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง มีค่า $IC_{50} = 177, 103$ และ $172 \mu M$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า $IC_{50} = 10.9 \mu M$ และสาร 3 และ 6 มีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำ มีค่า $IC_{50} = 1,486$ และ $414 \mu M$ ตามลำดับ ส่วนสารอื่น ๆ นั้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (ซูเครส) เนื่องจากมีค่า $IC_{50} > 3,000 \mu M$

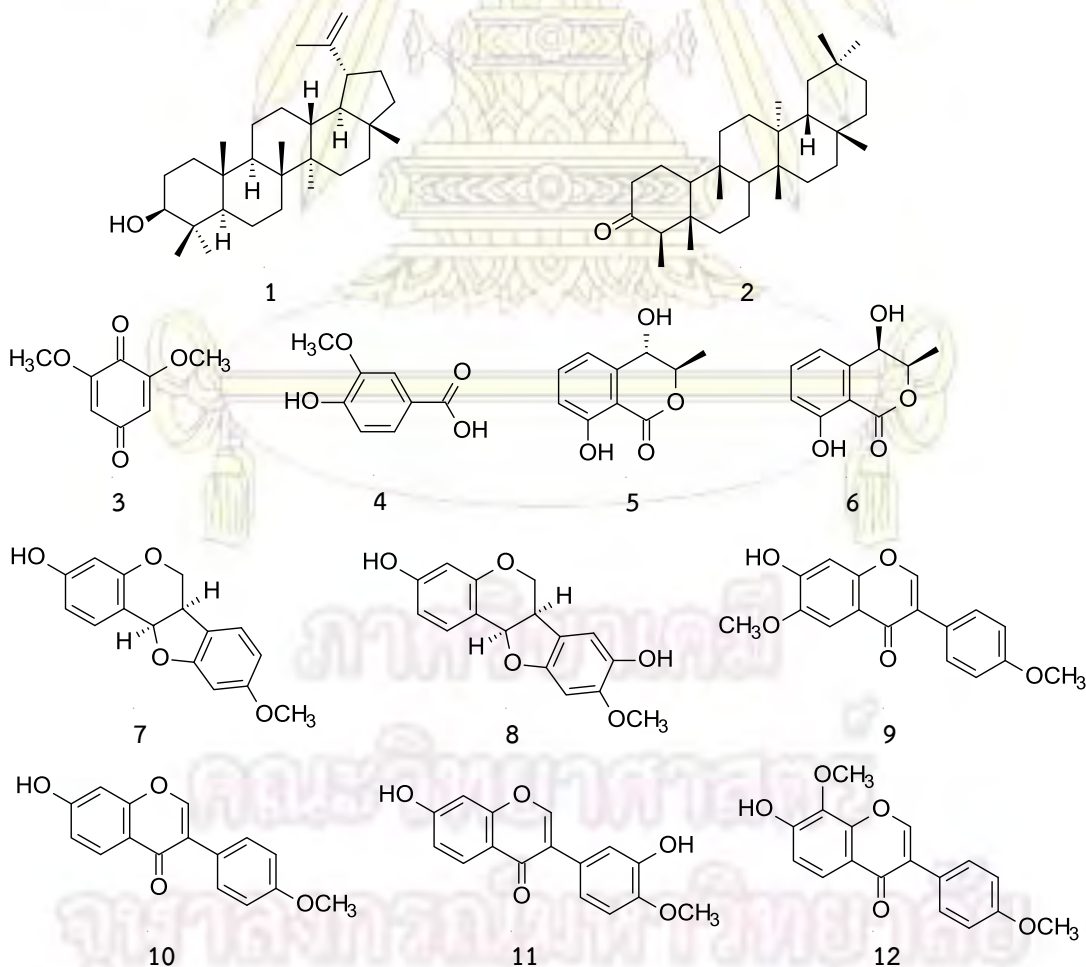
จากผลการทดลองพบว่าสาร 11 ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไอโซฟลาโวนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุดทั้งจากยีสต์และในลำไส้หนู (มอลเทส และซูเครส) เมื่อพิจารณาโครงสร้างเปรียบเทียบและฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (structure-activity relationship: SAR) ของสารอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกันกับสาร 11 ได้แก่สาร 9, 10 และ 12 ทำให้สรุปได้ว่า สารในกลุ่มไอโซฟลาโวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เมทอกซิลอยู่ตรงตำแหน่งที่ 3' และ 4' ตามลำดับ ส่งผลให้สารดังกล่าว (11) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ดีกว่าสารอื่น ๆ ทั้งในยีสต์และลำไส้หนู

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการนำสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตตของเปลือกต้นประดู่บ้านมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบว่าสามารถแยกสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ได้ 2 ชนิด คือ lupeol (1) และ canophyllol (2) สารประกอบควิโนน 1 ชนิด คือ 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (3) สารประกอบฟีนอลิก 3 ชนิด คือ vanillic acid (4), *trans*-4-hydroxymellein (5) และ *cis*-4-hydroxymellein (6) และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 6 ชนิด โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเทโรคาร์พิน 2 ชนิด ได้แก่ (6 α R,11 α R)-medicarpin (7) และ (6 α R, 11 α R)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) และกลุ่มไอโซฟลาโวน 4 ชนิด ได้แก่ afromosin (9), formononetin (10), glycosin (11) และ 8-*O*-methylretusin (12)



รูปที่ 4.1 แสดงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ 1-12

และจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของยีสต์พบว่าสาร **1** และ **11** มีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดี โดยมีค่า $IC_{50} = 37.2$ และ $29.8 \mu M$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า $IC_{50} = 526 \mu M$ และจากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในลำไส้หนู (มอลเทส และซูเครส) พบว่าสาร **11** มีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง โดยมีค่า $IC_{50} = 67.7$ และ $103 \mu M$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose ที่มีค่า $IC_{50} = 7.9$ และ $10.9 \mu M$ ตามลำดับ

