

การสังเคราะห์อโดรีนและอนุพันธ์เพื่อการควบคุมวัชพืช

Synthesis of Odorine and its Derivatives for Weed Control

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปีงบประมาณ 2549

ผู้วิจัย

ผศ.ดร. พัทณี เจริญยิ่ง

Asst. Prof. Dr. Patchanee Charoenying

RCH

OK

495

M52

พ.5167

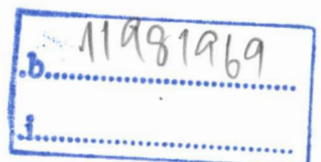
83674

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....

วัน,เดือน,ปี..... 11 ก.ย. 2551

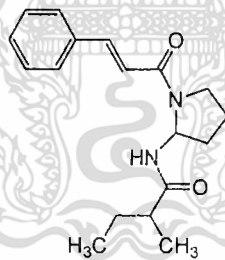
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

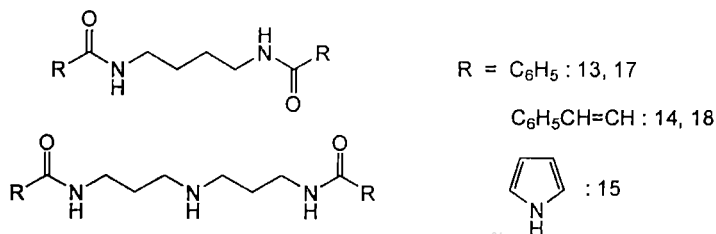
บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาติกของออดรีน 1 ต่อพืชทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) ผักโขม (*Amaranthus gracilis* Desf.) และผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) ที่ระดับความเข้มข้น 0 125 250 500 1,000 และ 2,000 ppm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าออดรีนมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมได้ดีที่สุด โดยมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป และการเพิ่มระดับความเข้มข้นของออดรีนมีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากยิ่งขึ้น เมื่อทำการเพิ่มประสิทธิภาพของออดรีนด้วยการทำเป็นรูปผลิตภัณฑ์ (formulation) ของออดรีนในรูปของ wettable powder, WP (WP1 และ WP2) พบว่าออดรีน-WP2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่าออดรีน-WP1 โดยมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้น 125 และ 250 ppm ขึ้นไปตามลำดับ และสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป



1

เมื่อทำการสังเคราะห์บิสเอไมด์ โดยใช้ 1, 4-ไดอะมิโนบวเทน และ บิส(3-อะมิโน)โพรพิล เป็นสารตั้งต้น ได้บิสเอไมด์ 5 ชนิด ได้แก่ บิสเอไมด์ 13 14 15 17 และ 18 โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตปานกลาง และยืนยันโครงสร้างของบิสเอไมด์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

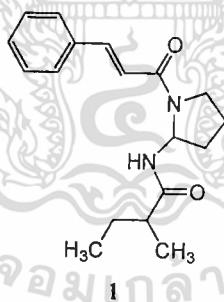
เมื่อนำบีสเอไมด์ทั้ง 5 ชนิด มาทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมสวน ด้วยวิธี Vial Test ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 200 และ 400 ppm โดยใช้ น้ำกลั่นและสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ทวิน 80 เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ จากการทดลองพบว่า บีสเอไมด์ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดผักโขมสวน แต่มีผลยับยั้งในด้านการเจริญเติบโต ความยาวต้นและราก โดยที่ระดับความเข้มข้น 200-400 ppm จะมีผลในการยับยั้งความยาวต้นและรากมากที่สุด



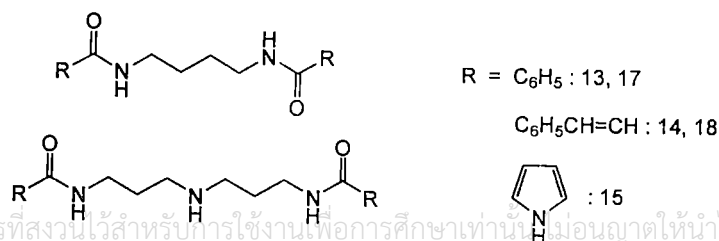
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

The allelopathic potential of odorine 1 on seed germination and growth of 3 tested plants, barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), slender amaranth (*Amaranthus gracilis* Desf.) and Chinese amaranth (*Amaranthus tricolor* L.), was investigated. The test was carried out at concentrations 0, 125, 250, 500, 1,000 and 2,000 ppm whereas the distilled water was used as control. The result found that odorine had highest inhibitory effect on seed germination and growth of slender amaranth at concentration 500 ppm. The inhibitory effect of odorine was increased when the applied concentration was higher. To increase the effectiveness of odorine, the formulation of odorine with wettable powder, WP (WP1 and WP2), was studied. It was found that the odorine-WP2 formulation had higher inhibitory effect than the odorine-WP1 formulation. The odorine-WP2 formulation showed significantly inhibitory effect on seed germination and growth of slender amaranth at concentrations 125 and 250 ppm, respectively and it had completely inhibited seed germination and growth at concentration 250 ppm.



The synthesis of bisamide was carried out using 1, 4-diaminobutane and bis-(3-aminopropyl) amine as the starting materials. The bisamide **13**, **14**, **15**, **17** and **18** was obtained in moderate yield. The structures of bisamides were elucidated by spectroscopy techniques.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

To investigate biological activity, on germination and seedling growth, the bisamides were tested with *Amaranthus tricolor* L. at the concentrations 50, 100, 200 and 400 ppm. whereas the distilled water and 0.1% tween 80 solution as controls. The results found that seed germination of *A. tricolor* was not affected by bisamides but inhibition on shoot and root growth of bisamide on *A. tricolor* showed slightly high activity at the concentrations 200-400 ppm.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจในระดับหนึ่งด้วยการสนับสนุนเงินทุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ งบประมาณปี 2549 ที่พิจารณาเห็นคุณค่าของงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ ผู้ร่วมงานวิจัย รศ.ดร. จำรูญ เก้าสินวัฒนา ที่ให้คำปรึกษาแนะนำให้ความรู้ในการทดสอบผลของสารที่มีออกฤทธิ์ต่อพืชทดสอบ พร้อมทั้งช่วยให้คำแนะนำการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ขอขอบคุณ คุณทิพวรรณ แสงทอง ที่ช่วยดำเนินงานนี้ให้ชัดเจนและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่เอื้อเพื่อความสะดวกตลอดการทำงานวิจัยนี้

พัชนี เจริญยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 อัลลีโลพาที (Allelopathy) และสารอัลลีโลเคมีคัล (Allelochemicals)	5
2.2 สารอัลลโลเคมีคัลที่มีผลในด้านการควบคุมวัชพืช	7
2.3 ทบทวนงานวิจัย	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	13
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	13
3.2 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย	15
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย	15
3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล	19
บทที่ 4 ผลการทดลอง	24
4.1 การทดลองที่ 1 การแยกออกโครีนจากใบประยงค์	24
4.2 การทดลองที่ 2 การทดสอบออกโครีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออกโครีนในรูป WP1 ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test	24
4.3 การทดลองที่ 3 การสังเคราะห์ออกโครีน	33
4.4 การทดลองที่ 4 การสังเคราะห์บีสเอไมด์	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5 ผลของบีสเอไมด์ต่อการงอกของฝัก ไจอมสวน	37
4.6 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของต้นกล้าฝัก ไจอมสวน	38
4.7 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าฝัก ไจอมสวน.....	39
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	41
5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	41
เอกสารอ้างอิง	45
ภาคผนวก ก การคำนวณในงานวิจัย	51
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	54



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงค่า chemical shift (δ (ppm), CDCl_3) ของออโครีน	25
4.2 ผลของบีสเอไมด์ต่อการงอกของเมล็ดผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด	38
4.3 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของต้นกล้าผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด	39
4.4 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด	40
5.1 สรุปผลความเข้มข้นของออโครีน รูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1	42
5.2 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบีสเอไมด์	43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 โครงสร้างของออโดรีน (Odorine)	25
4.2 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก ผักโขม และผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	26
4.3 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของหญ้าข้าวนกที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	27
4.4 ผลของออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	27
4.5 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	28
4.6 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	29
4.7 ผลของออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	30
4.8 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	30
4.9 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	32
4.10 ผลของออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	32
4.11 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ.....	33
4.12 ผลของบิสเอไมด์ 14 ที่ระดับความเข้มข้น 50-400 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมสวนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ	40

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

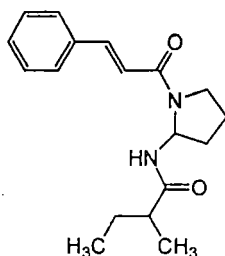
การควบคุมศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งทางด้าน โรคพืช แมลงศัตรูพืช วัชพืช และศัตรูอื่น ๆ เป็นกิจกรรมที่สำคัญ และจำเป็นต้องดำเนินการเป็นประจำในการผลิตพืชผลทางการเกษตรทุกชนิด ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศนิยมควบคุมวัชพืชชนิดต่าง โดยการ ใช้สารเคมี เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถปฏิบัติได้สะดวก รวดเร็ว และให้ผลดี อย่างไรก็ตาม การ ใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน นอกจากจะก่อให้เกิดอันตรายต่อเกษตรกรโดยตรงแล้ว สารพิษตกค้างทางการเกษตรเหล่านี้ยังมีผลทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะแพร่เข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ และเป็นอันตรายต่อประชาชนผู้บริโภคในที่สุด [1] ดังนั้นด้วยความตระหนักถึงพิษภัยและอันตรายที่เกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว นักวิจัยจากนานาประเทศจึงได้พยายามค้นคว้าและพัฒนาสารชีวภาพจากพืชและสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้ทดแทนสารเคมีทางการเกษตรที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน เป็นที่ทราบกันแล้วว่าสารชีวภาพเป็นสารที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมากกว่า [2, 3] แนวความคิดในการจัดการวัชพืชแบบยั่งยืน (sustainable weed management) โดยอาศัยการจัดการ และการใช้สารควบคุมวัชพืชจากธรรมชาติ ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน โดยมีรายงานผลการวิจัยสารสกัดจากพืชหลากหลายชนิดทั้งในประเทศและต่างประเทศที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เช่น สารสกัดจากเหง้าหญ้าคา [4] สารสกัดจากวัชพืชจำนวน 15 ชนิด [5] สารสกัดจากงา [6, 7] สารสกัดจากผักปอดนา [8] สารสกัดจากวัชพืชสามหมา [9, 10] สารสกัดจากผักเบี้ยหิน [11] สารสกัดจากเทียนหยด [12, 13] สารสกัดจากผลกำจัดต้น [14, 15] สารสกัดสกัดจากใบต้อยติ่ง [16] สารสกัดจากพืช *Abutilon theophrasti* [17, 18] สารสกัดจากมะเขือเทศ [19] และสารสกัดจากหญ้าหน่วน้อย [20] เป็นต้น

อัลลีโลพาที (Allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติอีกรูปแบบหนึ่งซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางของการผลิตพืชแบบยั่งยืนได้ ในปี ค.ศ. 1984 Rice ได้ให้คำจำกัดความคำว่า Allelopathy หมายถึงผลกระทบที่ก่อให้เกิดการบาดเจ็บ อันตราย หรือความเป็นประโยชน์ทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม โดยพืชชนิดหนึ่ง (รวมทั้งจุลินทรีย์) ที่มีผลต่อพืชอีกชนิดหนึ่งโดยผ่านทางสารเคมีที่ปล่อยสู่สภาพแวดล้อม นักวิทยาศาสตร์จึงได้สังเกตเห็นถึงประโยชน์ของสารเคมีกลุ่มนี้และพยายามที่จะหาหนทางนำอัลลีโลเคมีคัล (allelochemical) มาปรับใช้ทางการเกษตร อัลลีโลเคมีคัลมีความน่าสนใจและได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ ซึ่งสารเหล่านี้มีความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อมสูง แนวทางการพัฒนานำพืชที่มีศักยภาพทางอัลลิโลพาทีสูงไปใช้ในระบบการจัดการวัชพืชแบบยั่งยืนมีหลายแนวทาง เช่นการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารและนำไปใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชโดยตรง การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพสูงจากการดัดแปลงสูตรโครงสร้างของสารจากพืช และเชื่อว่าสารเหล่านี้จะสามารถนำมาใช้เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์สารควบคุมวัชพืชชนิดใหม่ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมน้อยลง

สำหรับพืชในสกุล *Aglaia* เช่น สังกะแยง (A. argentea Bl.) ประสงค์ (A. chittagonga Miq.) ค้างคาว (A. edulis (Roxb.) Wall) ประยงค์ป่า (A. odoratissima Bl.) ประยงค์ใบใหญ่ (A. oligophylla Miq.) และจันทร์ชะมด (A. silvesris (M.Roem.) Merr.) เป็นพันธุ์ไม้พื้นเมืองของประเทศไทยซึ่งอยู่ในวงศ์ Meliaceae [21] โดยมีชื่อวงศ์ในภาษาไทยหลายชื่อคือ วงศ์สะท่อน วงศ์เถียน หรือวงศ์สะเดา พันธุ์ไม้ต่าง ๆ ในสกุลนี้มีเพียงประยงค์เท่านั้นที่มีการนำมาศึกษาผลเบื้องต้นในด้านอัลลิโลพาที โดยพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าวัชพืชที่ใช้ในการทดสอบ เช่น ไมยราบยักษ์ [22] หนุ่ยขจรจบดอกเหลือง และหนุ่ยร้างนาก [23] และถั่วผี [24] ได้ดีมาก ซึ่งเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ปรากฏว่าสารที่สกัดได้มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าวัชพืชที่ใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการ และเมื่อทำการแยกสารสกัดชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงจนได้สารบริสุทธิ์พบว่าสารบริสุทธิ์ในชั้นคลอโรฟอร์มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าวัชพืชที่ใช้ในการทดสอบ เช่น หนุ่ยขจรจบดอกเหลือง หงอนไก่ป่า และผักโขม ได้ดีมาก จากการทดสอบพบว่าวัชพืชบางชนิดที่กล่าวมานั้นตายอย่างสมบูรณ์ จากการตรวจสอบโครงสร้างที่ถูกต้องของสารบริสุทธิ์นี้พบว่าเป็น ออโดรีน (Odorine) 1 [25] เป็นสารในกลุ่มพวกลิพิด แต่เนื่องจากสารบริสุทธิ์นี้ถูกสกัดแยกออกมาได้ในปริมาณที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของใบประยงค์ดังนั้นจึงเสนอโครงการวิจัยนี้เพื่อศึกษาแนวทางการสังเคราะห์ออโดรีน 1 และอนุพันธ์ลิพิด เพื่อนำมาใช้ในการจัดการวัชพืชแบบยั่งยืนและเป็นแนวทางให้ในการสังเคราะห์สารธรรมชาติควบคุมวัชพืชชนิดใหม่ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมน้อยลง



1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากการศึกษาคูณสมบัติของออร์โธโครินในการควบคุมวัชพืชแล้ว ผู้วิจัยยังศึกษาผลของ บีเอสเอไมด์ ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกับออร์โธโครินต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อเป็นแนวทางการสังเคราะห์ออร์โธโครินและอนุพันธ์ของบีเอสเอไมด์
2. หาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของอนุพันธ์ของบีเอสเอไมด์ที่มีต่อผลการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1. ทำการสังเคราะห์ออร์โธโครินและอนุพันธ์ของบีเอสเอไมด์
2. ทดสอบฤทธิ์ของสารอนุพันธ์ของบีเอสเอไมด์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสังเคราะห์ออร์โธโครินอนุพันธ์ของบีเอสเอไมด์ได้ ซึ่งสารอนุพันธ์นี้อาจจะแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชทดสอบ
2. เป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาเพื่อผลิตสารควบคุมวัชพืชในเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural products) เป็นสารชีวเคมีที่เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ภายในต้นพืชและสัตว์ หรืออาจเกิดจากแร่ธาตุก็ได้ สำหรับพืชสมุนไพรจะจัดเป็นพืชกลุ่มหนึ่งที่สามารถผลิตสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้ ดังจะเห็นได้จากตำราพื้นบ้านหรือจากคำบอกเล่าสืบทอดกันมาทำให้ทราบว่าพืชสมุนไพรมีสรรพคุณและประโยชน์ต่าง ๆ มากมาย ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาโรค เช่น เปล้าน้อย รักษาแผลในกระเพาะอาหาร กระเทียม ช่วยลดคอเลสเตอรอล แพงพวยฝรั่ง ใช้รักษาโรคมะเร็ง ควินิน ใช้รักษาไข้จับสั่น มะขามแขก ใช้เป็นยาระบาย ว่านหางจระเข้ ใช้ทาภายนอก รักษาแผล เป็นต้น [26] เนื่องจากยังไม่มีรายงานการตรวจสอบสรรพคุณและวิธีการการใช้สมุนไพรอย่างแน่ชัด ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะศึกษาและพิสูจน์สรรพคุณของสมุนไพรด้วยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ได้อย่างปลอดภัย และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรในด้านการแพทย์และเภสัชกรรมเพื่อผลิตยารักษาโรคและอาการต่าง ๆ ของมนุษย์ อีกทั้งยังทำให้ทราบว่าสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่อยู่ในพืชสมุนไพรนั้นเป็นสารชนิดใด สามารถออกฤทธิ์ต่อโรคและรักษาอาการต่าง ๆ ได้อย่างไร ซึ่งจะนำไปสู่การค้นคว้าวิจัยและพัฒนาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้ดียิ่งขึ้น และสามารถนำสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นอกจากการวิจัยสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในด้านการแพทย์ ยังมีการวิจัยในด้านการเกษตร ซึ่งเป็นการวิจัยเพื่อใช้ในการผลิตสัตว์ ใช้พัฒนาเป็นยาฆ่าแมลง และการวิจัยพัฒนาเป็นสารกำจัดศัตรูพืชจากธรรมชาติ นักวิจัยได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในด้านการใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะการใช้เป็นสารกำจัดและควบคุมวัชพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่เป็นเกษตรกร และปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของเกษตรกรคือ วัชพืช ซึ่งจะเห็นได้จากมีการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชจากต่างประเทศมากที่สุดจากในบรรดากลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตรทั้งหมด ทำให้ประเทศสูญเสียเงินตราในแต่ละปีจำนวนมาก ดังนั้น การศึกษาพัฒนาสารกำจัดวัชพืชขึ้นใช้ทดแทนการนำเข้า จึงน่าจะเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาที่ดี และเนื่องจากสารกำจัดวัชพืชส่วนใหญ่มาจากสารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดอาการพิษและเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นสารกำจัดวัชพืชที่พัฒนามาจากสารธรรมชาติจะสามารถช่วยลดอันตรายดังกล่าวลงได้ และสามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกปลดปล่อยสู่สภาพแวดล้อม

สำหรับข้อดีของการควบคุมวัชพืชในทางการเกษตร คือ ทำให้ได้ผลผลิตดีและมีปริมาณมาก ดังนั้นการควบคุมและกำจัดวัชพืชจึงเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการเพิ่มผลผลิต ผลิตภัณฑ์ ไม่ว่าจะเป็นกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นแหล่งสำคัญที่สามารถใช้พัฒนาในด้านเภสัชวิทยา กัญญาวิทยา และ พยาธิวิทยา รวมถึงพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช นอกจากนี้สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติยังมีลักษณะ โครงสร้างที่แตกต่างไปจากสารสังเคราะห์แต่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมือนกัน ซึ่งอุตสาหกรรมที่ผลิตสารกำจัดวัชพืชนอกจากจะคำนึงถึงความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังได้พยายามพัฒนาสารใหม่ให้สามารถออกฤทธิ์ได้หลายรูปแบบ พืชส่วนใหญ่เริ่มสร้างภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติกำจัดวัชพืชที่สังเคราะห์ได้ ทำให้สารเหล่านั้นไร้ประสิทธิภาพ จุดมุ่งหมายของงานวิจัยในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นไปที่บทบาทของอัลลีโลเคมีคัลซึ่งเป็นสารประกอบจากธรรมชาติ การศึกษาพืชปลูกที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที กลไกและการทำงาน รวมไปถึงระยะเวลาในการคงอยู่เมื่อปลดปล่อยออกสู่ธรรมชาติ เทคโนโลยีทางชีวภาพอาจจะสร้างพืชปลูกที่มีสารกำจัดวัชพืชในตัวเองได้ด้วยการถ่ายทอดทางพันธุกรรมทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้สารสังเคราะห์อีกต่อไป

2.1 อัลลีโลพาที (Allelopathy) และสารอัลลีโลเคมีคัล (Allelochemicals)

อัลลีโลพาที (allelopathy) คิดค้นโดย Molisch มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ “allelon” แปลว่า อีกอันหนึ่ง และ “pathos” แปลว่า การได้รับความเสียหายหรือทำให้เกิดอันตราย ดังนั้น ความหมายของ อัลลีโลพาที จึงหมายถึง ปฏิกิริยาของพืชชนิดหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อพืชอีกชนิดหนึ่งรวมถึงจุลินทรีย์ ทั้งในด้านการส่งเสริมและยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตและการขยายตัวของพืช โดยผ่านออกมาในรูปสารเคมี ซึ่งพืชสามารถผลิตขึ้นได้เมื่อยังมีชีวิตอยู่หรือผลิตขึ้นเมื่อพืชตาย หรืออาจผลิตขึ้นเมื่อพืชที่ตายแล้วนั้นถูกย่อยสลาย [27, 28] ส่วนสารเคมีที่พืชผลิตขึ้นนั้นจะเรียกว่า อัลลีโลเคมีคัล (allelochemical) ซึ่งส่วนใหญ่จัดเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) โดยเป็นสารที่มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช เช่น อัลคาลอยด์ (alkaloids) ไกลโคไซด์ (glycosides) แทนนิน (tannins) เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่จะมีสารเริ่มต้นเป็นกรดอะมิโน (amino acid) อะซิเตต (acetate) เมวาโลเนต (mevalonate) ฯลฯ โดยมีเอนไซม์ที่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของพืชที่เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้กระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ต่างกัน และทำให้สารทุติยภูมิแตกต่างกัน [29]

การผลิตสารมีหลายรูปแบบในสิ่งแวดล้อม ซึ่งบางครั้งเกี่ยวข้องกับความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมทำให้พืชเกิดความเครียด (stress) และผลิตสารอัลลีโลเคมีคัลในปริมาณมากกว่าปกติ ลักษณะเช่นนี้สามารถเกิดขึ้นกับส่วนใดของพืชก็ได้ [30] แต่เมล็ดและใบเป็นส่วนที่มีสารอยู่รวมตัวกันมากที่สุด แหล่งผลิตสารจึงกลายเป็นสิ่งสำคัญที่เกี่ยวข้องกับอัลลีโลเคมีคัลในการควบคุมวัชพืช ตัวอย่างเช่นอัลลีโลเคมีคัลที่สกัดจากดอก หรือผลจะมีปริมาณน้อยกว่าสกัดจากรากหรือลำต้นของต้นเดียวกัน สำหรับการควบคุม การใช้พืชทั้งต้นคลุมร่วมกับดินอาจทำให้เกิดการกระจายตัวของสารอัลลีโลเคมีคัลไปทั่วพื้นที่ ทั้งนี้เนื่องจากแต่ละส่วนของต้นพืชสร้างสารอัลลีโลเคมีคัล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ผ่านการอนุมัติจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ทั้งสิ้น ดังนั้นปริมาณจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับจุดประสงค์ในการใช้เพื่อควบคุมและถ้าต้องการผลที่เฉพาะเจาะจง ปริมาณสุทธิและความเข้มข้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องคอยตรวจสอบอยู่เสมอ [28]

มีหลักฐานสนับสนุนการเพิ่มการผลิตสารอัลลิโลเคมีคัลเนื่องจากพืชได้รับความเครียดจากสิ่งแวดล้อม [28, 31, 32] ตามปกติการผลิตสารนั้นได้รับอิทธิพลจากความเข้ม คุณภาพและระยะเวลาที่ได้รับแสง ในลักษณะของการได้รับแสงอุตราไวโอเลตที่เข้มและช่วงวันที่ยาวนานขึ้น ทำให้ผลิตสารออกมาได้มากขึ้นเช่นกัน [33] วัชพืชจึงอาจสร้างสารอัลลิโลเคมีคัลได้น้อยลงเพราะแสงอุตราไวโอเลตถูกกรองเอาไว้ด้วยร่มเงาของพืชปลูกได้ จากข้อสมมติฐานพบว่า พืชปลูกที่สร้างร่มเงาอาจสามารถลดการทำงานของสารอัลลิโลเคมีคัลจากวัชพืชได้ ปริมาณของสารอัลลิโลเคมีคัลที่สร้างจะเพิ่มมากขึ้นถ้าหากว่าพืชอยู่ในสภาวะขาดแร่ธาตุ ขาดน้ำจนถึงแห้งแล้ง และอุณหภูมิเย็นจัดกว่าสภาวะเหมาะสมที่สามารถเจริญเติบโตตามปกติ ในบางกรณีพืชได้รับผลจากสารกำจัดวัชพืชบางตัวที่ควบคุมการเจริญเติบโตอาจจะเพิ่มการผลิตสารอัลลิโลเคมีคัลได้ เพราะความเครียดนั้นมีผลต่อการสร้างสารอัลลิโลเคมีคัล ดังนั้นจึงอาจตั้งเป็นสมมติฐานได้ว่าความเครียดเกี่ยวข้องกับอัลลิโลเคมีคัลหรือความอ่อนแอของวัชพืช และพืชปลูกเองหรือทั้งคู่ ด้วยเหตุนี้ลักษณะการแข่งขันของพืชปลูกกับวัชพืช และอัลลิโลพาทีจึงไม่สามารถแยกออกจากกันเสียทั้งหมด

อัลลิโลเคมีคัลเข้าสู่ธรรมชาติได้หลายทางด้วยกันในหลาย ๆ ช่วงเวลา และรูปแบบกับช่วงเวลานี้เองจะเป็นตัวกำหนดลักษณะของการออกฤทธิ์ พืชสามารถปลดปล่อยสารอัลลิโลเคมีคัลได้หลายรูปแบบด้วยกัน สรุปได้ 4 วิธีด้วยกันคือ

1. การระเหย (Volatization) สารอัลลิโลเคมีคัลส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหยที่พืชอาจปลดปล่อยออกมาทางใบหรือลำต้น เช่น ยูคาลิปตัส ซัลเวีย (*Salvia leucophylla*, *S. melligera* และ *S. apiana*) ปลดปล่อยสารระเหยประเภท terpenoid เช่น monoterpenes, sesquiterpenes, camphor และ cineole [28, 34, 35]

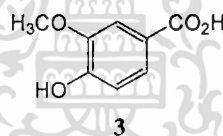
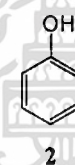
2. การชะล้าง (Leaching) สารอัลลิพาทีที่เกิดจากฝน น้ำค้าง หรือหมอก น้ำในอากาศจะเป็นตัวชะล้างสารอัลลิโลเคมีคัลที่ติดอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของพืชลงสู่พื้นดิน เช่น Velvet leaf (*Abutilon theophrasti*) ผลิตสารพิษเมื่อได้รับอุณหภูมิสูง โดยมีน้ำเป็นตัวทำลายสารพิษจากต้นพืชจากส่วนที่อยู่เหนือดินหรือส่วนที่อยู่ใต้ดิน [28] การชะล้างสารพิษจากต้น *Datura Stramonium* ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) และถั่วเหลืองเป็นต้น [35]

3. การปลดปล่อยสารพิษออกทางราก (Root Exudation) น้ำจะเป็นตัวพาสารที่อยู่ภายในรากออกมา แสดงว่าสารส่วนใหญ่ถูกสะสมอยู่ที่ส่วนนี้ เช่น หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis*) เป็นพืชที่ปลดปล่อยสารพิษออกทางรากที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดเดียวกัน (autotoxicity) ที่ปลูกตามมาภายหลัง [35] การปลดปล่อยสารพิษออกทางรากของฝ้าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*Gossypium hirsutum* L.) ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชปลูกตามมา เช่น ฝ้าย ข้าวฟ่าง เป็นต้น [36]

4. การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ในดิน (Decomposition of Residue) ซากพืชที่ตายแล้วจะถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์และปลดปล่อยสารต่าง ๆ ซึ่งมีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที่ออกมา เช่น พืชชนิดหนึ่งขณะดำรงชีวิตอยู่ไม่ได้สร้างสารอัลลีโลเคมีคัลแต่ภายในต้นพืชมีสาร A อยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อพืชนั้นตายลงจุลินทรีย์จึงเข้ามามีส่วนในการย่อยสลาย และจุลินทรีย์ย่อยสลายสาร A ด้วยพร้อมกับเปลี่ยนสาร A ให้กลายเป็นสาร B ซึ่งมีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที่ เช่น ฟีนอล (phenol) 2 ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเศษซากของใบต้นสน (*Pinus nurecata* D. Don) มีผลให้ปริมาณธาตุไนโตรเจนที่อยู่ในดินเจือจาง [37] ในขณะที่ซากของ Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) จะปลดปล่อยกรดคลอโรเจนิค (chlorogenic acid) กรดคูมาริก (coumaric acid) และกรดวานิลลิก (vanillic acid) 3 ซึ่งมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของทานตะวัน มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill) และผักกาดหัว (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus* L.) [35]



แม้ว่าสารเคมีกับฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที่อาจแสดงผลกับพืชหลายชนิด แต่ไม่ได้หมายความว่าใช้ได้กับวัชพืชทุกชนิด หลังจากสารเคมีถูกแยกและตรวจสอบโครงสร้างแล้ว การดำรงอยู่ของสารในสภาพแวดล้อมหลังจากพืชปลดปล่อยออกมา อาจใช้เป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพการทำงานของสาร

2.2 สารอัลลีโลเคมีคัลที่มีผลในด้านการควบคุมวัชพืช

พืชสามารถผลิตสารอัลลีโลเคมีคัลที่มีผลกระทบต่อพืชอีกชนิดหนึ่งได้มากมายหลายชนิด โดยสารอัลลีโลเคมีคัลบางชนิดที่พืชผลิตขึ้นนั้น อาจส่งผลในด้านการยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของพืชอีกชนิดหนึ่ง หรือพืชที่ปลูกขึ้นมามากภายหลังได้ ดังจะเห็นได้จากรายงานการวิจัยต่อไปนี้

Putnam และ DeFrank [38] รายงานว่าเศษซากของข้าวไรย์ (*Secale cereale* L.) สามารถลดเปอร์เซ็นต์การงอกของ Ragweed ได้ 43 เปอร์เซ็นต์ Green foxtail ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ Redroot pigweed ได้ 95 เปอร์เซ็นต์ และลดการงอกของ Purslane (*Portulaca olearacea* L.) ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Shilling *et al.* [39] พบว่า surface mulch ของข้าวไรย์ไม่วัชกรณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรย์แห้งในพื้นที่ที่ยังไม่มีการไถพรวนจะสามารถลด biomass ของ Lambsquarters ได้ 99 เปอร์เซ็นต์ Redroot pigweed ได้ 96 เปอร์เซ็นต์ และลด biomass ของ Ragweed ได้ 92 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Creamer *et al.* [40] พบว่า การชะล้างเศษซากของข้าวไรย์จะให้ สารอัลลิโลเคมีคัลที่สามารถยับยั้งการงอกของ Eastern black nightshade (*Solanum ptycanthum* Dun.) ได้ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเศษซากและสารสกัดด้วยน้ำจากข้าวไรย์ที่มี phytotoxic compound 2 ชนิด ได้แก่ 2,4-dihydroxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one (DIBOA) 4 และ 2(3H)-benzoxalinone (BOA) 5 จะสามารถยับยั้งการเจริญของรากหญ้าข้าวหนวดได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และมี ประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเป็น 0.37 และ 1.05 mM. ตามลำดับ [41]



Ohigashi *et al.* [42] สามารถสกัดแยก 3 - hydroxyuridine จาก *Baillonella toxisperma* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง hypocotyl และยับยั้งการเจริญของรากต้นกล้าแดงกวาง และผักกาดหัว นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของรากต้นกล้าข้าวได้อีกด้วย Sahid และ Sugau [43] รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำของผลกรอง (*Lantana camara*) สามารถยับยั้งการงอกของ ผักกาดขาวปลี พริก และ Rape ได้ ส่วนสารสกัดของสามเสือ (*Chromolaena odorata*) สามารถลดการงอกของเมล็ดที่แข็งแรงของผักกาดขาวปลี พริก Sinach และ Rape ได้ 12 19 10 และ 21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีรายงานว่า cyclic thiosulfates และ secoiridoid glucosides ซึ่งสามารถแยกได้จากวัชพืชเขตร้อน *Sphenoclea zeylanica* สามารถยับยั้งการเจริญของรากต้นกล้าข้าวได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 3.0 mM [44] สารสกัดที่ได้จากข้าวฟ่าง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของข้าวสาลีได้ [45] การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจาก ใบของถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa* L.) จะสามารถลดความยาวรากของถั่วอัลฟัลฟาและหญ้า ข้าวหนวดอเมริกาใต้ (*E. crus-galli*. Beauv. var. *oryzicola* Ohwi) ได้ [46] มีรายงานว่าสารสกัดจากรากของ Kava (*Piper methysticum* L.) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชที่เป็นอันตรายต่อข้าวเปลือกได้อย่างมาก ซึ่งได้แก่ หญ้าข้าวหนวด ผักเป็ด (*Monochoria vaginalis*) และ Knotgrass (*Paspalum distichum* L.) [47] Hiradate *et al.* [48] สามารถสกัดแยก cis-cinnamoyl glucosides ได้จากใบสดของ *Spiraea thunbergii* Sieb. ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น phytotoxic ต่อการเจริญเติบโตของรากผักสลัดแก้ว จากงานวิจัยของ Xuan *et al.* [49] พบว่า phytotoxic ของสามแฉ่งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของผักกาดหัวได้อย่างมาก และยังพบว่าใบของสามแฉ่งสาบกาในอัตรา 2 ต้น

ต่อเฮกตาร์ สามารถลดการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกไต้หวัน (*E. crus-galli* var. *formosensis* Ohwi) ได้ 70 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการงอกของผักเป็ด (*M. vaginalis* Burm. f. Persil var. *plantaginea* Solms.) ได้อย่างสมบูรณ์ มีรายงานว่าสารสกัดจากใบทานตะวัน (*H. annuus* L. cv. Suncross-42) สามารถต้านทานวัชพืชได้ถึง 5 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium album* L., *Coronopsis didymus* (L.) Sm., *Medicago polymorpha* L., *Rumex dentatus* L., *Phalaris minor* Retz. [50] สารสกัดด้วยน้ำของผักสลัดแก้วสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดถั่วอัลฟัลฟา ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลจาก hexane fraction ของผักสลัดแก้วสามารถยับยั้งการเจริญของรากถั่วอัลฟัลฟาได้สูงสุด และเศษซากของใบผักสลัดแก้วในดินที่ 100 กรัมต่อกิโลกรัม จะสามารถยับยั้งน้ำหนักของต้นและรากสดของหญ้าข้าวนกไต้หวันได้ 79 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ [51]