ดังนั้นจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสพบว่าสาร **11** เป็นสารสกัดจากเปลือกต้นประดู่บ้านที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีที่สุด หากมีการนำสารที่ได้มาพัฒนาและศึกษาในเชิงลึกอาจจะสามารถนำไปใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวานได้ในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. ในสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตตมีสารอีกหลายชนิดที่ผู้วิจัยยังไม่ได้ทำการแยกองค์ประกอบ พิสูจน์ทราบโครงสร้างและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากเวลาจำกัด ดังนั้นควรแยกในส่วนนี้ต่อไป
2. ในการทดลองนี้ผู้วิจัยเลือกศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตตเพียงชนิดเดียว เพื่อให้งานวิจัยมีคุณภาพมากขึ้น และอาจมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสิ่งสกัด เช่น เมทานอล เป็นต้น
3. ในการทดลองนี้ผู้วิจัยเลือกศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเฉพาะส่วนเปลือก อาจมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนอื่นที่ยังต้องมีการศึกษาเพิ่ม เช่น ต้น ใบ และผล เป็นต้น
4. อาจนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปส หรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. WEBSITE OF PLANT GENETIC CONSERVATION PROJECT UNDER THE ROYAL INITIATIVE OF HER ROYAL HIGHNESS PRINCESS MAHA CHAKRI SIRINDHORN [online]. 2001 Available from: http://www.rspg.org/palace/chitralada/cld6-2_026.htm. (5 September 2015).
2. Khan, M. R.; Omoloso, A. D. Antibacterial Activity of *Pterocarpus indicus*. *Fitoterapia* **2003**, *74*, 603-605.
3. Kodithuwakku, K. I. U. A.; Buddhi, C. W.; Siripala, S.; Min-Ho, Y. *Pterocarpus santalinus* Linn. f. (Rath handun): a Review of Its Botany, Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **2011**, *54*, 495-500.
4. Sundarrao, K.; Burrows, I.; Kuduk, M.; Yi, Y. D.; Chung, M. H.; Suh, N. J.; Chang, I. M. Preliminary Screening of Antibacterial and Antitumor Activities of Papua New Guinean Native Medicinal Plants. *Int. J. Pharmacogn.* **1993**, *31*, 3-6.
5. Handa, S. S.; Rajinder, S.; Rakesh, M.; Satti, N. K.; Suri, K. A.; Suri, O. P. Pterocarposide, an Isoaurone C-Glucoside from *Pterocarpus marsupium*. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1579-1581.
6. Suri, K. A.; Satti, K. N.; Gupta, D. B.; Suri, P. O. 1-(2', 6'-Dihydroxyphenyl)- β -D-Glucopyranoside, a Novel C-Glycoside from *Pterocarpus marsupium*. *Indian J. Chem.* **2003**, *42*, 432-433.
7. Rakesh, M.; Rajinder, S.; Mundkinajeddu, D.; Handa, S. S.; Prem, P. Y.; Pushpesh, K. M. Constituents of *Pterocarpus marsupium*: an Ayurvedic Crude Drug. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 915-920.
8. Achyut, N. K.; Rajesh, K. G.; Geeta, W. Two Aurone Glycosides from Heartwood of *Pterocarpus santalinus*. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 3125-3129.
9. Ragasa, C. Y.; Luna, R. D.; Hofilena, J. G. Antimicrobial Terpenoids from *Pterocarpus indicus*. *Nat. Prod. Res.* **2005**, *19*, 305-309.
10. Masanori, M.; Hiromi, F.; Masaru, H.; Chavasiri, W.; Koichiro, K. Insect Antifeedants, Pterocarpans and Pterocarpol, in Heartwood of *Pterocarpus macrocarpus* Kruz. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2006**, *70*, 1864-1868.

11. Khem, R. J.; Hari, P. D.; Shoji, Y. Chemical Analysis of Heartwood of Bijayasal (*Pterocarpus marsupium* Roxb.). *NJST*. **2012**, *13*, 219-224.
12. Lutta, K. P.; Christine, B.; Teresa, A.A.; Cornelius, W.W. Antimicrobial Marine Natural Products from the Sponge, *Axinella infundibuliformis*. *Rec. Nat. Prod.* **2008**, *24*, 116-127.
13. Trinh, T. T.; Nguyen, H. C.; Tran, V. S. Triterpenes from *Celastrus hindsii* Benth. *J. Chem.* **2007**, *45*, 375-376.
14. Atsuyoshi, N.; Kin-ichi, H.; Tsuyoshi, U.; Hajime, S.; Toshihiko, O. 2,6-Dimethoxy-*p*-benzoquinone as an Antibacterial Substance in the Bark of *Phyllostachys heterocycla* var. *Pubescens*, a Species of Thick-Stemmed Bamboo. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 266-269.
15. Azizuddin; Makhmoor, T.; Choudhary, I. M. Radical Scavenging Potential of Compounds Isolation from *Vitex agnus-castus*. *Truk. J. Chem.* **2010**, *34*, 119-126.
16. Asha, N. K.; Chowdhury, R.; Hasan, M. C.; Rashid, A. M. Steroids and Polyketides from *Uvaria hamiltonii* stem bark. *Acta. Pharm.* **2004**, *54*, 57-63.
17. Rayanil, K. O.; Bunchornmaspan, P.; Tuntiwachwuttikul, P. A New Phenolic Compound with Anticancer Activity from the Wood of *Millettia leucantha*. *Arch. Pharm. Res.* **2011**, *34*, 881-886.
18. Barend, C. B.; Benzuidenhoudt, E.; Brandt, V.; Ferreira, D. Flavonoid Analogues from *Pterocarpus* Species. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 531-535.
19. Park, S. W.; Bae, J.; Kim, J. H.; Kim, G. M.; Lee, W.; Kang, H.; Baik, S.; Lim, M. K.; Lee, K. M.; Ahn, M. Anti-*Helicobacter pylori* Compound from *Maackia amurensis*. *Nat. Prod. Sci.* **2015**, *21*, 49-53
20. Chokchaisiri, R.; Suaisom, C.; Sriphota, S.; Chindaduang, A.; Chuprajob, T.; Suksamran, A. Bioactive Flavonoids of the Flowers of *Butea monosperma*. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 428-432.
21. Mitsugu, K.; Hiroshi, N.; Ushio, S. Formation of Chalcones and Isoflavones by Callus Culture of *Glycyrrhiza uralensis* with Different Production Patterns. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 3811-3816.

22. Shirataki, Y.; Matsuoka, S.; Komatsu, M.; Ohyama, M.; Tanaka, T.; Linuma, M.
Four isofavanones from Roots of *Sophora tetraptera*. *Phytochemistry* **1990**,
50, 695-701.