จากงานวิจัยของ Khanh *et al.* [52] พบว่าสารอัลลิโลเคมีคัลจาก *Nerium oleander* และ *Helianthus tuberosus* สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักเป็ดได้สูงสุด ส่วนสารสกัดจาก Saururaceae (*Houttuynia cordata* Thunb) ซึ่งเป็นพืชทางยาจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักสลัดแก้วและวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนกและผักเป็ด ซึ่งเป็นวัชพืชที่ขึ้นอยู่กับเมล็ดของข้าวเปลือกที่ก่อให้เกิดปัญหาในประเทศไทยนี้ [53]

2.3 ทบทวนงานวิจัย

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 เป็นต้นมา กลุ่มวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตร และคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้ให้ความสนใจศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากประยงค์ (*Aglaia odorata*) ที่ออกฤทธิ์ทางด้านการควบคุมวัชพืช เพื่อพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืชที่ได้จากธรรมชาติทดแทนสารสังเคราะห์ ดังจะเห็นจากรายงานการวิจัยดังนี้

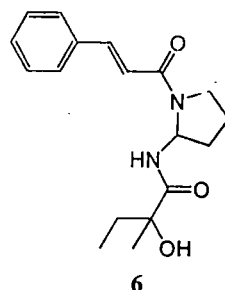
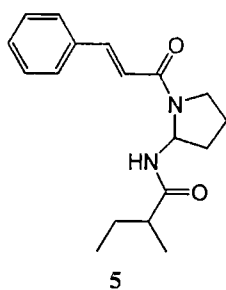
ยิ่งยง เมฆลอย [54] ศึกษาการเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชในวงศ์ Meliaceae จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ประยงค์ใบใหญ่ (*A. oligophylla* Miq.) ประยงค์ ลางสาด (*A. domestica* Pellegr.) ลองกอง (*A. dookoo* Griff) เลียน (*M. azedarach* Linn.) สะเดา (*Azadirachta indica* A.Juss var. *siamensis* Valeton) สะเดาช้าง (*A. excelsa* (Jack) Jacobs) ยมหอม (*Toona ciliata* M. Rome.) ยมหิน (*Chukrasia venlutina* (M. Rome.) C. DC.) และ ตาเสือ (*Aphanamixis polytachya* (Wall.) R. Paker) ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ ผักกวางตุ้ง ข้าว ผักโขม (*A. viridis* L.) และ หญ้าข้าวนก พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์ใบใหญ่ให้ผลยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชมากที่สุด สารสกัดจากใบประยงค์และเลี่ยนให้ผลยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบลางสาด ลองกอง สะเดา

และสะเดาช้างให้ผลในการยับยั้งน้อยกว่า เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุญรอด ชาติยานนท์ [55] ศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์สดและแห้ง สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ ผักกาดหัว ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดเทียน หอมแบ่ง (*Allium ascalonicum* L.) ไมยราบยักษ์ ถั่วผี หล้าขจรจับดอกเหลือง และหล้าร้างนก พบว่าสารสกัดจากใบประยงค์แห้งจะมีผลในการยับยั้งพืชทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากใบสด และเมื่อนำใบประยงค์แห้งมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล จากการทดสอบพบว่าสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากใบประยงค์แห้ง สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบทั้ง 8 ชนิดได้เช่นกัน จากนั้นทำการแยกสารจากสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีได้สาร 8 ส่วนย่อย และพบว่าสารส่วนย่อยที่ 8 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกวางตุ้ง ข้าวโพดเทียน ถั่วไมยรา และหล้าร้างนกได้มากที่สุด และจากการเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบ กิ่งอ่อน กิ่งแก่ ลำต้น ราก และส่วนผสมทุกส่วนของต้นประยงค์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 4 ชนิด คือ ผักกวางตุ้ง ผักโขม ข้าว และหล้าร้างนก พบว่าสารสกัดจากกิ่งอ่อนสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีที่สุด สารสกัดจากใบ กิ่งแก่ และส่วนผสมของทั้งต้น สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบตามลำดับ ยกเว้นผักกวางตุ้งและผักโขมที่สารสกัดจากกิ่งอ่อนและใบมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

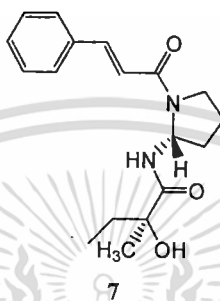
ยังยง เมฆลอย [56] ได้ทำการแยกสารสกัดจากใบประยงค์ในชั้นคลอโรฟอร์มด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีจนได้สารบริสุทธิ์ ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม หงอนไก่ป่า หล้าขจรจับดอกเหลือง และหล้าร้างนกได้มากกว่าสารสกัดในส่วนอื่น ๆ และจากการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีพบว่าสารบริสุทธิ์นี้คือ odorine 1 หรือ bis-amide 2-aminopyrrolidine

รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการแยกออกโครีนนั้นเริ่มจาก อารณี อึ้งภากรณ์ [57] ได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบไนโตรเจนจากใบประยงค์ โดยสกัดสารจากใบประยงค์ด้วยปีโตรเลียมอีเทอร์ จากนั้นทำการสกัดด้วยอีเทอร์ พบสารใหม่ 2 ชนิด คือ odoratine ($C_{18}H_{24}O_2N_2$) 1 และ odoratinol ($C_{18}H_{24}O_3N_2$) 6

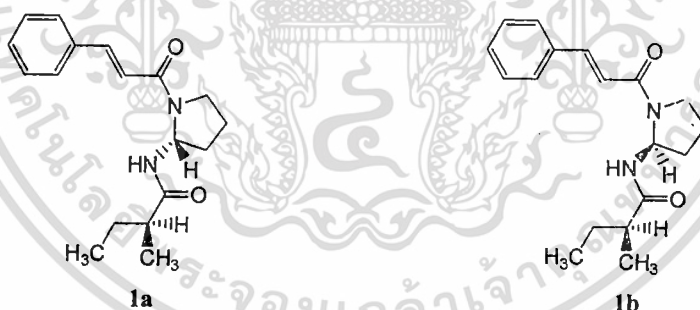


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hayashi *et al.* [58] ได้สกัดสารจากใบและกิ่งของประยงค์ด้วยคลอโรฟอร์ม และพบสารใหม่คือ (-)-odorinol 7 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (Antileukemic activity) โดยจากการทดสอบพบว่า (-)-odorinol 25 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในเม็ดเลือดขาว (lymphocyte) ชนิด P-388 ในหนูเพศผู้ จากนั้นได้ทำการศึกษาโครงสร้างและสเตอริโอเคมีของสารด้วยการทดสอบทางกายภาพและทางเคมี โดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ และเทคนิค Single-crystal X-ray analysis



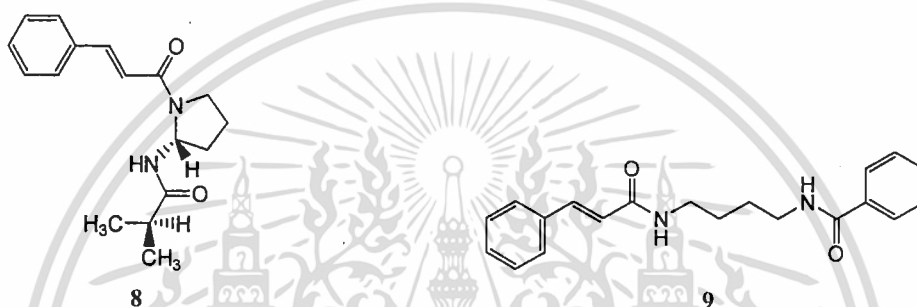
Saifah *et al.* [59] ได้ทำการสกัดสารจากใบประยงค์ พบสารประเภท bisamides ได้แก่ odorine 1a และ 5'-*epi*-odorine 1b ที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในมนุษย์ 11 ชนิด ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



Inada *et al.* [60] ได้สกัดสารจากใบประยงค์ด้วยเมทานอล และพบสารประเภท aminopyrrolidine-diamides ได้แก่ odorine 1a และ odorinol 6 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง 2 ระยะในหนูเพศเมีย

ออโดรีนจัดเป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) ประเภท bis-amide alkaloids ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดซินนามิก โดยพบว่าเป็น alkaloids กลุ่มเดียวที่พบในพืชสกุล *Aglaia* (วงศ์ Meliaceae) ออโดรีนมีฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านการยับยั้งเซลล์มะเร็ง [59, 60] และมีฤทธิ์ทางอัลลิโลพาทีที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ [56] จากการตรวจสอบคุณสมบัติของออโดรีน 1 ($C_{18}H_{24}N_2O_2$) มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 218-219 องศาเซลเซียส มีค่ากำหนดระนาบแสง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าได้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลาไรซ์ ($[\alpha]_D^{25}$) เท่ากับ (+)72.6 องศา เมื่อตรวจสอบโครงสร้างของออโครีนด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่ามีค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่เอไมด์ (ν_{\max} , KBr disc) เท่ากับ 3245 1670 1650 1535 และ 1320 cm^{-1} ในอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมจะพบอนุพันธ์ของซินนาไมด์ที่มีความยาวคลื่น (λ_{\max} , $\log \epsilon$ 4.20) 283 nm มี m/z 300 (M^+) เป็น 215 199 169 131 103 85 และ 57 [54, 58] Hesse และ Detterbeck [61] กล่าวว่าไว้วาบิสเอไมด์ที่มีวงไพโรลิดีน เช่น odorine 1 odorinol 6 และ Periferine 8 สามารถเปิดวงเป็นบิสเอไมด์พิวเทรสซีน (Putrescine) เช่น Pyramidatine 9 ซึ่งมีเอนไซม์ชนิดพิเศษที่สามารถปิดวงกลับไปเป็นบิสเอไมด์ที่มีวงไพโรลิดีน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกสาร

1. เฮกเซน (Hexane) Commercial grade บริษัท Zen Point
2. เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) Commercial grade บริษัท Zen Point
3. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) Commercial grade บริษัท Zen point
4. เมทานอล (Methanol) Commercial grade บริษัท Zen Point
5. อะซิโตน (Acetone) Commercial grade บริษัท Zen Point
6. ทวิน 80 (Tween 80, Hydrophilic Nonionic Surfactant) บริษัท Ajax Finechem
7. ซิลิกาเจล 60 GE 0048 (Siliga gel 60 GE 0048, 0.04-0.06 mm)
บริษัท Scharlau
8. ซิลิกาเจล (Siliga gel, 0.06-0.20 mm) บริษัท Carlo Erba
9. แอนไฮดรัส แมกนีเซียมซัลเฟต (Anhydrous Magnesium sulphate)
บริษัท Panreac Quimica SA
10. ออโดรีน (Odorine)
11. 1, 4-ไดอะมีโนบิวเทน (1, 4-diamino butane) Commercial grade บริษัท Fluka
12. บีส(3-อะมีโนโพรพิล)เอมีน Commercial grade บริษัท Fluka
13. ซินนามอยล์คลอไรด์ (Cinnamoyl chloride) Analytical grade บริษัท Fluka
14. ซินนามิกแอซิด (Cinnamic acid) Analytical grade บริษัท Fluka
15. เบนโซอิกแอซิด (Benzoic acid) Analytical grade บริษัท Fluka
16. 2-ไตรคลอโรอะซิติกแอซิด (2-Trichloroacetic acid) Analytical grade
บริษัท Aldrich
17. สารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์
18. สารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอริก
19. สารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว
20. แอนไฮดรัส โซเดียมซัลเฟต (Anhydrous Magnesium sulphate) บริษัท
Carlo Erba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nuclear Magnetic Resonance) รุ่น AVANCE DPX 300 ความถี่ 300 MHz บริษัท Bruker
2. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) รุ่น BÜCHI Rotavapor R-114 บริษัท Büchi
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงช่วง UV-Visible (λ 254 และ 366 nm) บริษัท CAMAX
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น TC-254 บริษัท Denver Instrument Company
5. ตู้อบ
6. เครื่องบดไฟฟ้า

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ขวดรูปชมพู่
2. ปีกเกอร์
3. โกร่งบดสาร
4. พาราฟิล์ม
5. กระบอกตวง
6. ช้อนตักสาร
7. ขวดก้นกลม
8. แท่งแก้วคน
9. กรวยกรอง
10. คอตมันน์
11. ไมโครปิเปต
12. กระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์
13. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
14. กระดาษเพาะเมล็ด
15. หลอดฉีดยาพลาสติก
16. ขวดเพาะเมล็ด (vial, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 และ 2.8 ซม.)
17. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC aluminium sheets, Siliga gel F₂₅₄) บริษัท Merck

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 พืชที่ใช้ในการทดลอง

1. ประยงค์ จากภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2. หล้าข้าวนก เก็บในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม
3. ผักโขม เก็บในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม
4. ผักโขมสวน บริษัท Thai Seed & Agriculture Co., Ltd.

3.2 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย

3.2.1 เตรียมสารสกัดหยาบจากใบประยงค์ (Crude Extract) ในแต่ละชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยวิธีการสกัดตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลาย (Sequential Solvent Extraction) จากที่มีขั้วต่ำไปยังขั้วสูง (เฮกเซน → เอทิลอะซิเตต) จะได้สารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ

3.2.2 แยกออโครีนออกจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตต โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

3.2.3 ศึกษาฤทธิ์ของออโครีนและอนุพันธ์ของบีสเอไมด์ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

3.2.4 สังเคราะห์ออโครีนและอนุพันธ์ของบีสเอไมด์

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษารการพัฒนาออโครีนจากใบประยงค์ เพื่อใช้ในการควบคุมวัชพืชนั้น ประกอบด้วย 3 การทดลองหลัก ได้แก่

3.3.1 การทดลองที่ 1 การแยกออโครีนจากใบประยงค์

การเตรียมสารสกัดหยาบจากประยงค์ ทำการคัดเลือกใบประยงค์ที่ได้ที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ ไม่มีโรคและแมลงรบกวน นำมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท นำใบประยงค์มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำไปใส่ในถุงผ้าขาวบาง แฉในตัวทำละลายเฮกเซนในภาชนะปิดเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการคนทุกวัน จากนั้นนำมารองแยกกากและสารสกัดในชั้นเฮกเซนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำกากมาผึ่งลมให้แห้งแล้วจึงนำไปแช่ในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่า ได้แก่ เอทิลอะซิเตต นำสารสกัดชั้นเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตมาระเหยตัวทำละลายออกจนแห้งสนิทด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดแยกออโครีนจากใบประยงค์ นำสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตมาทำการแยกออโครีนให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยตรวจสอบด้วย TLC พบออโครีน ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 254 nm และทดสอบด้วย anisaldehyde reagent พบออโครีนเป็นจุดสีส้ม จากนั้นจึงนำออโครีนไปตรวจสอบสูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.2 การทดลองที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ของออโครีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test

ในทุกการทดลองต่อไปนี้จะใช้คำว่า ออโครีน-WP1 และออโครีน-WP2 แทนรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 และ WP2 ตามลำดับ

การเตรียม WP1 (Wettable Powder) โดยชั่งเบนโทไนด์ 97 กรัม และแอนไอออนิกเซอแฟกแทนท์ (S1) 3 กรัม ละลายด้วยอะซิโตนและบดผสมให้เข้ากันจนอะซิโตนระเหยออกจนแห้งเป็นผงละเอียด จากนั้นละลายด้วยอะซิโตนซ้ำอีก 2-3 ครั้ง เก็บใส่ขวดปิดฝา

การเตรียมออโครีน-WP1 อัตราส่วน 15 : 85 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w) [78] โดยชั่งออโครีน 150 มก. และ WP1 850 มก. ละลายด้วยเมทานอลและบดผสมให้เข้ากันจนเมทานอลระเหยออกจนแห้งเป็นผงละเอียด จากนั้นละลายด้วยเมทานอลซ้ำอีก 2-3 ครั้ง จะได้รูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1

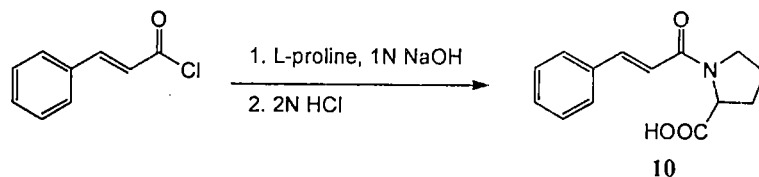
การเตรียมสารละลายออโครีนในเมทานอล และสารละลายออโครีน-WP1 ในน้ำกลั่น โดยเตรียมจากสารละลายออโครีนตั้งต้น และสารละลายออโครีน-WP1 ตั้งต้น (Stock solution) ที่มีออโครีนเข้มข้น 2,000 ppm จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นของออโครีนเป็น 1,000 500 250 และ 125 ppm โดยมีน้ำกลั่นและ WP1 เป็นกรรมวิธีการเปรียบเทียบ (ปริมาณ WP1 เท่ากับปริมาณ WP1 ในออโครีน-WP1 ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm) ปิ่เปิดสารละลายในแต่ละความเข้มข้น 0.5 มล. ลงในขวดเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ซม. ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด สำหรับสารละลายในเมทานอล ปล่อยให้เมทานอลระเหยออกจนสมบูรณ์ประมาณ 1 ชม. จากนั้นเติมน้ำกลั่น 0.5 มล. วางเมล็ดพืชทดสอบ ได้แก่ หญ้าข้าวนก ผักโขม และผักโขมจีน จำนวน 10 20 และ 10 เมล็ดต่อขวด ตามลำดับ ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง ในแต่ละพืชทดสอบใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยนับจำนวนการงอกของเมล็ด วัดความยาวต้นและความยาวรากที่ 7 วันหลังทำการเพาะเมล็ด โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีเรดิเคิล (radicle) งอกพ้นออกมายาว 2 มม. เป็นเมล็ดที่งอก นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

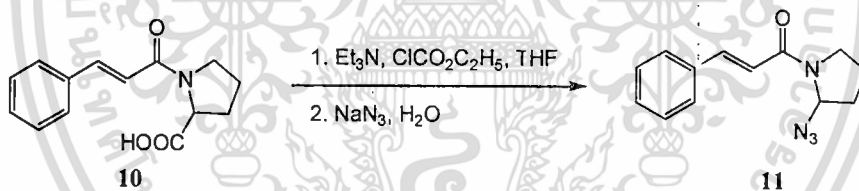
3.3.3 การทดลองที่ 3 การสังเคราะห์อโดรีน [62]

Scheme 1



การสังเคราะห์อโดรีนดัดแปลงมาจากวิธีของ Babidge และคณะ [62] เติมซินนาโมอิล คลอไรด์ 5.55 กรัม ที่ละลายลงในสารละลายของ L-(-)- โพลีน 3.20 กรัม (0.0278 โมล) ที่ละลายอยู่ในสารละลาย 1N ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส และทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย 2N กรดไฮโดรคลอริก และทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จะเกิดตะกอนสีขาว กรองตะกอน และล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น ตกผลึกใหม่โดยใช้เอทิลอะซิเตต-เฮกเซน จะได้กรด 10 เท่ากับ 3.52 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 62.41 เปอร์เซ็นต์ (Scheme 1) นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

Scheme 2



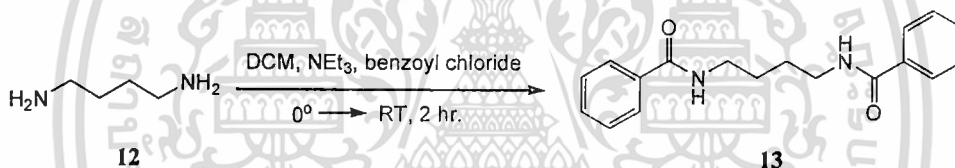
นำกรด 10 500.5 มิลลิกรัม (2.4655 มิลลิโมล) ละลายในเตตราไฮโดรฟิวแรนปราศจากน้ำ ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไนโตรเจน และทำการปั่นกวน จากนั้นเติมเอทิลเอมีน 0.46 มิลลิลิตร และเอทิล คลอโรฟอร์มเมต 0.32 มิลลิลิตร แล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นเติมสารละลายของโซเดียมเอไซด์ 215 มิลลิกรัม ในน้ำ 2 มิลลิลิตร แล้วทำการปั่นกวนต่อที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส 30 นาที จากนั้นนำมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 3 X 20 มิลลิลิตร รวมสารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทน แล้วคูดน้ำออกด้วยแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต กรองแยกสารชั้นไดคลอโรมีเทนและแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต แล้วระเหยไดคลอโรมีเทนออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้เอไซด์ 11 เท่ากับ 310.2 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 62.90 เปอร์เซ็นต์ (Scheme 2)

นำเอไซด์ 11 310.2 มิลลิกรัม ละลายในเตตราไฮโดรฟิวแรนปราศจากน้ำ 40 มิลลิลิตร แล้วทำการรีฟลักซ์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอไซด์ 11 จะถูกเปลี่ยนเป็นไอโซไซยานาต จากนั้นนำไอโซไซยานาตไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนต 250 มิลลิกรัม มาละลายในไนโตรไฮโดรฟลูออริกจากน้ำ 20 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม 2-บิวทิลแมกซีซีเอ็มคลอไรด์ในไดเอทิลอีเทอร์ (1.2 โมล) และทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน หยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำ 10 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สกัดของผสมด้วยเอทิลอะซิเตต 3 X 20 มิลลิลิตร รวมสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต แล้วคูลน้ำออกด้วยแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต กรองแยกสารชั้นเอทิลอะซิเตตและแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต และระเหยเอทิลอะซิเตตออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำของผสมมาทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ออโครีนถูกชะออกมาโดยใช้ตัวทำละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทิลอะซิเตต 80 : 20 และใช้เทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) เปรียบเทียบกับออโครีนที่สกัดแยกได้ด้วยระบบตัวทำละลายเฮกเซน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 4 : 6 จะได้ออโครีน 1 เท่ากับ 156.3 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 44.56 เปอร์เซ็นต์

3.3.4 การทดลองที่ 4 การสังเคราะห์บีเอสไมด์

3.3.4.1 การสังเคราะห์สาร 13



1. ชั่ง 1, 4-ไดอะมิโนบิวเทน 12 31.3 มิลลิกรัม (0.35 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน และทำการปั่นกวน
2. เติมไตรเอทิลามีน 0.049 มิลลิลิตร (0.35 มิลลิโมล) ลงในสารละลายข้อที่ 1 ปิดจุก แล้วนำขวดก้นกลมแช่ลงในอ่างน้ำแข็งเพื่อปรับอุณหภูมิให้เท่ากับ 0 องศาเซลเซียส แล้วทำการปั่นกวน
3. ค่อย ๆ เติมเบนโซอิลคลอไรด์ 0.0820 มิลลิลิตร (0.71 มิลลิโมล) ที่ละลายลงในสารละลายข้อที่ 1 ทำการปั่นกวนที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
4. เมื่อครบ 20 นาที นำอ่างน้ำแข็งออกแล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาโดยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายใน TLC chamber ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร
5. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หยุดปฏิกิริยาและนำสารละลายที่ได้ไปทำการสกัดล้าง เพื่อกำจัดสารตั้งต้นที่เหลือและสารผลิตภัณฑ์ข้างเคียงออก โดยการเติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายข้อที่ 1 และทำการปั่นกวน 10 นาที
6. จากนั้นนำสารที่ได้มาใส่กรวยแยก เติมไดคลอโรมีเทน 20 มิลลิลิตร เขย่ากรวยแยกเบา ๆ เป็นเวลา 2 นาที แล้วแยกสารชั้นไดคลอโรมีเทนเก็บไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่ไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สกัดล้างชั้นไดคอลลอโรมีเทนด้วยสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่ากรวยแยกเบา ๆ แล้วแยกสารชั้นไดคอลลอโรมีเทนเก็บไว้ ทั้งชั้นกรดไฮโดรคลอริก

8. นำสารชั้นไดคอลลอโรมีเทนมาสกัดล้างด้วยน้ำ 3 X 20 ครั้ง แล้วแยกชั้นไดคอลลอโรมีเทนออก ทั้งชั้นน้ำ

9. สกัดล้างชั้นไดคอลลอโรมีเทนด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว 20 มิลลิลิตร แยกสารสกัดชั้นไดคอลลอโรมีเทน ทั้งชั้นสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว

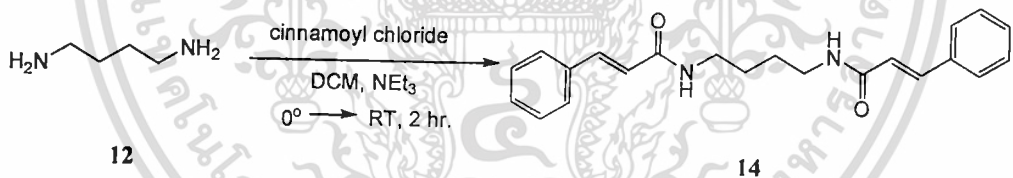
10. นำสารสกัดชั้นไดคอลลอโรมีเทนมาเติมโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ เพื่อกำจัดน้ำออกจากนั้นนำมากรองแยกชั้นสารละลายและโซเดียมซัลเฟต

11. นำชั้นสารสกัดชั้นไดคอลลอโรมีเทนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว จะได้ของแข็งสีขาว

12. นำของแข็งสีขาวที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไดคอลลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 99 : 1 โดยปริมาตร ได้สารผลิตภัณฑ์ 13 50.4 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 48.75 มีค่า R_f เท่ากับ 0.21 ระบบตัวทำละลายคือ ไดคอลลอโรมีเทน: เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 3

13. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.4.2 การสังเคราะห์สาร 14



1. สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร 14 ใช้ภายใต้สภาวะเดียวกับการสังเคราะห์สาร 13
2. ชั่ง 1, 4-ไดอะมิโนบิวเทน 12 100.0 มิลลิกรัม (1.1344 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดคอลลอโรมีเทน และทำการปั่นกวน
3. เติมไตรเอทิลามีน 0.106 มิลลิลิตร (1.524 มิลลิโมล) ลงในสารละลายข้อที่ 2
4. ค่อย ๆ เติมซินนามอยล์คลอไรด์ 226.7 มิลลิกรัม (1.3612 มิลลิโมล) ที่ละลายลงในสารละลายข้อที่ 1 ทำการปั่นกวนที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
5. เมื่อครบ 20 นาที นำอ่างน้ำแข็งออกแล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาโดยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายใน TLC chamber ไดคอลลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร

6. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หยุดปฏิกิริยาและนำสารละลายที่ได้ไปทำการสกัดล้าง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่หรือใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

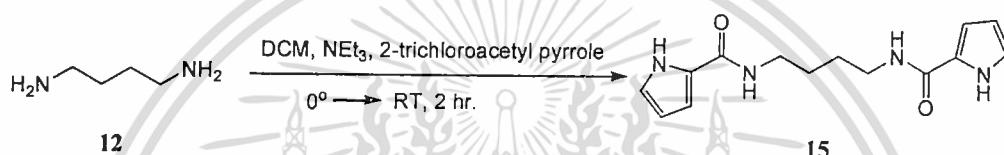
โดยใช้วิธีเดียวกับการสกัดล้างสาร 13

7. นำชั้นสารสกัดชั้นไคคลอโรมีเทนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว จะได้ของแข็งสีขาว

8. นำของแข็งสีขาวที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 99 : 1 โดยปริมาตร ได้สารผลิตภัณฑ์ 120.6 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์ 14 เท่ากับ 46.97 มีค่า R_f เท่ากับ 0.27 ระบบตัวทำละลายคือ ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 3

9. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.4.3 การสังเคราะห์สาร 15



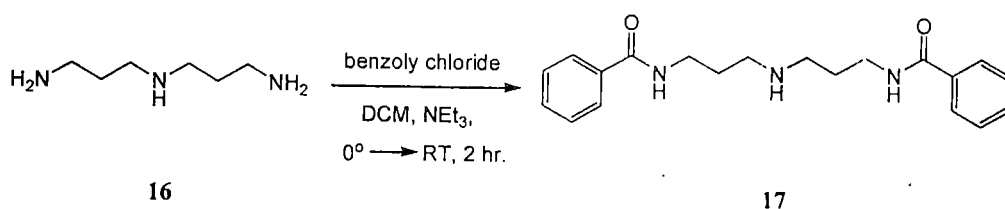
1. สภาพะที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร 15 ใช้ภายใต้สภาพะเดียวกับการสังเคราะห์สาร 13
2. ชั่ง 1, 4-ไดอะมีโนบิวเทน 12 100.0 มิลลิกรัม (1.1344 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไคคลอโรมีเทน และทำการปั่นกวน
3. เติมไตรเอทิลามีน 0.106 มิลลิลิตร (1.524 มิลลิโมล) ลงในสารละลายข้อที่ 2
4. ชั่ง 2-(ไทรคลอโรอะซิไทล)-ไพโรล 482.0 มิลลิกรัม ละลายในไคคลอโรมีเทน 5 มิลลิลิตร แล้วค่อยเติมทีละหยดลงในสารละลายข้อที่ 1 ทำการปั่นกวนที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
5. เมื่อครบ 20 นาที นำอ่างน้ำแข็งออกแล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาโดยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายใน TLC chamber ไคคลอโรมีเทน:เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 30 : 70 โดยปริมาตร
6. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หยุดปฏิกิริยาและนำสารละลายที่ได้ไปทำการสกัดล้าง โดยใช้วิธีเดียวกับการสกัดล้างสาร 13

7. นำชั้นสารสกัดชั้นไคคลอโรมีเทนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว จะได้ของแข็งสีขาว

8. นำของแข็งสีขาวที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 30 : 70 โดยปริมาตร ได้สารผลิตภัณฑ์ 15 118.6 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 38.04 มีค่า R_f เท่ากับ 0.27 ระบบตัวทำละลายคือ ไคคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 30 : 70

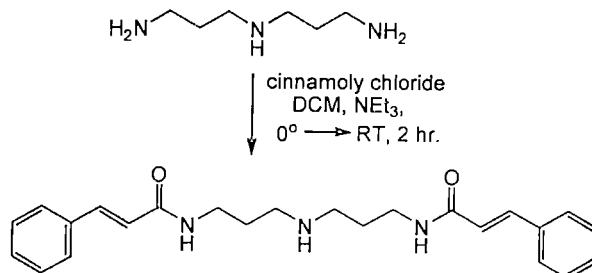
เอกสารนี้เป็น 9. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4.4 การสังเคราะห์สาร 17



1. สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร 17 ใช้ภายใต้สภาวะเดียวกับการสังเคราะห์สาร 13
2. ชั่งบีส(3-อะมิโน)ไพโรลิดีน 16 100.0 มิลลิกรัม (0.762 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน และทำการปั่นกวน
3. เติมไตรเอทิลามีน 0.106 มิลลิลิตร (1.524 มิลลิโมล) ลงในสารละลายข้อที่ 2
4. ค่อย ๆ เติมเบนโซอิลคลอไรด์ 0.088 มิลลิลิตร (0.762 มิลลิโมล) ที่หยดลงในสารละลายข้อที่ 1 ทำการปั่นกวนที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
5. เมื่อครบ 20 นาที นำอ่างน้ำแข็งออกแล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาโดยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายใน TLC chamber ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร
6. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หยุดปฏิกิริยาและนำสารละลายที่ได้ไปทำการสกัดล้าง โดยใช้วิธีเดียวกับการสกัดล้างสาร 13
7. นำชั้นสารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว จะได้ของแข็งสีขาว
8. นำของแข็งสีขาวที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 98 : 2 โดยปริมาตร ได้สารผลิตภัณฑ์ 17 142.7 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 55.25 มีค่า R_f เท่ากับ 0.19 ระบบตัวทำละลายคือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 3
9. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.4.5 การสังเคราะห์สาร 18



18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร 18 ใช้ภายใต้สภาวะเดียวกับการสังเคราะห์สาร 13
2. ชั่งบีส(3-อะมิโน)โพรพิล 16 100.0 มิลลิกรัม (0.762 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน และทำการปั่นกวน
3. เติมนไตรเอทิลามีน 0.106 มิลลิลิตร (1.524 มิลลิโมล) ลงในสารละลายข้อที่ 2
4. ค่อย ๆ เติมนินนาโมอิลคลอไรด์ 253.9 มิลลิกรัม (0.71 มิลลิโมล) ที่ละลายลงในสารละลายข้อที่ 1 ทำการปั่นกวนที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
5. เมื่อครบ 20 นาที นำอ่างน้ำแข็งออกแล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาโดยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายใน TLC chamber ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล อัตราส่วน 95 : 5 โดยปริมาตร
6. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หยุดปฏิกิริยาและนำสารละลายที่ได้ไปทำการสกัดล้าง โดยใช้วิธีเดียวกับการสกัดล้างสาร 13
7. นำชั้นสารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว จะได้ของแข็งสีขาว
8. นำของแข็งสีขาวที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 98 : 2 โดยปริมาตร ได้สารผลิตภัณฑ์ 18 107.2 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 35.95 มีค่า R_f เท่ากับ 0.57 ระบบตัวทำละลายคือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 95 : 5
9. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำบีสเอไมด์ที่ได้จากการสังเคราะห์มาทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ในการทดลองนี้เลือกพืชทดสอบคือ ผักโขมสวน (*Amaranthus tricolor*) เพราะจากการทดสอบการงอกของผักโขมสวนพบว่า มีอัตราการงอกมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบแบ่งออกเป็น 5 การทดลองย่อย โดยมีน้ำกลั่นและสารละลายทวิน 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นชุดควบคุม โดยในแต่ละการทดลองย่อยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำมี 6 วิธีการดังนี้

- วิธีการที่ 1 สารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 50 ppm
- วิธีการที่ 2 สารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 100 ppm
- วิธีการที่ 3 สารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 200 ppm
- วิธีการที่ 4 สารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 400 ppm
- วิธีการที่ 5 ชุดเปรียบเทียบน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการที่ 6 ชุดเปรียบเทียบสารละลายทวิน 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

3.3.6 การเตรียมสารละลายบีสเอไมด์

เนื่องจากบีสเอไมด์ที่ได้จากการสังเคราะห์มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำจึงเลือกใช้ทวิน 80 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ช่วยให้บีสเอไมด์มีความสามารถในการละลายในน้ำดีขึ้น โดยใช้ทวิน 80 ในอัตราส่วน 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร วิธีการเตรียมสารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 400 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีวิธีการดังนี้ ชั่งบีสเอไมด์ 4 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมทวิน 80 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ปิดจุกแช่ขวดวัดปริมาตรในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งเขย่าขวดวัดปริมาตรเบา ๆ จนกระทั่งบีสเอไมด์ละลายหมด จากนั้นปรับประมาณด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายบีสเอไมด์ที่มีความเข้มข้น 400 ppm