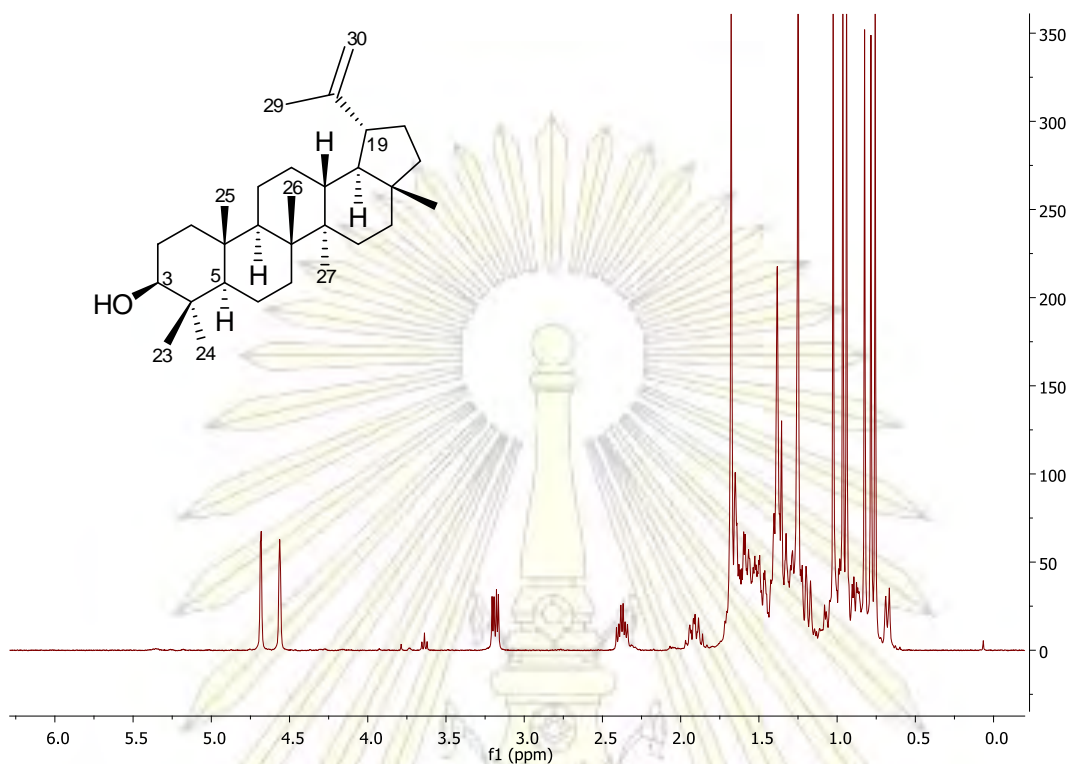


ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

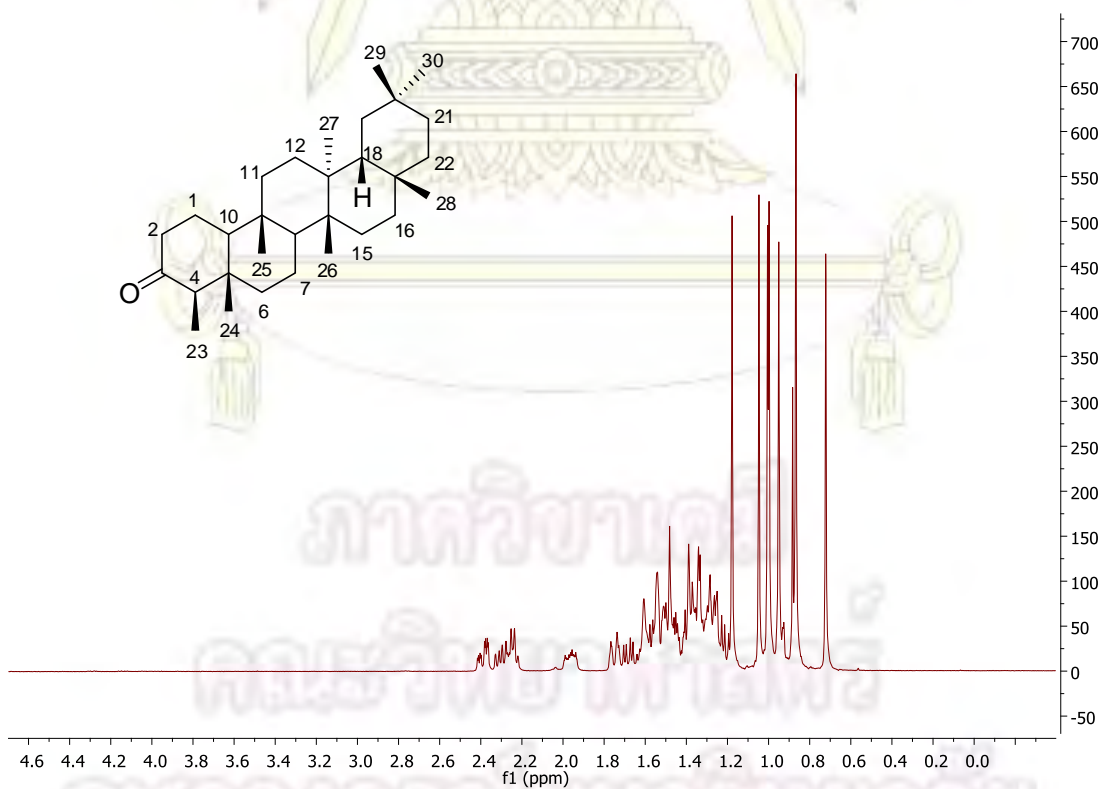


ภาคผนวก

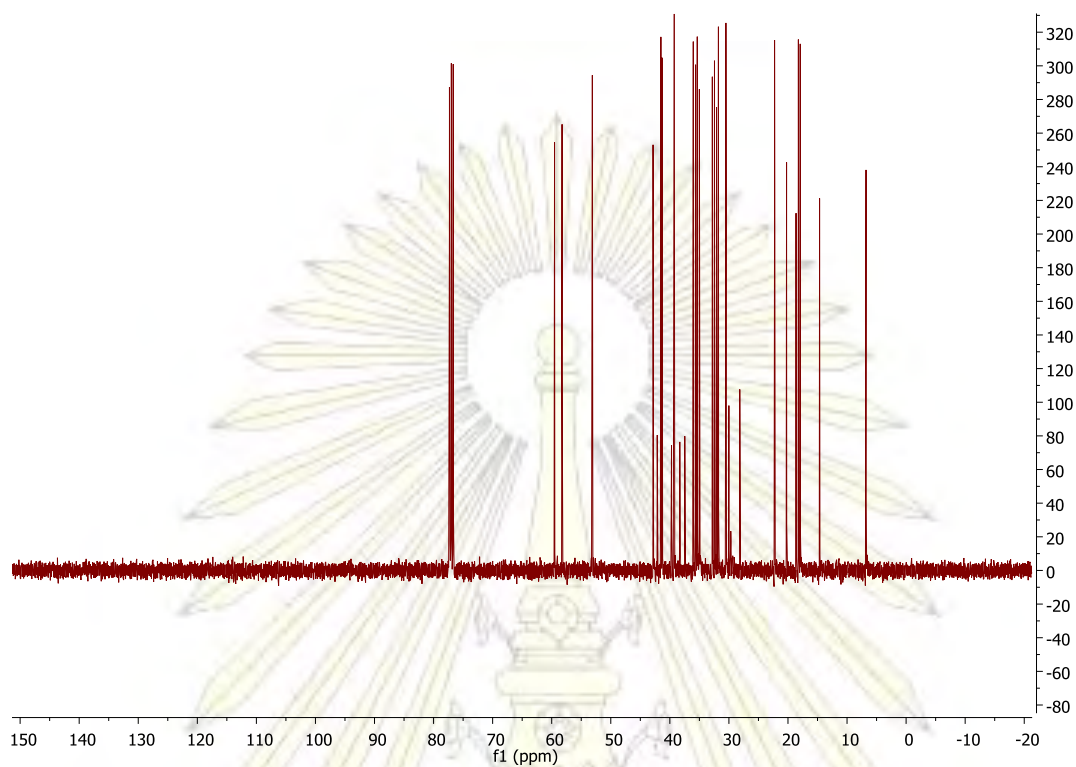
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



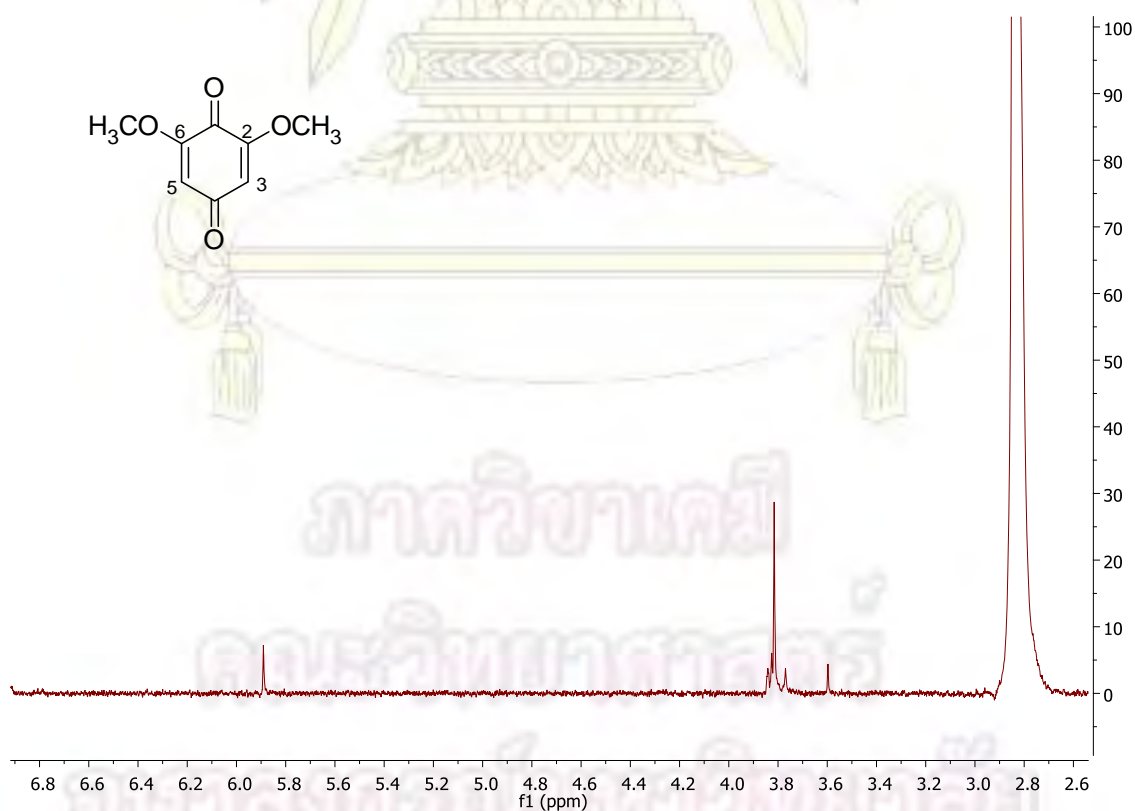
รูปที่ 1 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ lupeol (1) ใน CDCl_3



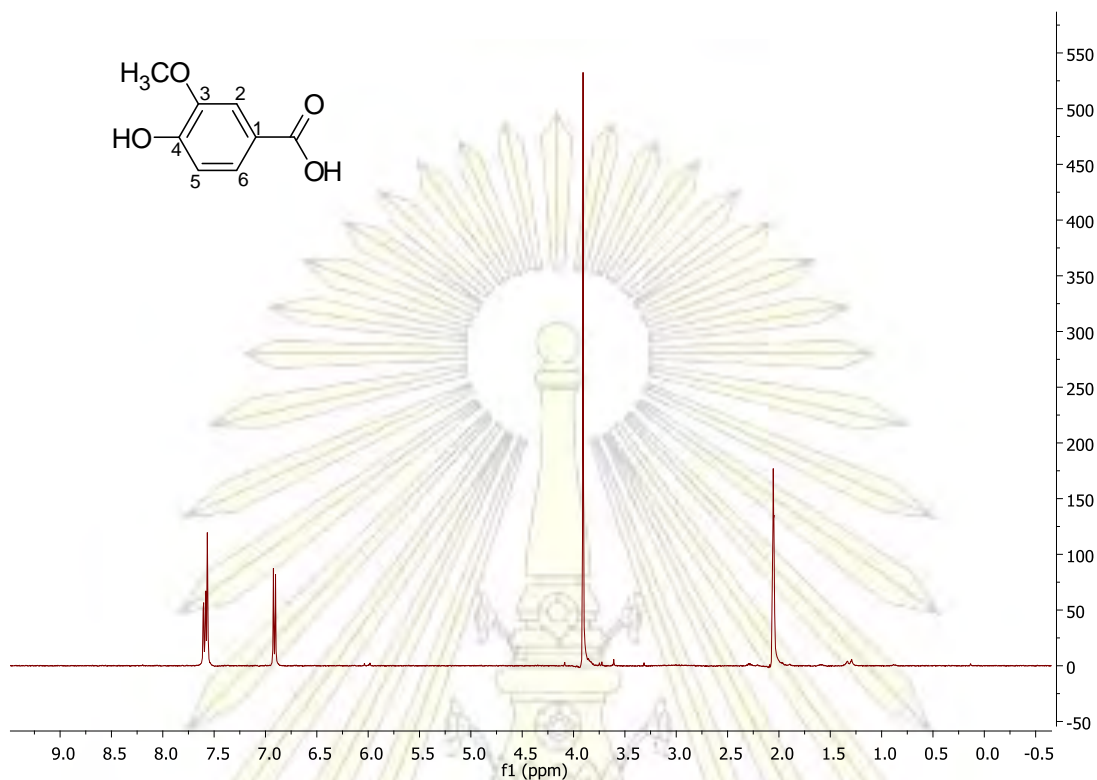
รูปที่ 2 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ canophyllol (2) ใน CDCl_3



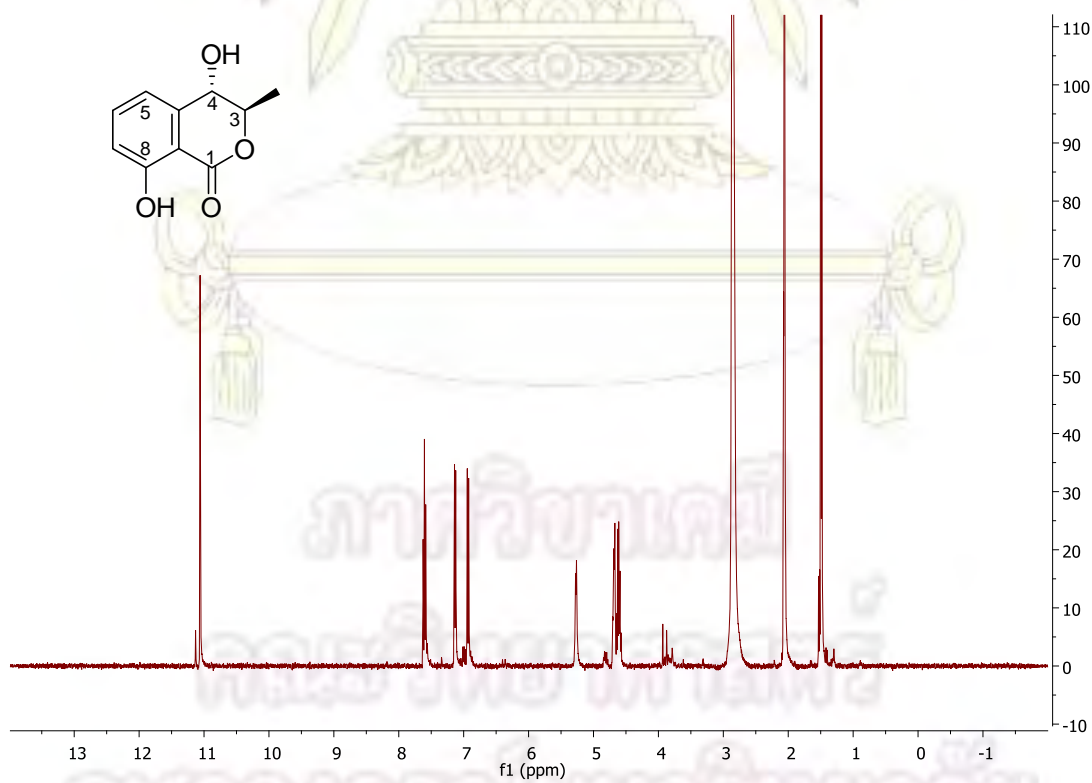
รูปที่ 3 สเปกตรัม ^{13}C -NMR ของ canophyllol (2) ใน CDCl_3