3.3.7 วิธีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

1. ปิเปตสารละลายบีสเอไมด์ความเข้มข้น 400 ppm ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด
2. วางเมล็ดผักโขมสวน จำนวน 10 เมล็ดต่อขวด ปิดปากขวดเพาะเมล็ดด้วยพาราฟิล์ม วางที่อุณหภูมิห้อง
3. การเตรียมสารละลายบีสเอไมด์ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 ppm เจือจางด้วยสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80

3.3.8 การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ โดยนับจำนวนการงอกของเมล็ด วัดความยาวต้นและความยาวรากที่ 7 วันหลังทำการเพาะเมล็ด โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีเรดิเคิล (radicle) งอกพื้นออกมายาว 2 มิลลิเมตร เป็นเมล็ดที่งอก นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การแยกออโดรีนจากใบประยงค์

ใบประยงค์ 12.55 กิโลกรัม ให้สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต 1,046.75 กรัม และสามารถแยกออโดรีนด้วยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟีได้ 5.19 กรัม (คิดเป็น 0.04 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากใบประยงค์) หรือคิดเป็น 1.3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต (สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต 139.95 กรัม แยกออโดรีนได้ 1.82 กรัม) ออโดรีนมีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน เมื่อตรวจสอบด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทิลอะซิเตต ในอัตราส่วน 4 : 6 มีค่า R_f เท่ากับ 0.46 จะพบออโดรีนจุดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) 254 nm เมื่อทดสอบออโดรีนด้วย anisaldehyde reagent จะพบจุดสีส้ม และเมื่อทำการตรวจสอบโครงสร้างของออโดรีนด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์พบว่าสอดคล้องกับรายงานของ Shienghong *et al.* [63] ดังแสดงในตารางที่ 4.1

4.2 การทดลองที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ของออโดรีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test

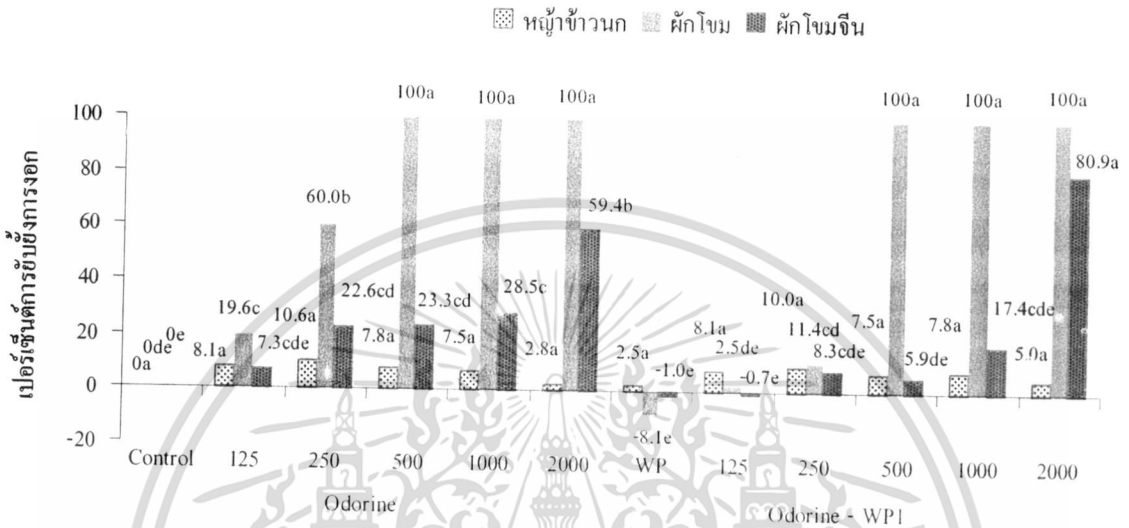
4.2.1 ผลของออโดรีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

จากการทดลองพบว่า ฤทธิ์ผลของออโดรีนและออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของหญ้าข้าวนกที่ 7 วันหลังทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก

ผลของออโดรีนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.2 พบว่า ออโดรีนไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น ส่วนผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.3 และ 4.4) พบว่า ออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 43.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 38.8 และ 38.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ทางด้านกรยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.3 และ 4.4) พบว่าออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 78.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 74.3 และ 71.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น



รูปที่ 4.2 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก ผักโขม และผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT (p = 0.05)

ผลของออโดรีน-WP1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

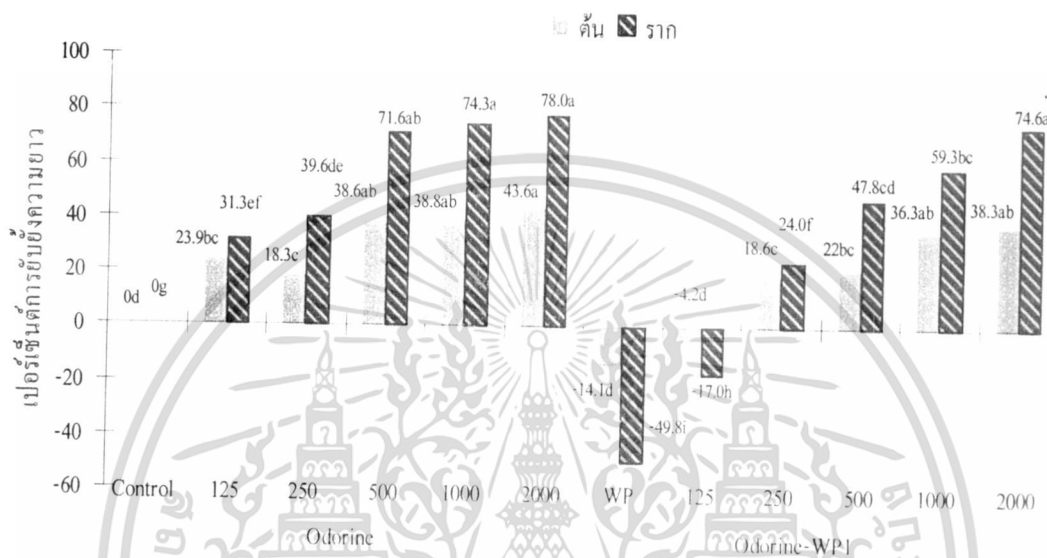
จากรูปที่ 4.2 พบว่าออโดรีน-WP1 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น ส่วนผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.3 และ 4.5) พบว่าออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 38.3 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 36.3 และ 22.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ทางด้านกรยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.3 และ 4.5) พบว่าออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 74.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 59.3 และ 47.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

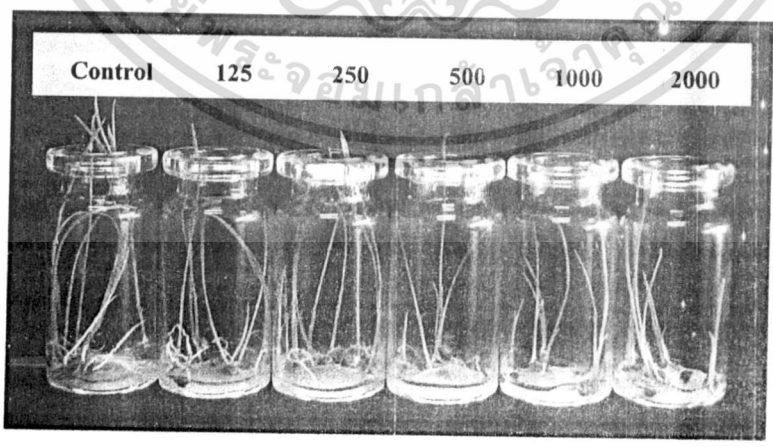
นอกจากนี้ยังพบว่า WP1 (รูปที่ 4.3 และ 4.5) สามารถส่งเสริมความยาวรากของหญ้า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวหนักได้ 49.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น ส่วนผลต่อความยาวต้นไม่มี ความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกับการเพาะในน้ำกลั่น

จากการเปรียบเทียบศักยภาพระหว่างออโครีนกับออโครีน-WP1 พบว่า ออโครีน สามารถออกฤทธิ์กับหญ้าข้าวหนักได้ดีกว่าออโครีน-WP1 โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตที่ระดับ ความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ออโครีน-WP1 ไม่มีผลเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

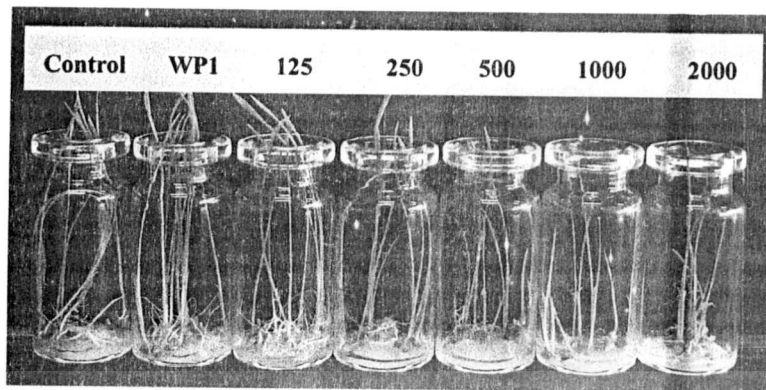


รูปที่ 4.3 ผลของออโครีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของหญ้าข้าวหนักที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT (p = 0.05)



รูปที่ 4.4 ผลของออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2.000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวหนักที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

4.2.2 ผลของออโครีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขม

จากการทดลองพบว่า อิทธิพลของออโครีนและออโครีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ด ความยาวต้นและรากของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของออโครีนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขม

จากรูปที่ 4.2 พบว่าออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 60.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.6 และ 4.7) พบว่าออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 47.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น ส่วนการยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.6 และ 4.7) พบว่าออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 50.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ผลของออโครีน-WP1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขม

จากรูปที่ 4.2 พบว่าออโครีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งการงอกได้ 11.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

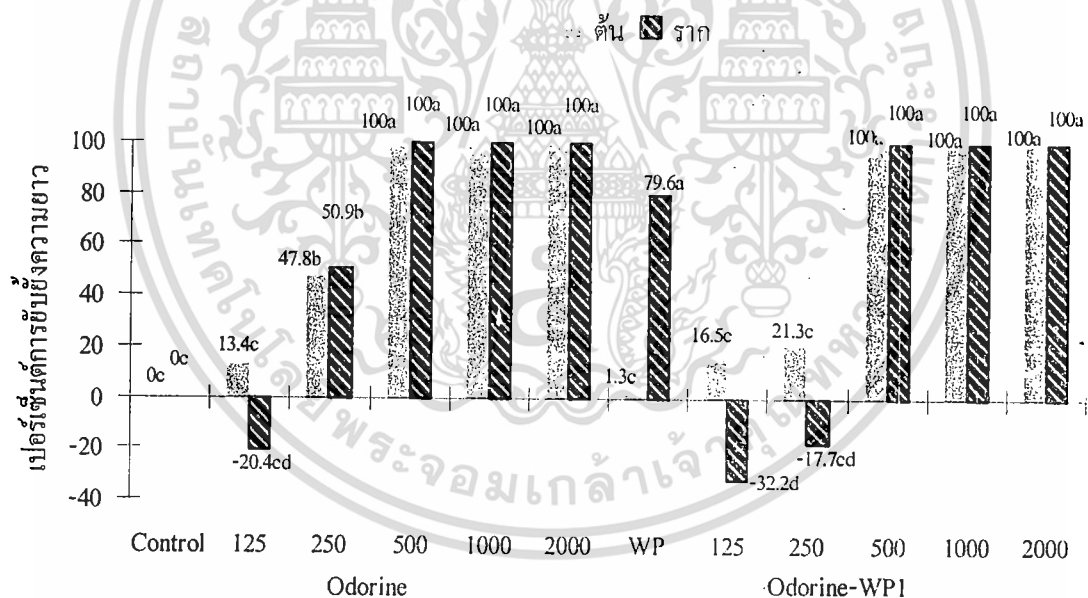
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.6 และ 4.8) พบว่าออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 21.3 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

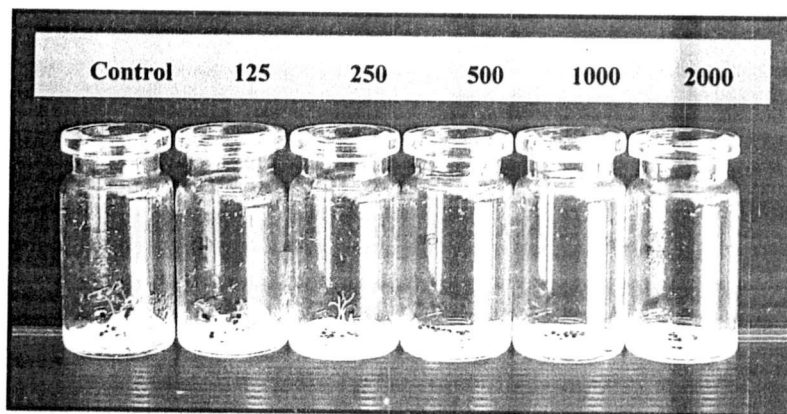
ส่วนการยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.6 และ 4.8) พบว่าออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ ส่วน WP1 ยับยั้งความยาวรากได้ 79.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

นอกจากนี้พบว่าออโดรีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 และ 250 ppm สามารถส่งเสริมความยาวรากได้ 32.2 และ 17.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

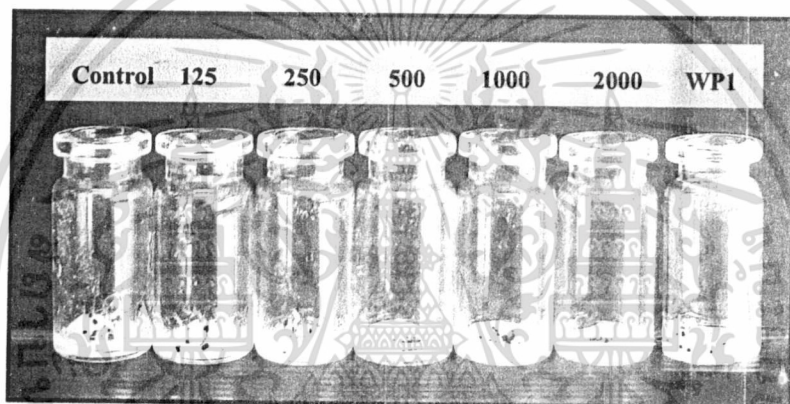
จากการเปรียบเทียบศักยภาพระหว่างออโดรีนกับออโดรีน-WP1 พบว่า ออโดรีนสามารถออกฤทธิ์กับผักโขมได้ดีกว่าออโดรีน-WP1 โดยสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ออโดรีน-WP1 ยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไป



รูปที่ 4.6 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WP1 ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้นและรากของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT ($p = 0.05$)



รูปที่ 4.7 ผลของออดีรีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ



รูปที่ 4.8 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออดีรีนในรูป WPI ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

4.2.3 ผลของออดีรีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออดีรีนในรูป WPI ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

จากการทดลองพบว่า อิทธิพลของออดีรีนและออดีรีน-WPI ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ด ความยาวต้นและรากของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของออดีรีนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.2 พบว่า ออดีรีนที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด 59.4 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 500 และ 250 ppm ยับยั้งการงอกได้ 28.5 23.3 และ 22.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น

ผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.9 และ 4.10) พบว่าออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ดีที่สุด 90.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 59.4 และ 55.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ส่วนการยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.9 และ 4.10) พบว่าออโครีนที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากของผักโขมจีนได้ดีที่สุด 89.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 500 250 และ 125 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 85.1 76.8 55.4 และ 34.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ผลของออโครีน-WP1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

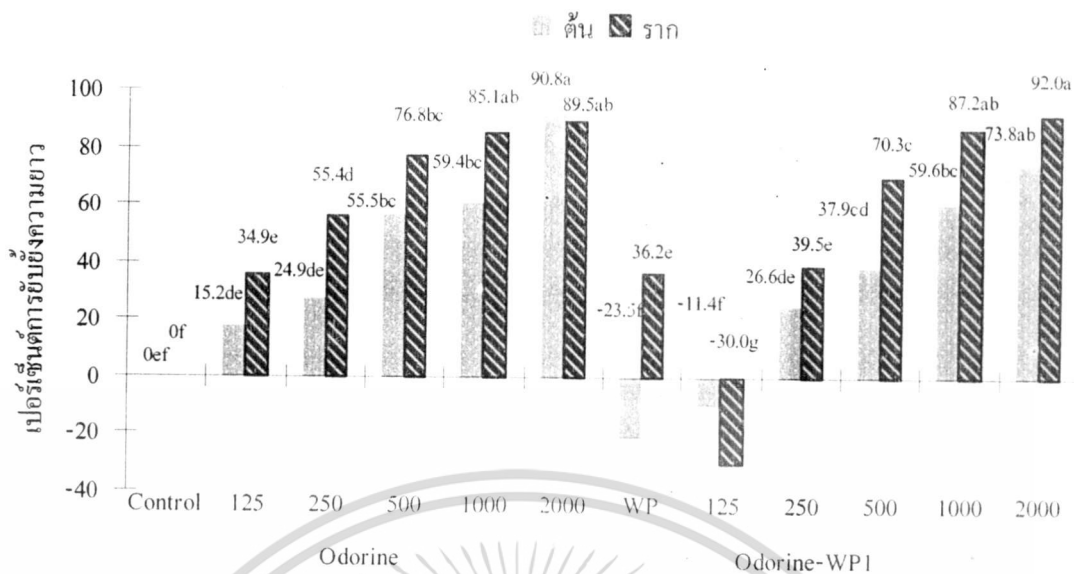
จากรูปที่ 4.2 พบว่าออโครีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด 80.9 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งการงอกได้ 17.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

ผลการยับยั้งความยาวต้น (รูปที่ 4.9 และ 4.11) พบว่าออโครีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ดีที่สุด 73.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 59.6 และ 37.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

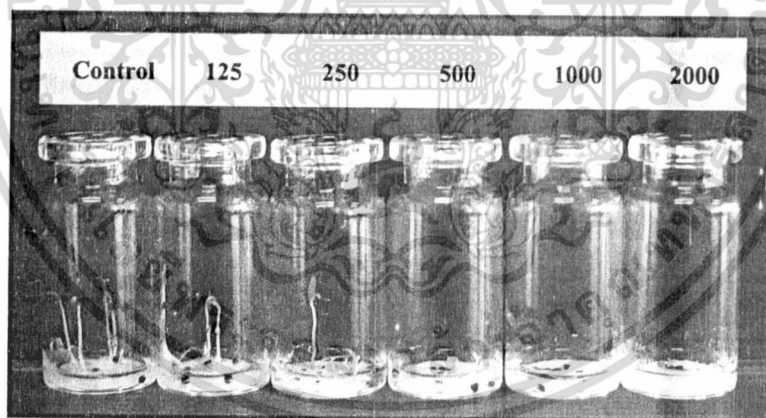
ส่วนการยับยั้งความยาวราก (รูปที่ 4.9 และ 4.11) พบว่าออโครีน-WP1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากของผักโขมจีนได้ดีที่สุด 92.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 500 250 ppm และ WP1 ยับยั้งความยาวรากได้ 87.2 70.3 39.5 และ 36.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

จากการเปรียบเทียบศักยภาพระหว่างออโครีนกับออโครีน-WP1 พบว่า ออโครีนสามารถออกฤทธิ์กับผักโขมจีนได้ดีกว่าออโครีน-WP1 โดยสามารถยับยั้งการงอกได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ออโครีน-WP1 ยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ทางด้านความยาวราก ออโครีนยับยั้งที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ออโครีน-WP1 ยับยั้งที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไป ส่วนทางด้านความยาวต้น ทั้งออโครีนและออโครีน-WP1 สามารถยับยั้งได้เท่ากันที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไป

นอกจากนี้ยังพบว่า ออโครีนสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งความยาวรากพืชทดสอบ (หญ้าข้าวนก ผักโขม และผักโขมจีน) ได้ดีกว่าความยาวต้น และพบว่าพืชทดสอบที่มีเมล็ดขนาดเล็ก ได้แก่ ผักโขม ถูกยับยั้งได้ดีกว่าพืชทดสอบที่มีเมล็ดขนาดใหญ่ ได้แก่ หญ้าข้าวนกและผักโขมจีน



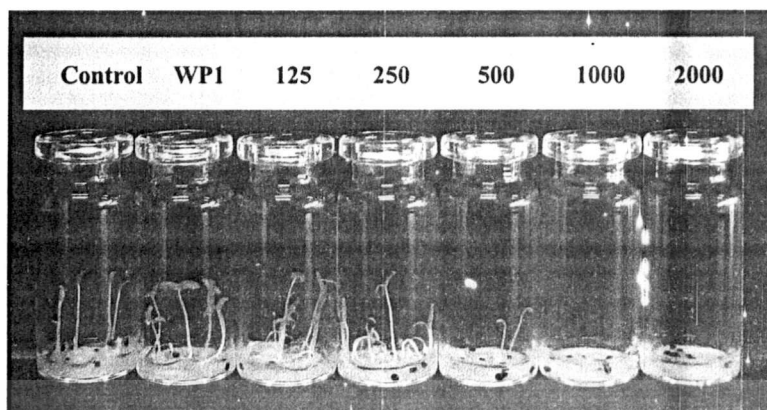
รูปที่ 4.9 ผลของออโดรีนและรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WPI ต่อเปอร์เซ็นต์การขยับไขความยาวต้นและรากของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT ($p = 0.05$)



รูปที่ 4.10 ผลของออโดรีนที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

จากการนำออโดรีนมาทำเป็นรูปผลิตภัณฑ์ในรูป WPI นั้น เพื่อให้ออโดรีนสามารถแขวนลอยตัวในน้ำได้มากขึ้นหรือสามารถละลายน้ำได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากออโดรีนไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในเมทานอล โดยคาดว่าประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของออโดรีนที่มีต่อพืชทดสอบจะมากขึ้น แต่จากผลการทดลองพบว่า รูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WPI ออกฤทธิ์ยับยั้งพืชทดสอบได้น้อยกว่าออโดรีน ซึ่งคาดว่า WPI อาจดูดซับออโดรีนไว้ทำให้การออกฤทธิ์ลดลง

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

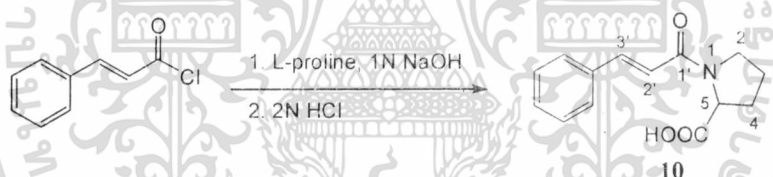


รูปที่ 4.11 ผลของรูปผลิตภัณฑ์ของออโดรีนในรูป WPI ที่ระดับความเข้มข้น 125-2,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

4.3 การทดลองที่ 3 การสังเคราะห์ออโดรีน

การสังเคราะห์ออโดรีนคัดแปลงมาจากวิธีของ Babidge และคณะ [62] โดยเริ่มจากการสังเคราะห์ กรด 10 เท่ากับ 3.52 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 62.41 เปอร์เซ็นต์

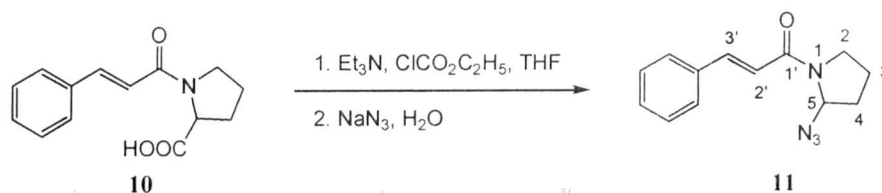
Scheme 1



ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.3 (br. s, 1H, COOH), 7.60 (d, 1H, H-3', $J = 15.4$ Hz), 7.50 (m, 6H, aromatic และ H-2'), 1.62-2.30 (m, 2H, H-3 และ H-4), 3.00-3.80 (m, 1H, H-5) และ 5.78 (m, 1H, H-5)

เมื่อนำกรด 10 ทำปฏิกิริยากับเอทิล คลอโรฟอร์มเมต ที่มีเอทิลเอมีนอยู่ จากนั้นเติมสารละลายของโซเดียมไฮไดรด์ในน้ำ จะได้ไฮไดรด์ 11 เท่ากับ 310.2 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 62.90 เปอร์เซ็นต์ (Scheme 2) ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันโดยเทคนิคอินฟราเรดพบพีคที่ ν_{max} 2100, 1730 และ 1653 cm^{-1}

Scheme 2



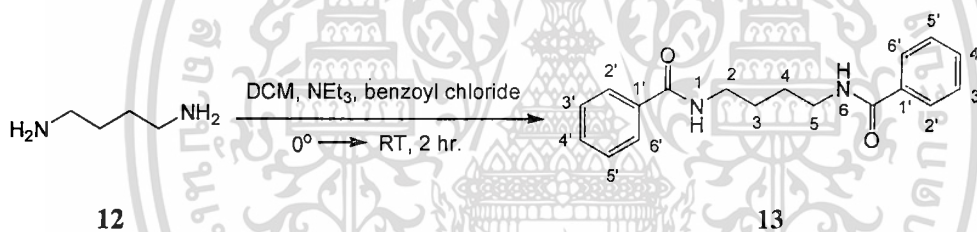
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไฮไซด์ 11 ละลายในเตตราไฮโดรฟิวแรนปราศจากน้ำ และทำการรีฟลักซ์ ไฮไซด์ 11 จะถูกเปลี่ยนเป็นไอโซไซยานเนต จากนั้นนำไอโซไซยานเนตละลายในในเตตราไฮโดรฟิวแรนปราศจากน้ำ และทำปฏิกิริยากับ 2-บิวทิลแมกซีเซียมคลอไรด์ในไดเอทิลอีเทอร์ เมื่อครบกำหนดเวลาทำการหยุดปฏิกิริยาและสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต นำของผสมมาทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ออโดรีนถูกชะออกมาโดยใช้ตัวทำละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทิลอะซิเตต 80 : 20 และใช้เทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) เปรียบเทียบกับออโดรีนที่สกัดแยกได้ด้วยระบบตัวทำละลายเฮกเซน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 4 : 6 จะได้ออโดรีน 1 เท่ากับ 156.3 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 44.56 เปอร์เซ็นต์ ข้อมูลเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีของออโดรีนสอดคล้องกับรายงานของ Shienghong *et al.* [63]

4.4 การทดลองที่ 4 การสังเคราะห์บีเอสเอไมด์

4.4.1 การสังเคราะห์สาร 13

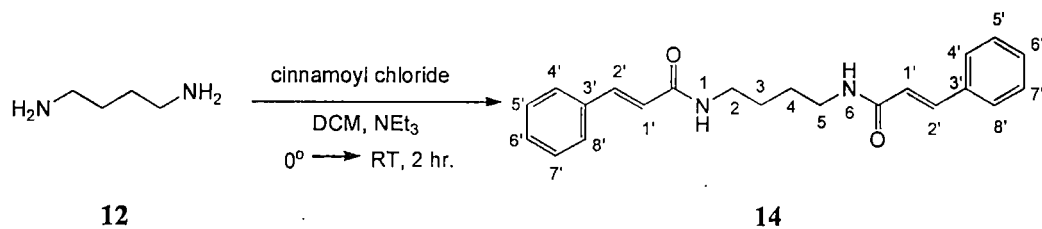
นำ 1, 4-ไดอะมิโนบิวเทน 12 มาทำปฏิกิริยากับเบนโซอิลคลอไรด์ ตามสมการดังนี้



ทดสอบการเกิดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร ปรากฏมีการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จุดของสารผลิตภัณฑ์อยู่สูงกว่าสารตั้งต้นแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีความมีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น แยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 99 : 1 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.21 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 7.80 (d, 4H, H-2' และ H-6'), 7.46 (m, 6H, H-3', H-4' และ H-5'), 3.40 (t, 4H, H-2 และ H-5) และ 1.70 (t, 4H, H-3 และ H-4) ; ^{13}C NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 170.1 (-CONH), 135.5 (C-4'), 132.3 (C-2' และ C-6'), 129.3 (C-3' และ C-5'), 128.0 (C-1'), 40.4 (C-2 และ C-5) และ 27.7 (C-3 และ C-4); ES-MS m/z [M^+] 297.58 (1%)

4.4.2 การสังเคราะห์สาร 14

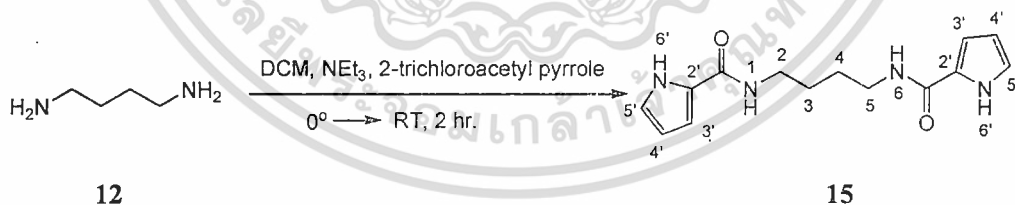
นำ 1, 4-ไดอะมิโนบิวเทน 12 มาทำปฏิกิริยากับซินนาโมอิลคลอไรด์ ตามสมการดังนี้
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ทดสอบการเกิดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร ปรากฏมีการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จุดของสารผลิตภัณฑ์อยู่สูงกว่าสารตั้งต้นแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีความมีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น แยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.27 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 7.65 (d, 2H, H-3', $J = 15.2$), 7.50 (m, 4H, H-4' และ H-5'), 7.30 (m, 6H, H-6', H-7' และ H-8') 6.70 (d, 2H, H-1', $J_{\text{HH}2} = 15.2$), 3.45 (t, 4H, H-2 และ H-5) และ 1.65 (t, 4H, H-3 และ H-4); $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 164.5 (-CONH), 127.9 (C-2'), 123.9 (C-3'), 112.7 (C-4'), 40.4 (C-2 และ C-5) และ 27.7 (C-3 และ C-4); ES-MS m/z [M^+] 350.58 (3%)

4.4.3 การสังเคราะห์สาร 15

นำ 1, 4-ไดอะมิโนอีเทน 12 มาทำปฏิกิริยากับ 2-ไตรคลอโรอะซิetyl pyrrole ตามสมการดังนี้



ทดสอบการเกิดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไคคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร ปรากฏมีการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จุดของสารผลิตภัณฑ์อยู่สูงกว่าสารตั้งต้นแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีความมีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น แยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.27 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ

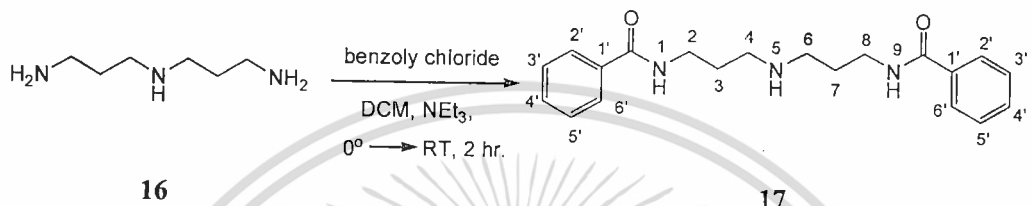
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 6.90 (d, 2H, H-3'), 6.80 (t, 2H, H-5'), 6.20 (t, 2H, H-4'),

เอกสารนี้เป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่ากรรมใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.37 (t, 4H, H-2 และ H-5) และ 1.65 (t, 4H, H-3 และ H-4) ; ^{13}C NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 164.5 (-CONH), 127.9 (C-2'), 123.9 (C-3'), 112.7 (C-4'), 40.4 (C-2 และ C-5) และ 27.7 (C-3 และ C-4)

4.4.4 การสังเคราะห์สาร 17

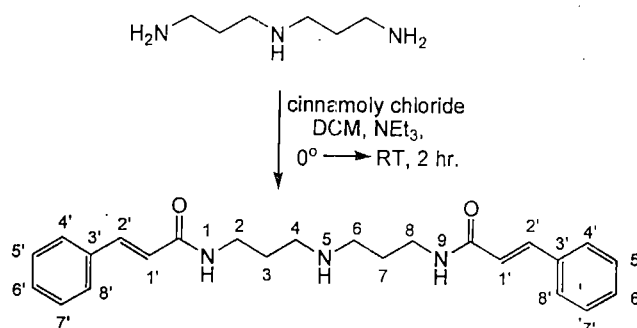
นำ บีส(3-อะมิโนโพรพิล) 16 มาทำปฏิกิริยากับเบนโซอิลคลอไรด์ ตามสมการดังนี้



ทดสอบการเกิดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 97 : 3 โดยปริมาตร ปรากฏมีการดุดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จุดของสารผลิตภัณฑ์อยู่สูงกว่าสารตั้งต้นแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีความมีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น แยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 98 : 2 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.19 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (m, 4H, H-2' และ H-6'), 7.70 (m, 2H, H-4'), 7.45 (m, 4H, H-3' และ H-5'), 3.60 (t, 2H, H-2 และ H-8) 3.06 (t, 4H, H-4 และ H-6) และ 3.10 (m, 4H, H-3 และ H-7) ; ^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 168.6 (-CONH), 132.1 (C-4'), 128.7 (C-2' และ C-6') 127.1 (C-3' และ C-5') 123.5 (C-1'), 46.0 (C-2), 45.5 (C-8), 36.4 (C-3), 34.5 (C-7), 26.4 (C-4) และ 25.7 (C-6) ; EI-MS m/z [M^+] 339.1 (2%)

4.4.5 การสังเคราะห์สาร 18

นำ บีส(3-อะมิโนโพรพิล) 16 มาทำปฏิกิริยากับซินนาโมอิลคลอไรด์ ตามสมการดังนี้



18

ทดสอบการเกิดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 95 : 5 โดยปริมาตร ปรากฏมีการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จุดของสารผลิตภัณฑ์อยู่สูงกว่าสารตั้งต้นแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีความมีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น แยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทน : เมทานอล อัตราส่วน 95 : 5 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.57 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ข้อมูลที่ได้คือ ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 - CD_3OD) δ 7.60 (d, 2H, H-2', $J = 15.4$ Hz), 7.50 (m, 4H, H-4' และ H-5'), 7.35 (m, 6H, H-6', H-7' และ H-8'), 6.75 (d, 2H, H-1', $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'} = 15.4$ Hz), 3.36 (m, 8H, H-2, H-8, H-4 และ H-6) และ 1.81 (t, 4H, H-3 และ H-7); ^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3 - CD_3OD) δ 165.3 และ 163.30 (-CONH), 142.7 (C-2'), 141.1 (C-1'), 138.6 (C-4'), 130.7 (C-5' และ C-7'), 129.3 (C-6' และ C-8'), 128.1 (C-7'), 121.1, 121.8 (C-2'), 46.4 (C-2), 43.7 (C-8), 37.3 (C-3), 36.5 (C-7), 30.3 (C-4) และ 29.9 (C-6); EI-MS m/z [M^+] 390.12 (7.6%)