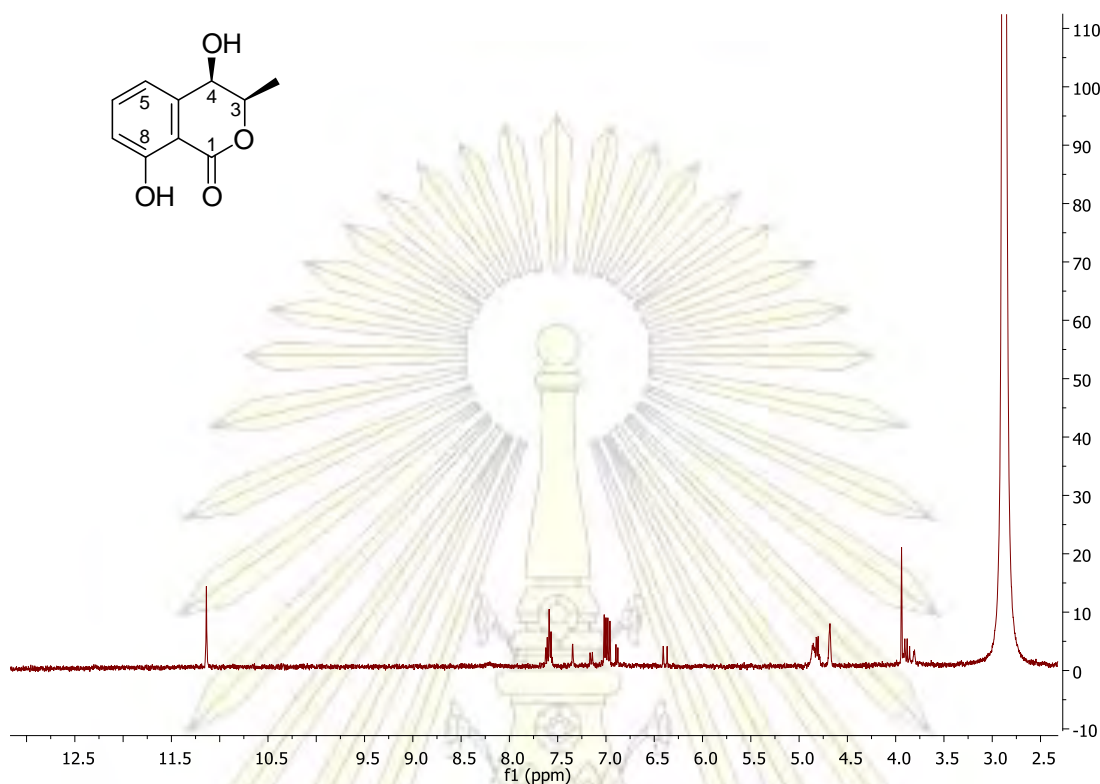
รูปที่ 4 สเปกตรัม ^1H -NMR ของ 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (3) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



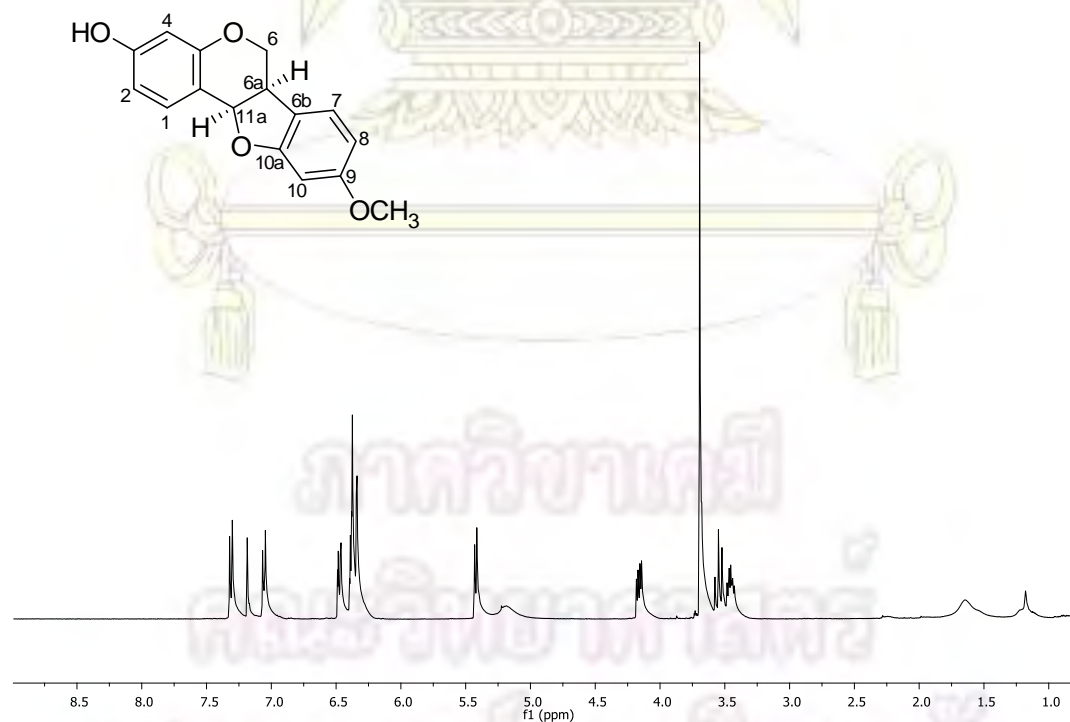
รูปที่ 5 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ vanillic acid (4) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