4.5 ผลของบีสเอไมด์ต่อการงอกของฝักโขมสวน

จากการเปรียบเทียบผลของบีสเอไมด์ต่อการงอกของเมล็ดฝักโขมสวนที่ระดับความเข้มข้น 50 100 200 และ 400 ppm ไม่มีผลยับยั้งต่อการงอกของเมล็ดฝักโขมสวนเมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะในน้ำกลั่น (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลของบีสเอไมด์ต่อการงอกของเมล็ดผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด

ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%) บีสเอไมด์				
	13	14	15	17	18
ทวิน 80	95a	95a	97.5 a	95 a	100 a
0	100a	100a	100 a	100 a	92.5 a
50	100a	100a	95 a	100 a	92.5 a
100	95a	96.7a	95 a	97.5 a	92.5 a
200	97.5a	93.5a	95 a	97.5 a	90 a
400	92.5a	81b	97.5 a	97.5 a	90 a

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT
($p = 0.05$)

I = % การยับยั้ง

4.6 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของต้นกล้าผักโขมสวน

จากตารางที่ 4.3 แสดงผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของผักโขมสวนพบว่า บีสเอไมด์ 13 ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวต้นโดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 30.0 เปอร์เซ็นต์ บีสเอไมด์ 14 สามารถยับยั้งความยาวต้นตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 31.3 เปอร์เซ็นต์ บีสเอไมด์ 15 มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 16.0 เปอร์เซ็นต์ บีสเอไมด์ 18 มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 31.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่บีสเอไมด์ 17 สามารถยับยั้งความยาวต้นที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ได้ 20.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการเพาะในน้ำกลั่น

ตารางที่ 4.3 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของต้นกล้าผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด

ความ เข้มข้น (ppm)	บีสเอไมด์									
	13		14		15		17		18	
	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)
ทวิน 80	1.2 a	0	1.1 a	0	1.1 a	0	0.99 a	2.9	0.93 a	0
0	1.2 a	0	1.0 a	0	1.0 a	0	1.02 a	0	0.92 a	0
50	1.0 b	24.0	1.6 a	-8.0	1.0 a	0	0.94 a	7.8	0.84 a	8.6
100	1.0 b	24.0	12.8 b	7.8	1.0 a	0	0.98 a	3.9	0.72 b	21.7
200	1.0 b	24.0	0.24 c	24.9	0.87 b	13.0	0.96 a	5.8	0.65 b	29.3
400	0.84 c	30.0	0.31 d	31.3	0.84 c	16.0	0.81 b	20.1	0.63 b	31.5

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT

($p = 0.05$)

I = % การยับยั้ง

4.7 ผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าผักโขมสวน

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลของบีสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของผักโขมสวนพบว่า บีสเอไมด์ 13 ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวรากโดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 42.8 เปอร์เซ็นต์ บีสเอไมด์ 14 สามารถยับยั้งความยาวรากตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 200-400 ppm มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากมากเท่ากับ 79.9 และ 82.3 ppm ตามลำดับ บีสเอไมด์ 15 มีผลต่อการยับยั้งความยาวรากตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 41.2 เปอร์เซ็นต์ บีสเอไมด์ 17 และ 18 มีผลต่อการยับยั้งความยาวรากที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 34.7 และ 27.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

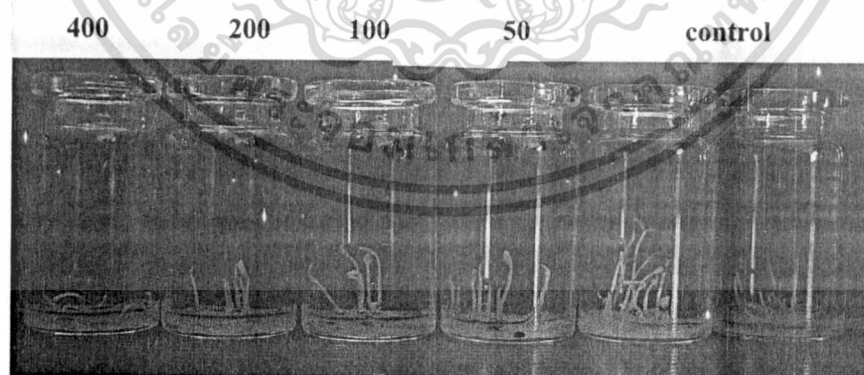
ตารางที่ 4.4 ผลของบิสเอไมด์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นกล้าผักโขมสวน 7 วัน หลังการเพาะเมล็ด

ความ เข้มข้น (ppm)	บิสเอไมด์									
	13		14		15		17		18	
	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)	ความ ยาวต้น (ซ.ม.)	I (%)
ทวิน 80	1.4 a	0	1.4a	0	1.7 a	0	1.4 ab	6.7	1.4 a	-7.7
0	1.4 a	0	1.4a	0	1.7 a	0	1.5 a	0	1.3 ab	0
50	1.1 b	21.4	0.73 b	59.4	1.7 a	0	1.3 bc	13.3	1.4 ab	-7.7
100	1.0 b	28.6	0.59 c	70.8	1.4 b	17.6	1.4 ab	6.7	1.2 abc	7.7
200	1.1 b	21.4	0.48 d	79.9	1.4 b	17.6	1.1 cd	27.7	1.1 bc	15.4
400	0.81 b	42.8	0.34 d	82.3	1.0 c	41.2	0.98 d	34.7	0.94 c	27.7

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT

(p = 0.05)

I = % การยับยั้ง



รูปที่ 4.12 ผลของบิสเอไมด์ 14 ที่ระดับความเข้มข้น 50-400 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมสวนที่ 7 วันหลังทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1.1 การแยกออโครีนจากใบประยงค์

จากผลการทดลองที่ 1 สามารถสกัดแยกออโครีนจากใบประยงค์ได้ 1.3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต 139.95 กรัม แยกออโครีนได้ 1.82 กรัม) หรือคิดเป็น 0.04 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากใบประยงค์แห้ง (ใบประยงค์แห้ง 12.55 กรัม แยกออโครีนได้ 5.19 กรัม)

5.1.2 การทดสอบฤทธิ์ของออโครีน และรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test

เมื่อนำออโครีนไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลิโลพาที่ด้วยวิธี Vial Test พบว่า ออโครีนสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm แต่เนื่องจากออโครีนบริสุทธิ์ละลายได้ดีในเมทานอลเท่านั้น การจะนำออโครีนไปประยุกต์ใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชได้ต้องทำให้ออโครีนสามารถละลายน้ำได้ โดยการทำให้รูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนกับ WP (wetable powder) ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้และสามารถนำไปใช้ได้จริง งานวิจัยนี้จึงมีการศึกษาการใช้ WP ได้แก่ WP1 และ WP2 กับออโครีน โดยพบว่า ออโครีน-WP2 มีประสิทธิภาพมากกว่าออโครีน-WP1 และออโครีน ซึ่งทำให้ออโครีน-WP2 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งพืชทดสอบได้มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 5.1) โดยอาจเป็นผลจากเซอฟแลคแทนท์ S2 ใน WP2 ที่มีส่วนทำให้ออโครีน-WP2 สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าออโครีน-WP1

นอกจากนี้จากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นว่า ออโครีนสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งความยาวรากของพืชทดสอบได้ดีกว่าความยาวต้น และพบว่าขนาดเมล็ดของพืชทดสอบมีส่วนเกี่ยวข้องกับ การออกฤทธิ์ของออโครีน โดยพืชทดสอบที่มีเมล็ดขนาดเล็ก ได้แก่ ผักโขม สามารถตอบสนองต่อออโครีนได้ดีกว่าพืชทดสอบที่มีเมล็ดขนาดใหญ่ ได้แก่ ผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก ซึ่งอาจเป็นเพราะเมล็ดขนาดใหญ่สามารถต้านทานสารพิษได้มากกว่าเมล็ดขนาดเล็ก สอดคล้องกับรายงานของยังยง [54] ที่ทำการเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์กับพืชทดสอบ 30 ชนิดพบว่า เมล็ดพืชทดสอบที่มีขนาดเล็ก เช่น หญ้าปากควายและผักกวางตุ้ง สามารถตอบสนองต่อสารทดสอบได้ดีกว่าเมล็ดขนาดใหญ่ เช่น ข้าวโพดและถั่วเขียว และยังสอดคล้องกับรายงานของ Burgos and Talbert [64] ที่พบว่าอัลลิโลเคมีคัลจากข้าวไรย์จะมีผลต่อเมล็ดพืชที่มีขนาดเล็กและไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดกลางเท่านั้น ซึ่งเมล็ดพืชที่มีขนาดใหญ่ ได้แก่ squash และข้าวโพดจะมีความต้านทานต่อสารสกัดมาก

ตารางที่ 5.1 สรุปผลความเข้มข้นของออโครีน รูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 และ WP2 ที่มีต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารทดสอบ	พืชทดสอบ : หนุ่ข้าวฉวนก					
	การงอก		ความยาวต้น		ความยาวราก	
	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง
ออโครีน	-	-	125-2,000	23.9-43.6	125-2,000	31.3-78.0
ออโครีน-WP1	-	-	-	-	-	-
ออโครีน-WP2	2,000	10.3	2,000	52.2	250-2,000	30.4-90.5
สารทดสอบ	พืชทดสอบ : ผักโขม					
	การงอก		ความยาวต้น		ความยาวราก	
	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง
ออโครีน	125-2,000 (500*)	19.6-100	250-2,000 (500*)	47.8-100	250-2,000 (500*)	50.9-100
ออโครีน-WP1	500*- 2,000	100	500*- 2,000	100	500*- 2,000	100
ออโครีน-WP2	125-2,000 (250*)	68.0-100	250*- 2,000	100	250*- 2,000	100
สารทดสอบ	พืชทดสอบ : ผักโขมจีน					
	การงอก		ความยาวต้น		ความยาวราก	
	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง	[] (ppm)	% การยับยั้ง
ออโครีน	250-2,000	22.6-59.4	500-2,000	55.5-90.8	125-2,000	34.9-89.5
ออโครีน-WP1	2,000	80.9	500-2,000	37.9-73.8	250-2,000	39.5-92.0
ออโครีน-WP2	500- 2,000*	30.8-100	250- 2,000*	28.4-100	125- 2,000*	16.6-100

[] หมายถึง ความเข้มข้น

* หมายถึง ความเข้มข้นที่เริ่มยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์

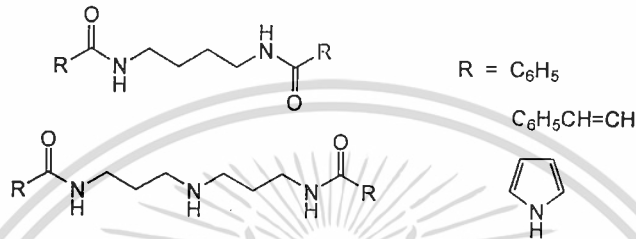
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.3 การสังเคราะห์อโดรีน

สามารถสังเคราะห์อโดรีนโดยตัดแปลงมาจากวิธีของ Babidge และคณะ [62] ได้เปอร์เซ็นต์ของอโดรีนเท่ากับ 44.56 เปอร์เซ็นต์

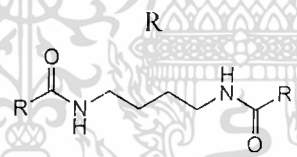
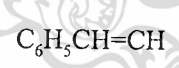

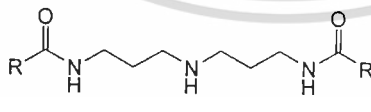
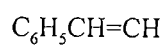
5.1.4 การสังเคราะห์บีสเอไมด์

สามารถสังเคราะห์บีสเอไมด์มีโครงสร้างหลักดังนี้



และสรุปเปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบีสเอไมด์

บีสเอไมด์	เปอร์เซ็นต์สารผลิตภัณฑ์
	48.75
	46.97
	38.04
	55.25
	35.95

5.1.5 การทดสอบฤทธิ์ของบีสเอไมด์ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมสวน ด้วยวิธี Vial Test

จากการทดลองพบว่าผลของบีสเอไมด์ ต่อการงอกของเมล็ดผักโขมสวนไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดผักโขมสวนที่ระดับความเข้มข้น 50 100 200 และ 400 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะในน้ำกลั่น แต่เมื่อพิจารณาด้านการเจริญเติบโต พบว่าบิสเฮไมด์มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมสวน โดยที่บิสเฮไมด์ 14 มีผลต่อความยาวต้นที่ระดับความเข้มข้น 100-400 ppm และมีผลต่อความยาวรากตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ขึ้นไป เนื่องจากบิสเฮไมด์ละลายได้ยากในน้ำ ควรหาตัวช่วยละลายที่ดีกว่าทวิน 80 เพื่อให้เมล็ดพืชได้สัมผัสกับสารอย่างมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ ควรมีการทดลองถึงการออกฤทธิ์ของออโครีนในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลองที่จำลองสภาพจริงตามธรรมชาติให้มากกว่านี้ ซึ่งการสังเคราะห์ออโครีนนี้จะเป็นส่วนช่วยเป็นแหล่งการเพิ่มแหล่งวัตถุดิบได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] พรชัย เหลืองอากาศพงศ์. การใช้สารกำจัดวัชพืช. เชียงใหม่ : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2537.
- [2] Copping, L.G. **Crop Protection Agents from Nature : Natural Products and Analogues.** The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K. 1996.
- [3] Rodcharoen, J., S. Wongsiri and M.S. Mulls. **Biopesticides: Toxicity, Safety, Development and Proper Use.** Proceedings First International Symposium on Biopesticides. Chulalongkorn University Press, Bangkok, Thailand. 1997.
- [4] ปรีชา ธรรมานนท์. “ผลของน้ำที่สกัดจากเหง้าหูกาคาที่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดไม้บางชนิดที่คอกปุ๋ย” เชียงใหม่. บันทึกรวบรวมฉบับที่ 16 คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 2516.
- [5] พิสมัย ฤทธิพิศ. “ผลการแก่งแย่งและอัลโลพาธิคของวัชพืชบางชนิดที่มีผลต่อกวैयाว” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 2527.
- [6] ช่อม เปรมชัย และ ศิริพร ซึ่งสนธิพร. “การศึกษาผลของสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่มีในต้นงา” วารสารข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2531. 1 (3) : 3
- [7] ช่อม เปรมชัย. “สารพิษจากต้นงาต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช” วารสารข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2533. 3 (1) : 8.
- [8] ช่อม เปรมชัย และ ศิริพร ซึ่งสนธิพร. “อิทธิพลของสารสกัดจากผักปลอดนาต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช” วารสารข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2533. 1(3) : 3.
- [9] ศิริพร ซึ่งสนธิ. “ผลทางอัลโลพาธิคต่อการเกษตร” วิทยาสารวัชพืช. 2535. 2 (1) : 40-58.
- [10] ศิริพร ซึ่งสนธิ และช่อม เปรมชัย. “ผลของสารสกัดจากวัชพืชสามหมา (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) ต่อการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด” หน้า 58 ในรายงานการประชุมวิชาการเรื่องพฤกษศาสตร์ พืชสมุนไพร เครื่องเทศและวัชพืช. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 2536.
- [11] ช่อม เปรมชัย และ ศิริพร ซึ่งสนธิพร. “ผลของสารสกัดจากผักเบี้ยหิน (*Triantinema portulacastrum* Linn.) ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพืชบางชนิด” หน้า 14-21 ในรายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการเรื่องความก้าวหน้างานวิจัยและความหลากหลายทางชีวภาพสมุนไพรและวัชพืช. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 2534.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [12] ศิริพร ชิ่งสนธิ และชอุ่ม เปรมัษเฐียร. “ผลของสารสกัดจากเทียนหยด (*Duranta repens* Linn.) ต่อการงอกของวัชพืชบางชนิด” หน้า 139 ในรายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการเรื่องพฤกษศาสตร์และวัชพืชเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 2539.
- [13] ศิริพร ชิ่งสนธิ และชอุ่ม เปรมัษเฐียร. “ผลของเทียนหยดต่อการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์” หน้า 22-30 ในรายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการเรื่องความก้าวหน้างานวิจัยและความหลากหลายทางชีวภาพ สมุนไพร และวัชพืช. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 2543.
- [14] พัทธนี เจริญยิ่ง จรัส ล้อมรัตน์ศิริ และวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. “ผลของสารสกัดจากผลกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ” การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 28 วันที่ 24-26 ตุลาคม 2545 ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ. 2545.
- [15] พัทธนี เจริญยิ่ง จรัส ล้อมรัตน์ศิริ และวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. “ผลของชานทอดซีลีที่แยกได้จากผลกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ” การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 29 วันที่ 20-22 ตุลาคม 2546 ศูนย์ประชุมอเนกประสงค์กาญจนาภิเษก มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546.
- [16] พัทธนี เจริญยิ่ง ยิ่งยง เมฆลอย ละออ สมสกลสิทธิ์ และ ถักษณา จิรมิตรมงคล. “ผลของสารสกัดจากใบต้อยติ่งต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ” เรื่องเต็มการประชุมประชุมวิชาการครั้งที่ 3 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) วันที่ 18-19 มีนาคม 2547. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. หน้า 23-30. 2547.
- [17] Colton, C.E. and F.A. Einhellig. “Allelopathic Mechanism of Veivetleaf (*Abutilon thepharasti* Medic.) on Soybean Amer” *J. Bot.* 67 (10). 1980. pp. 1407-1413.
- [18] Bhowmik, P.C. and J.D.M. Doll. “Corn and Soybean response to Allelopathic Effect on Weed and Crop Residues” *Agron J.* 55. 1982. pp. 19-23.
- [19] Kim, Y.S. and B.S. Kill. “Identification and Growth Inhibition of Phytotoxic Substances from Tomato Plant Korean” *J. Bot.* 32 (1). 1989. pp. 41-49.
- [20] Laosinwattana, C., Y. Takeuchi, K. Yoneyama, M. Ogasawara and M. Konnai. “Allelopathic Potential of Manilagrass (*Zoysia matrella* (L.) Merr.)” *Jourai of Japanese Society of Turfgrass Science.* Vol. 26. No. 1. 1997. pp. 25-32.