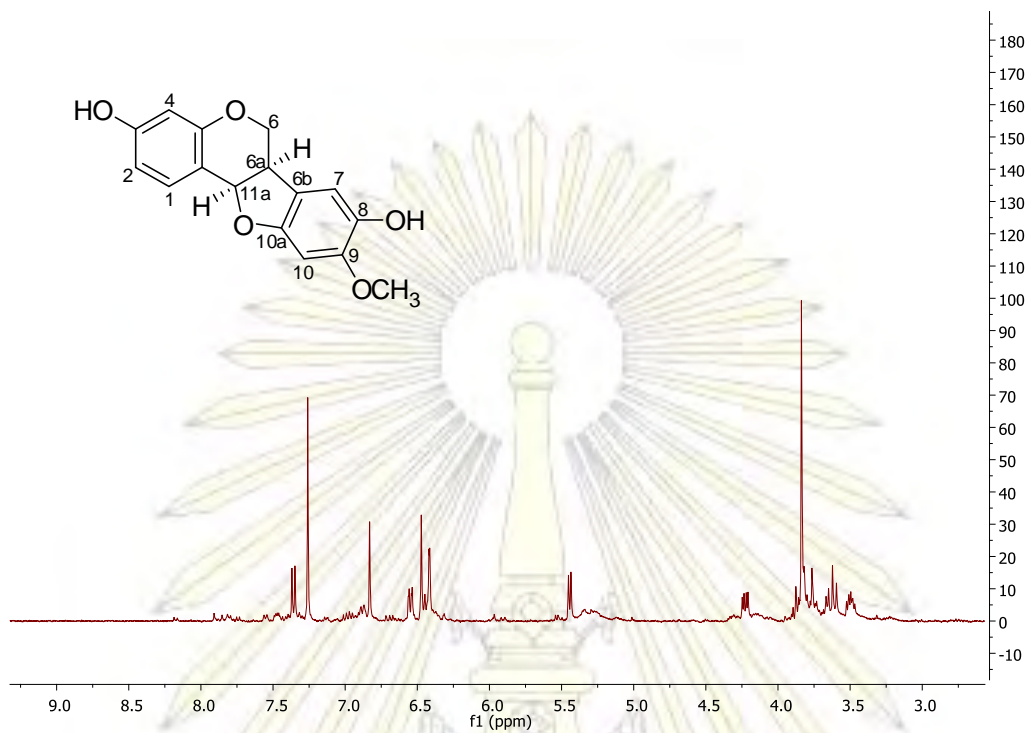
รูปที่ 6 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ trans-4-hydroxymellein (5) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



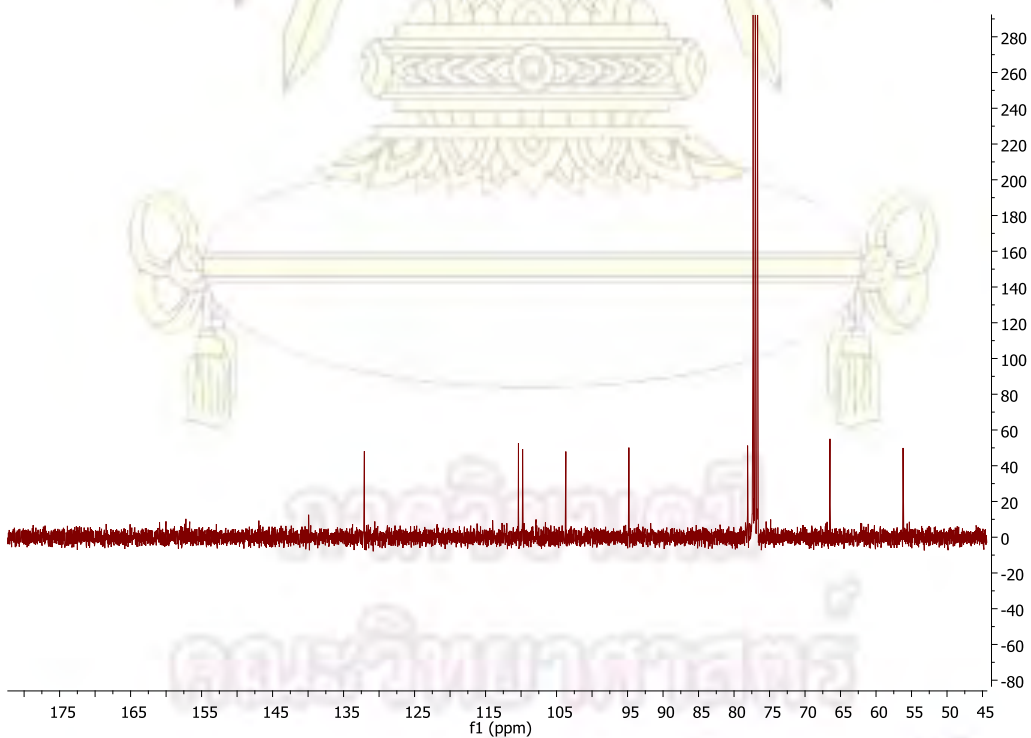
รูปที่ 7 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ *cis*-4-hydroxmellein (6) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



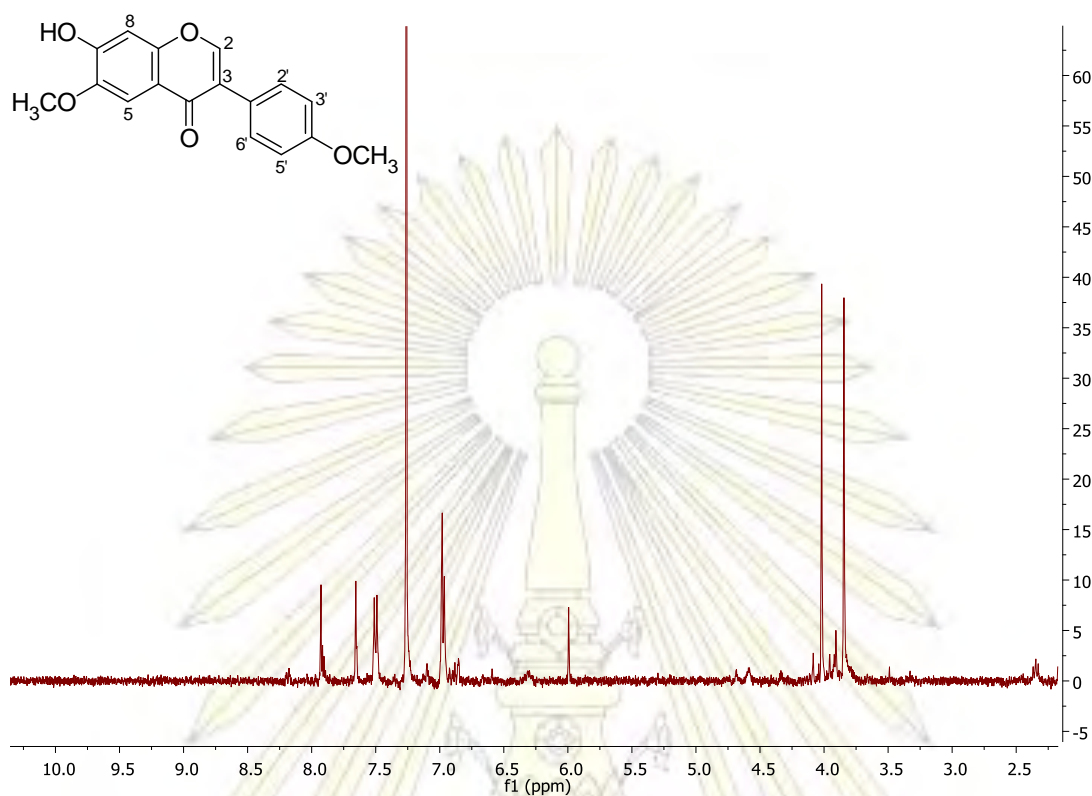
รูปที่ 8 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ $(6\alpha R, 11\alpha R)$ -medicarpin (7) ใน CDCl_3



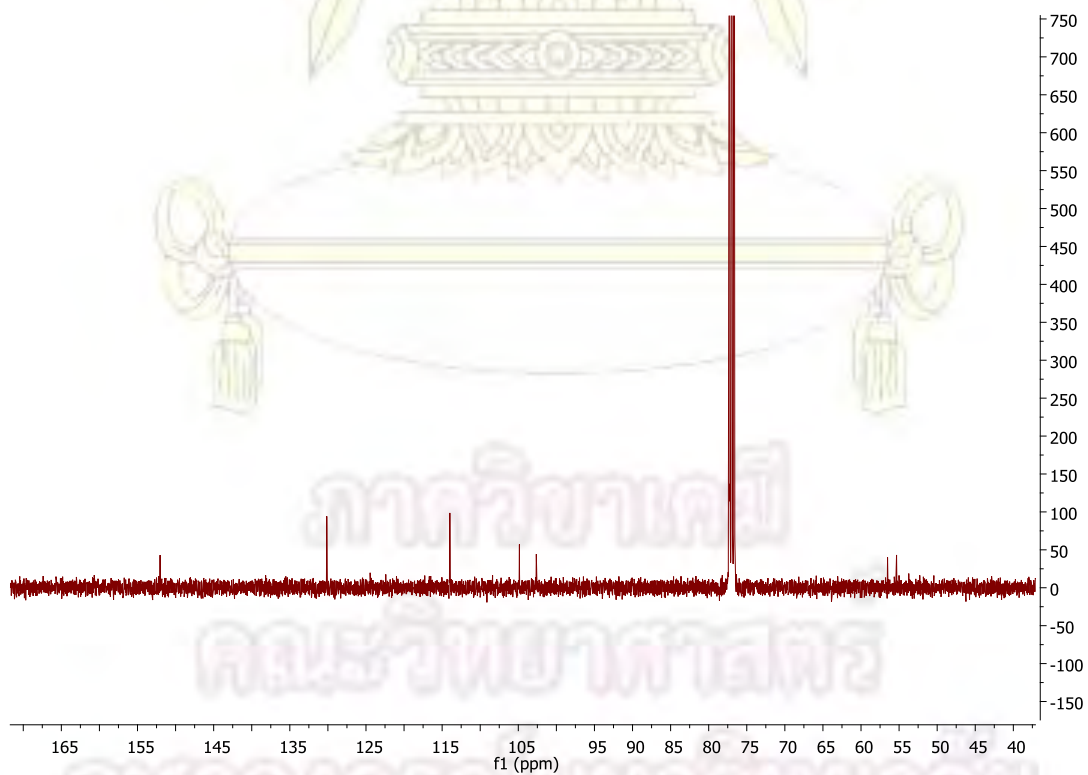
รูปที่ 9 สเปกตรัม ¹H-NMR ของ (6aR, 11aR)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) ใน CDCl₃



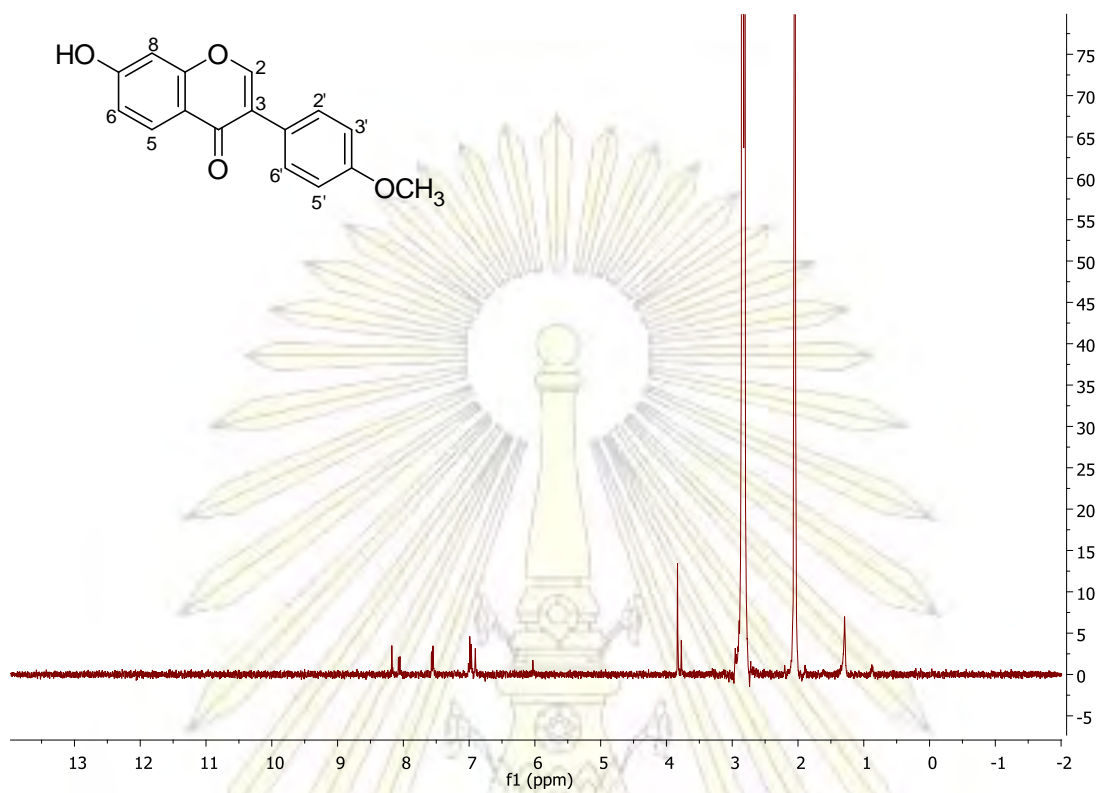
รูปที่ 10 สเปกตรัม ¹³C-NMR ของ (6aR, 11aR)-3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarpan (8) ใน CDCl₃



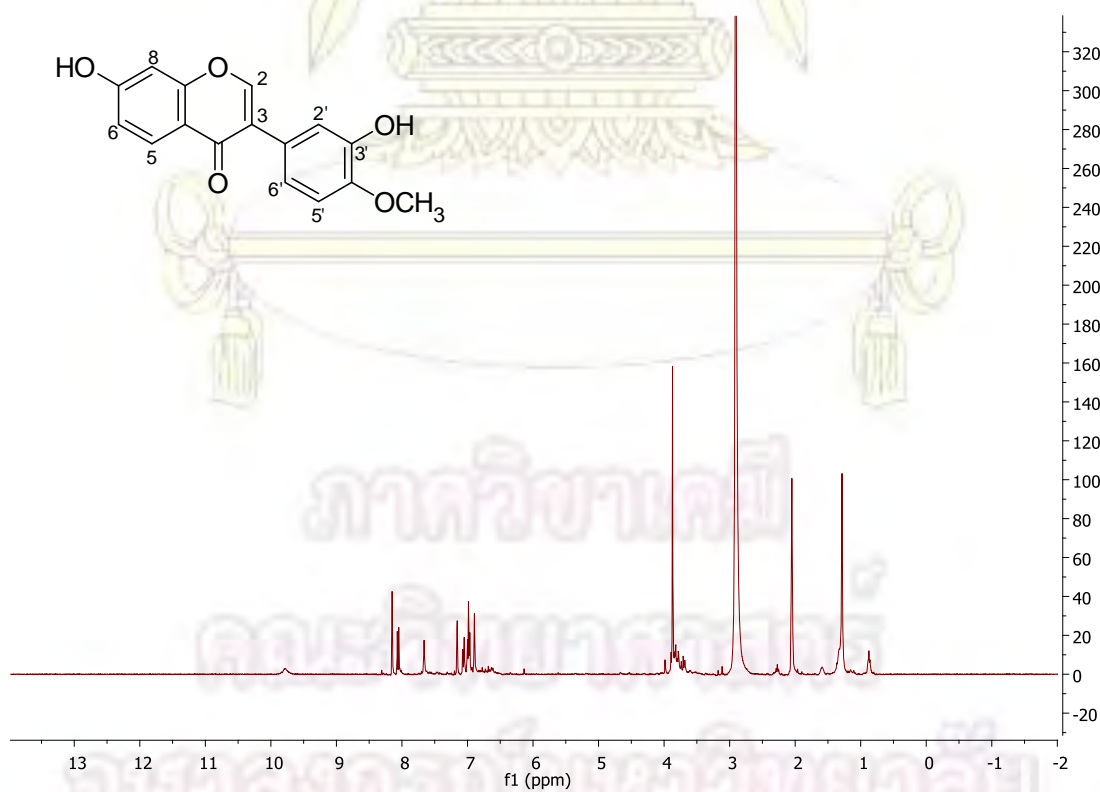
รูปที่ 11 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ afromosin (9) ใน CDCl_3