[21] เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). กรมป่าไม้.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

กรุงเทพฯ. 2533.

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [22] Phuwiwat, W. and B. Chatyanon. "Inhibitory Effect of *Aglaia odorata* Leaf Water Extract on Seed Germination and Seedling Growth of *Mimosa pigra*" pp. 57-61. In the 12th Asian Agricultural Symposium on Agriculture and water. Khon Kaen, Thailand. 2000.
- [23] บุญรอด ชาตียนนท์ และวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. "สารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์ยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยวสองชนิด" วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 32(1-4) ฉบับพิเศษ. 2544. หน้า 295-297.
- [24] บุญรอด ชาตียนนท์ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ พัทนี เจริญยิ่ง และเฉลิมชัย วงศ์วัฒน์. "ศักยภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วฝักยาว" วารสารวิทยาการวัชพืช 19 (1). 2545. หน้า 26-32.
- [25] Cordell, G.A., K. Likhiwitayawuid, H. Chai and J.M. Pezzuto "Bisamides from *Aglaia* Species: Structure Analysis and Potential to Reverse Drug Resistance with Cultured Cells., *J. of Natural Products.*, 56 (4), 1993. pp. 473-477.
- [26] สมสุข มัจฉาชีพ. พืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 2. รุ่งศิลป์การพิมพ์. กรุงเทพฯ. 2542.
- [27] Molisch H. *Der Einfluss siner Pflanze auf der Ander Allelopathie.* Jena : G. Fischer. 1937.
- [28] Putnam A.R. "Weed allelopathy" *Weed Physiology : Reproduction and Ecophysiology.* Florida : CRC Press. vol. 1. 1985. pp. 131-135.
- [29] วุฒิ วุฒิชรรมเวช. หลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ : เอ็น พี สกรีนพริ้นติ้ง. 2542.
- [30] Rice E. L. *Allelopathy.* New York : Academic Press. 1974.
- [31] Rice E. L. "Allelopathy-an update" *Bot. Rev.* vol. 45. 1979. pp. 15-109.
- [32] Putnam A.R. "Allelopathic chemicals" *Chem. & Eng. News.* vol. 61. 1983. pp. 34-43.
- [33] Aldrich R. J. *Weed-Crop ecology-Principles in weed management.* Massachusetts : Breton N. Scituate. 1984.
- [34] Rice E. L. *Allelopathy.* 2nd ed. New York : Academic Press. 1984.
- [35] Devi S. R. "Allelochemicals" *Plant Ecophysiology.* New York : John Wiley & Sons. 1997. pp. 253-303.

- [36] Sarabol E. and Anderson I. C. "Improving Yield of Corn-Soybean Rotation : Role of Allelopathy" **Allelopathy : Basic and Applied Aspects**. London : Chapman & Hall. 1992. pp. 87-100.
- [37] Daknishi K. M. M. "Allelopathy : One Component in Multifaceted Approach to Ecology." **Principles and Practices in Plant Ecology : Allelochemical Interactions**. Boca Raton : CRC Press. 1999.
- [38] Putnam A. R. and DeFrank J. "Use of phytotoxic plant residues for selective weed control" **Crop. Prot.** vol. 2. 1983. pp. 173-181.
- [39] Shilling D. G., Liebl R. A. and Worsham A. D. "Rye and wheat mulch : The suppression of certain broadleaved weeds and the isolation and identification of phytotoxins" **The chemistry of allelopathy : Biochemical interactions among plants**. Am. Chem. Soc. Washington, DC. 1985. pp. 243-271.
- [40] Creamer N. G., Bennett M. A., Stinner B. R., Cardina J. and Regnier E. E. "Mechanisms of weed suppression in cover crop-based production systems" **Hort Sci.** vol. 31. 1996. pp. 410-413.
- [41] Barnes J. P., Putnam A. R., Burke B. A. and Aasen A. J. "Isolation and characterization of allelochemicals in rye herbage" **Phytochemistry**. vol. 26(5). 1987. pp. 1385-1390.
- [42] Ohigashi H., Kaji M., Sakaki M. and Koshimizu K. "3-Hydroxyuridine, an allelopathic factor of an African tree, *Baillonella toxisperma*" **Phytochemistry**. vol. 28(5). 1989. pp. 1365-1368.
- [43] Sahid I. B. and Sugau J. B. "Allelopathic Effect of Lantana (*Lantana camara*) and Siam Weed (*Chromolaena odorata*) on Selected Crops" **Weed Science**. vol. 41. 1993. pp. 303-308.
- [44] Hirai N., Sakashita S., Sano T., Inoue T., Ohigashi H., Premasthira C., Asakawa Y., Hatada J. and Fuji Y. "Allelochemicals of the tropical weed *Sphenoclea zeylanica*." **Phytochemistry**. vol. 55. 2000. pp. 131-140.
- [45] Cheema Z. A. and Khaliq A. "Use of sorghum allelopathic properties to control weeds in irrigated wheat in a semi arid region of Punjab" **Agri. Ecosystems and Environ.** vol. 79. 2000. pp. 105-112.

- [46] Chon S.-U., Choi S.-K., Jung S., Jang H.-G., Pyo B.-S. and Kim S.-M. "Effect of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass" **Crop Protection**. vol. 21. 2002. pp. 1077-1082.
- [47] Xuan T. D., Yuichi O., Junko C., Eiji T., Hiroyuki T., Mitsuhiro M., Khanh T. D. and Hong N. H. "Kava root (*Piper methysticum* L.) as a potential natural herbicide and fungicide" **Crop Protection**. vol. 22. 2003. pp. 873-881.
- [48] Hiradate S., Morita S., Sugie H., Fujii Y. and Harada J. "Phytotoxic *cis*-cinnamoyl glucosides from *Spiraea thunbergii*" **Phytochemistry**. vol. 65. 2004. pp. 731-739.
- [49] Xuan T. D., Shinkichi T., Hong N. H., Khanh T. D. and Min C. I. "Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds" **Crop Protection**. vol. 23. 2004. pp. 915-922.
- [50] Anjun T. and Bajwa R. "A bioactive annuionone from sunflower leaves" **Phytochemistry**. vol. 66. 2005. pp. 1919-1921.
- [51] Chon S.-U., Jang H.-G., Kim D.-K., Kim Y.-M., Boo H.-O. and Kim Y.-J. "Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants" **Scientia Horticulturae**. vol. 106. 2005. pp. 309-317.
- [52] Khanh T. D., Hong N. H., Xuan T. D. and Chung I. M. "Paddy weed control by medicinal and leguminous plants from Southeast Asia" **Crop Protection**. vol. 24. 2005. pp. 421-431.
- [53] Lin D., Sugitomo Y., Dong Y., Terao H. and Matsuo M. "Natural herbicidal potential of saururaceae (*Houttuynia cordata* Thunb) dried powders on paddy weeds in transplanted rice" **Crop Protection**. vol. 25. 2006. pp. 1126-1129.
- [54] ยิ่งยง เมฆลอย. "การเปรียบเทียบผลทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ **Meliaceae** จำนวน 10 ชนิด" ปัญหาพิเศษปริญญาโท สาขาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2546.
- [55] บุญรอด ชาตียนานท์. "ผลของสารสกัดจากใบประยงค์ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2544.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติเห็นชอบหรือยินยอมในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [56] ยี่งยง เมฆลอย. “ผลทางอัลลิโอฟาทิกของประยงค์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2548.
- [57] อารณี อึ้งภากรณ์. “การแยกสารและการหาสูตรโครงสร้างของสารประกอบไนโตรเจนจากใบประยงค์” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2517.
- [58] Hayashi N., Lee K.-H., Hall I. H., Mcphail A. T. and Huang H.-C. “Antitumor agents. Part 58. Structure and stereochemistry of (-)-odorinol, an antileukemic diamide from *Aglaia odorata*” **Phytochemistry**. vol. 21(9). 1982. pp. 2371-2373.
- [59] Saifah E., Puripattanavong J., Likhitwitayawuid K., Cordell G. A., Chai H. and Pezzuto J. M. “Bisamide from *Aglaia* species : Structure analysis and potential to reverse drug resistance with cultured cells” **J. Nat. Prod.** vol. 56(4). 1993. pp. 473-477.
- [60] Inada A., Nisshino H., Kuchide M., Takayasu J., Mukainaka T., Nobukuni Y., Okuda M. and Tokuda H. “Cancer chemopreventive activity of odorine and odorinol from *Aglaia odorata*” **Biol. Pharm. Bull.** vol. 24(11). 2001. pp. 1282-1285.
- [61] Detterbeck R. and Hesse M. “Synthesis and structure elucidation of open-chained putrescine-bisamides from *Aglaia* species” **Tetrahedron**. Vol. 58. 2002. pp. 6887-6893.
- [62] Babidge P. J., Massy-Westropp R. A., Pyne G. S., Shienghong D., Ungphakorn A. and Veerachat G. “The synthesis and stereochemistry of odorine” **Aust. J. Chem.**, vol. 33. 1980. pp. 1841-1845.
- [63] Shienghong D., Ungphakorn A., Lewis D. E. and Massy-Westropp R. A. “Constituents of Thai medicinal plants-IV new nitrogenous compounds-odorine and odorinol” **Tetrahedron Lett.** vol. 24. 1979. pp. 2247-2250.
- [64] Burgos N. R. and Talbert R. E. “Differential Activity of Allelochemicals from *Secale cereale* in Seedling Bioassays” **Weed. Sci.** vol. 48. 2000. pp. 302-310.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในงานวิจัยนี้ ใช้สูตรการคำนวณ [50] ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (inhibition percentage (\%))} = \frac{[(\text{control value} - \text{treatment value})/\text{control value}] \times 100$$

ตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยความยาวต้นของ control = 0.6 ซม.

ค่าเฉลี่ยความยาวต้นของ treatment = 0.2 ซม.

ดังนั้น การยับยั้งของ treatment = $[(0.6-0.2)/0.6] \times 100 = 66.67$ เปอร์เซ็นต์

2. การคำนวณการเตรียมสารละลายรูปผลิตภัณฑ์ของออโครีนในรูป WP1 ในวิธีการทดลองที่ 2 ความเข้มข้น 125-2,000 ppm

1) ในการทดลองใช้สารละลาย 0.5 มล./vial 4 ข้ว พืชทดสอบ 3 ชนิด

$$= 0.5 \times 4 \times 3 \text{ มล.}$$

$$= 6 \text{ มล.} \times 2 \text{ เท่า}$$

ดังนั้น ต้องเตรียมสารละลายออโครีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm ทั้งหมด 12 มล.

2) สารละลายออโครีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm คือ มีออโครีนเข้มข้น 2,000 ppm

$$= 2 \text{ มก./มล.}$$

สารละลายออโครีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm 12 มล. จะมีออโครีน = 2×12

$$= 24 \text{ มก.}$$

3) ในออโครีน-WP1 ประกอบด้วยออโครีน 15 เปอร์เซ็นต์ ผสม WP1 85 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือ ในออโครีน-WP1 มีออโครีน 15 เปอร์เซ็นต์ = 24 มก.

$$\text{จะมี WP1 85 เปอร์เซ็นต์} = (85 \times 24)/15$$

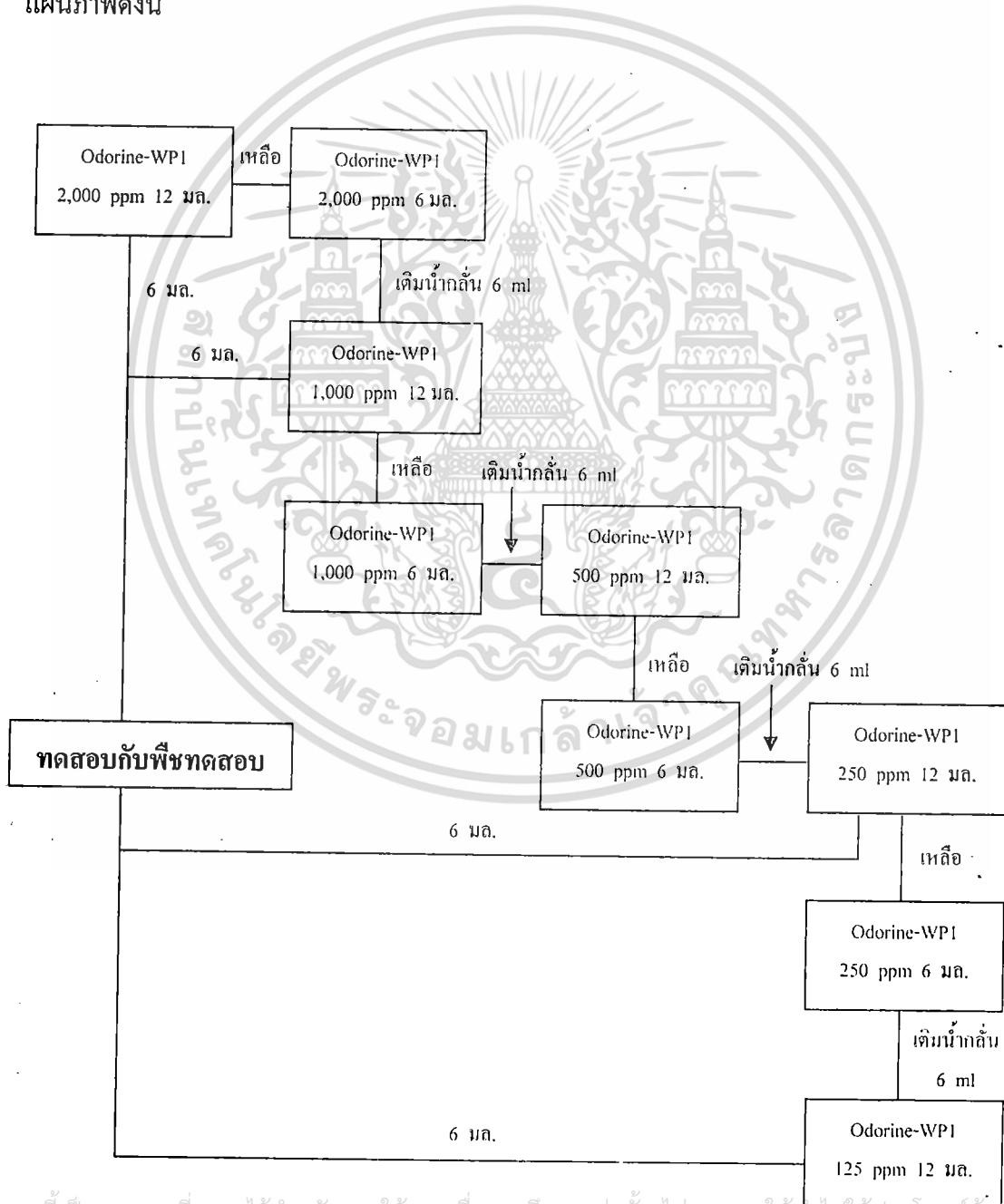
$$= 136 \text{ มก.}$$

ดังนั้น ต้องชั่งออโครีน-WP1 มา $24 + 136 = 160$ มก. ละลายในน้ำกลั่น 12 มล.

จะได้สารละลายออโครีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm

4) เจือจางสารละลายออกโดรีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm เป็น 1,000 500 250 และ 125 ppm

โดยแบ่งสารละลายออกโดรีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm เป็น 2 ส่วน ส่วนละ 6 มล. เนื่องจากต้องใช้สารละลายออกโดรีน-WP1 เข้มข้น 2,000 ppm เพียง 6 มล. จึงเหลือสารละลายอีก 6 มล. นำสารละลายที่เหลือเติมน้ำกลั่นลงอีก 6 มล. จะได้สารละลายออกโดรีน-WP1 มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 ppm ปริมาตร 12 มล. จากนั้นปฏิบัติเช่นเดียวกันโดยนำสารละลายที่เหลือในแต่ละความเข้มข้น 6 มล. มาเติมน้ำกลั่นลงอีก 6 มล. จะได้สารละลายออกโดรีน-WP1 ที่มีความเข้มข้นลดลงครึ่งหนึ่งของสารละลายตั้งต้นที่เตรียม โดยสามารถสรุปวิธีการเจือจางสารตามแผนภาพดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของออโดรีนและออโดรีน-WP1 ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิด

Source of variation	Df	Mean Square		
		หญ้าข้าวนก	ผักโขม	ผักโขมจีน
Treatment	11	6654.637**	12554.681**	5967.068**
Error	36	95.199	237.600	86.134
Total	47	-	-	-

* มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้