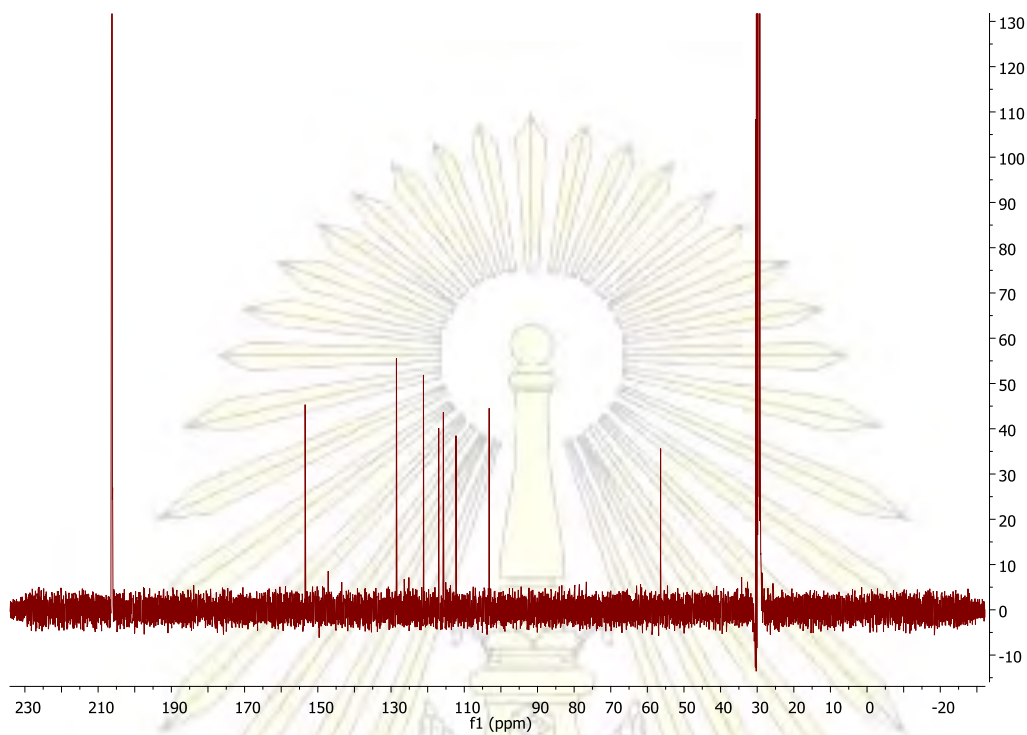
รูปที่ 12 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ afromosin (9) ใน CDCl_3



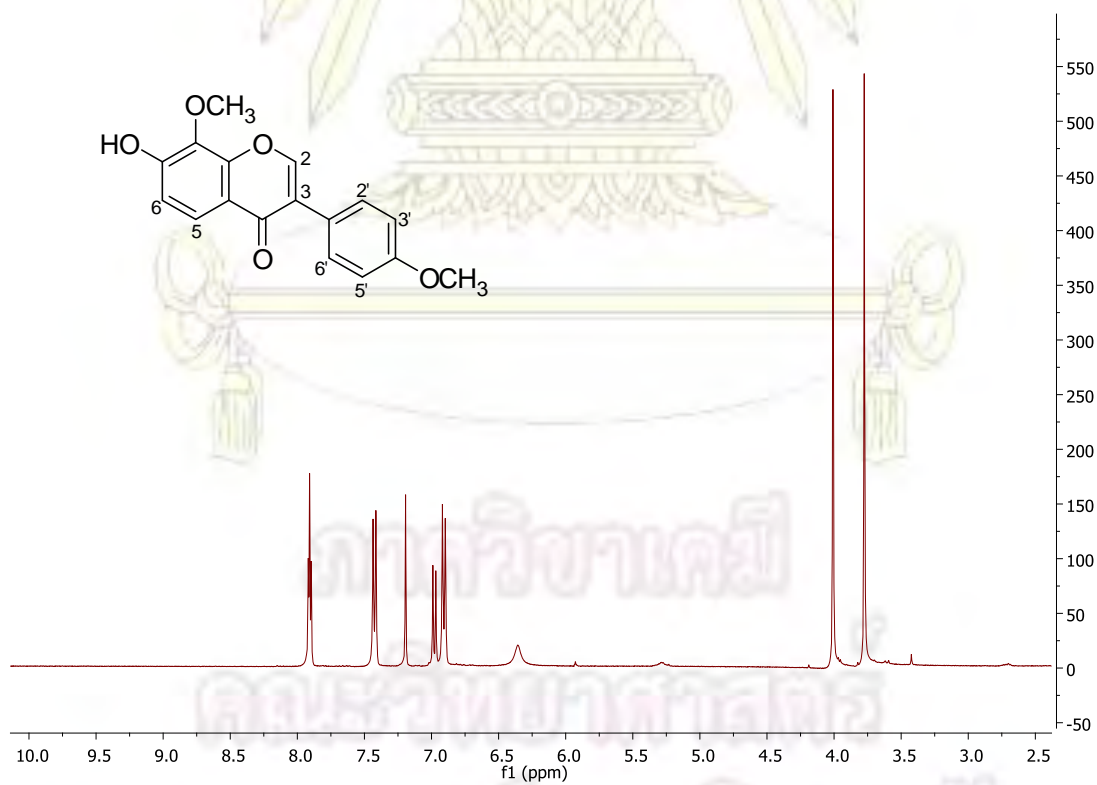
รูปที่ 13 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ formononetin (**10**) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



รูปที่ 14 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ clycosin (**11**) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



รูปที่ 15 สเปกตรัม $^{13}\text{C-NMR}$ ของ clycosin (11) ใน $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



รูปที่ 16 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 8-O-methylretusin (12) ใน CDCl_3

ประวัติผู้วิจัย

นางสาว찬ธิภา เลิศวิภาภัทร เกิดเมื่อวันที่ 25 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดลำปาง สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบุญวาทย์วิทยาลัย จังหวัดลำปาง เมื่อปี การศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 260/163 ถนน ฉัตรไชย ตำบลสบตุ๋ย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง รหัสไปรษณีย์ 52100

อีเมลล์ chantipa_pan@hotmail.com



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย