

การปรับปรุงโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของ
สเตียรอยด์สังเคราะห์

Structure Modification and Biological Activities
of Synthesized Steroids



RCH

QP

572

.57

พ 316 ก

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....108250

วัน,เดือน,ปี.....18 ส.ค. 2553

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

b. 12156516
i.

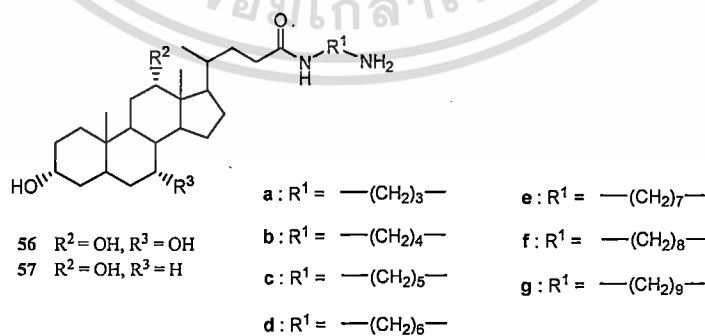
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของอนุพันธ์ของเพรกนินโนโลน โดยการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของเพรกนินโนโลน ที่ตำแหน่ง C-3 จากหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่อีเทอร์ และหมู่ซัลเฟต ต่อการเจริญเติบโตของข้าว ทดสอบโดยวิธี Agar Test ที่ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm โดยใช้ น้ำกลั่นผสม WP เป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่า สาร 49 และ 50 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลให้ศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้น และที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 49 และ 50 มีผลยับยั้งความยาวรากของต้นข้าว 76.3 และ 85.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ



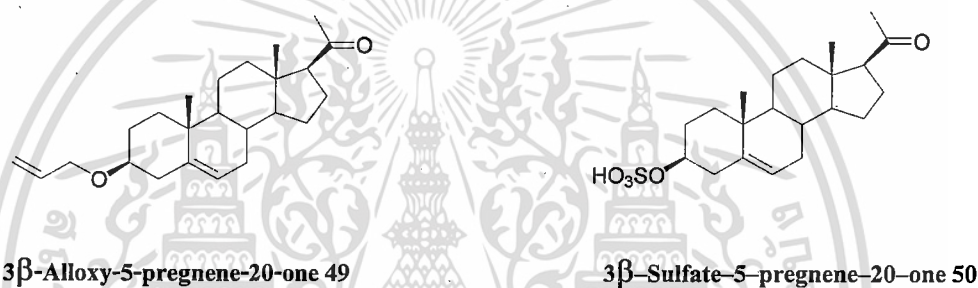
นอกจากนี้ ได้สังเคราะห์ไบเอสซิเคอไมด์ 56-57 (a-g) จากกรดโคลิก 8 และกรดคีออกซีโคลิก 9 โดยใช้เทคนิควิทยาศาสตร์ของแจ๊จ ไบส์ ไบส์เอสซิเคอไมด์สังเคราะห์ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (*Amranthus tricolor*) และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusgalli*) และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดลองพบว่า ไบส์เอสซิเคอไมด์ 57b มีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนที่ดี และอนุพันธ์ไบส์เอสซิเคอไมด์ของกรดคีออกซีโคลิกแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดี



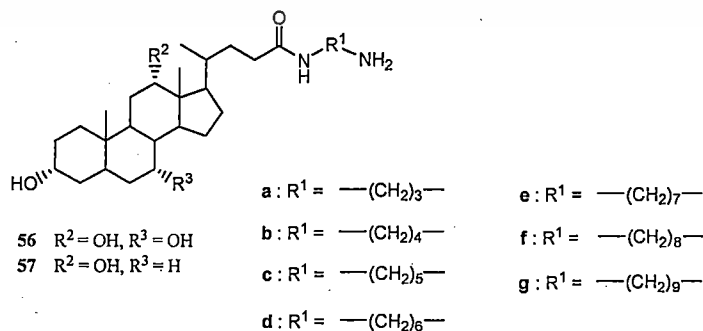
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

The effect of pregnenolone derivatives on seedling growth of rice (*Oryza Sativa*) by functional group transformation of pregnenolone was investigated. At C-3 position the hydroxyl group was converted to ether and sulfate groups. Synthesized steroids were tested on seed germination and seedling growth by Agar Test method at concentrations of 100, 200, 300 and 400 ppm with rice whereas the mixture of distilled water and WP was used the control. The inhibitory effect on shoot and root length were increased when the higher concentration applied. It was found that at concentration 400 ppm compounds **49** and **50** inhibited root length by 76.6 and 85.3 % respectively.



In addition, bile acid amides **56-57 (a-g)** were synthesized from cholic acid **8** and deoxycholic acid **9** using solid phase synthesis technique. These compounds were screened for inhibitory effect on seed germination and seedling growth of Chinese amaranth (*Amranthus tricolor*) and Barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*). The results found that the bile acid amide **57b** showed the highest effect on seed germination and seedling growth of Chinese amaranth. As for antibacterial, the results showed that the deoxycholic amide exhibited significant antibacterial activity in good level.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจในระดับหนึ่งด้วยการสนับสนุนเงินทุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ งบประมาณปี 2551 และบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่พิจารณาเห็นคุณค่าของงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัย รศ.ดร. นันทนา อรุณฤกษ์ และ รศ.ดร. จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่ให้คำปรึกษาแนะนำให้ความรู้ในเรื่องการทดสอบสารสังเคราะห์ต่อเชื้อจุลินทรีย์และพืช และวิเคราะห์ผลการทดลอง

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย คุณภัททฤทธิ์ สหัสโยธิน และคุณพนัษกร บุญมานาสิน ที่อดทนต่อการทำงานนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่เอื้อเพื่อความสะดวกตลอดการทำงานวิจัยนี้

พัชนี เจริญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
รายการคำย่อ	IX
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 โครงสร้างของสเตียรอยด์.....	4
2.2 ชีวสังเคราะห์ของสเตียรอยด์.....	5
2.3 ประเภทของสเตียรอยด์	6
2.4 สมบัติทางเคมีของสเตียรอยด์	8
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	15
3.2 การทดลองทั่วไป	13
3.3 วิธีการสังเคราะห์สาร	
3.3.1 การสังเคราะห์สาร 3 β -Alloxy-5-pregnene-20-one 49	16
3.3.2 การสังเคราะห์สาร 3 β -Sulfate-5-pregnene-20-one 50.....	17
3.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของ ไบส์เอซิด โดยเทคนิควิทยาของแข็ง.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.1 ปฏิริยาการกระตุ้น Wang resin โดยการเปลี่ยนเป็นหมู่คาร์บอนेट.....	18
3.4.2 ปฏิริยาการใส่เอมีนเข้าไปทำปฏิริยากับ Wang resin	19
3.4.3 ปฏิริยาการใส่ไบสแอซิดเข้าไปทำปฏิริยากับหมู่อะมิโน.....	20
3.4.4 ปฏิริยาการตัดสารผลิตภัณฑ์ออกจาก Wang resin.....	20
3.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืช.....	21
3.5.1 การทดสอบผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโต ของพืชทดสอบ โดยวิธี Agar Test	21
3.5.2 การเตรียมเมล็ดพืชทดสอบ.....	23
3.5.3 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของ ไบสแอซิดในเมทานอล และการทดสอบ.....	23
3.5.4 การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	24
3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Pregnenolone.....	25
4.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบสแอซิดโดยเทคนิควิทยาศาสตร์ของแข็ง.....	28
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ในด้านการส่งเสริม และการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ.....	40
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของไบสแอซิด และอนุพันธ์เอไมด์ต่อพืชทดสอบ.....	43
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	58
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	
5.1 ผลการทดสอบอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการงอกและการเจริญเติบโต ของพืชทดสอบ.....	64
5.1.1 ผลของ WP ต่อเมล็ดพืชทดสอบโดยวิธี Vial Test.....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นใบแจ้งข้อบกพร่องขอแจ้งการแก้ไข
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.1.2 ผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยวิธี Vial Test.....	65
5.1.3 ผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยวิธี Agar Test.....	65
5.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไปล์แอซิดโดยเทคนิควิทยาของแข็ง.....	66
5.3 การทดสอบผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ.....	67
5.3.1 ผลการทดสอบต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ของกรดโคลิก 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g.....	67
5.3.2 ผลการทดสอบต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ของกรดคีออกซีโคลิก 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g.....	67
5.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	67
เอกสารอ้างอิง.....	69
ภาคผนวก การคำนวณในการทดลอง.....	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ปริมาตรของอนุพันธ์ของ Pregnenolone แต่ละความเข้มข้นในการทดสอบ โดยวิธี Agar Test	23
4.1 ผลของกรดโคลิค 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g ต่อการงอกและการเจริญเติบโต ของผักโขมจีนหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน	45
4.2 ผลของกรดโคลิค 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g ต่อการงอกและการเจริญเติบโต ของหญ้าข้าวนกหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน	48
4.3 ผลของกรดคีอ็อกซีโคลิค 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g ต่อการงอกและการเจริญเติบโต ของผักโขมจีนหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน	52
4.4 ผลของกรดคีอ็อกซีโคลิค 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g ต่อการงอกและการเจริญเติบโต ของหญ้าข้าวนกหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน	55
4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของไบล์แอซิด 8 และ 9.....	59
4.6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 56a 56b 56c และ 56d	60
4.7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 56e 56f และ 56g	61
4.8 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 57a 57b และ 57c	62
4.9 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 57d 57e 57f และ 57g	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 ผลของความเข้มข้นของ WP ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของข้าว	40
4.2 ผลของความเข้มข้นของ WP ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของข้าว	41
4.3 ผลของ Pregnenolone 1 อนุพันธ์ allyl ether 49 และอนุพันธ์ sulfate 50	42
4.4 แสดงผลของอนุพันธ์ allyl ether 49 ต่อการเจริญเติบโตของข้าว (ก) และ(ข) และสารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 ต่อการเจริญเติบโตของข้าว (ค) (ง) โดยวิธี Agar Test	43
4.5 แสดงผลของกรดโคลิก 8 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ก) และสารอนุพันธ์ของกรด โคลิก 56b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ข) โดยวิธี Vial Test	47
4.6 แสดงผลของกรดโคลิก 8 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ก) และสารอนุพันธ์ของกรด โคลิก 56b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ข) โดยวิธี Vial Test	50
4.7 แสดงผลของกรดคีอ็อกซีโคลิก 9 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ก) และสารอนุพันธ์ของกรด โคลิก 57b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ข) โดยวิธี Vial Test	54
4.8 แสดงผลของกรดคีอ็อกซีโคลิก 9 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ก) และสารอนุพันธ์ของกรด โคลิก 57b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ข) โดยวิธี Vial Test	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายการคำย่อ

^{13}C NMR	^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
CI-MS	Chemical Ionization Mass Spectrometry
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMRT	Duncan's Multiple Rang Test
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
EI-MS	Electron Ionization Mass Spectrometry
ES-MS	Eletrospray Ionization Mass Spectrometry
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GA	Gibberellin
^1H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
ppm	part per million
R_f	Retention factor
rt	room temperature
TLC	Thin Layer Chromatography
TMS	Tetramethylsilane

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

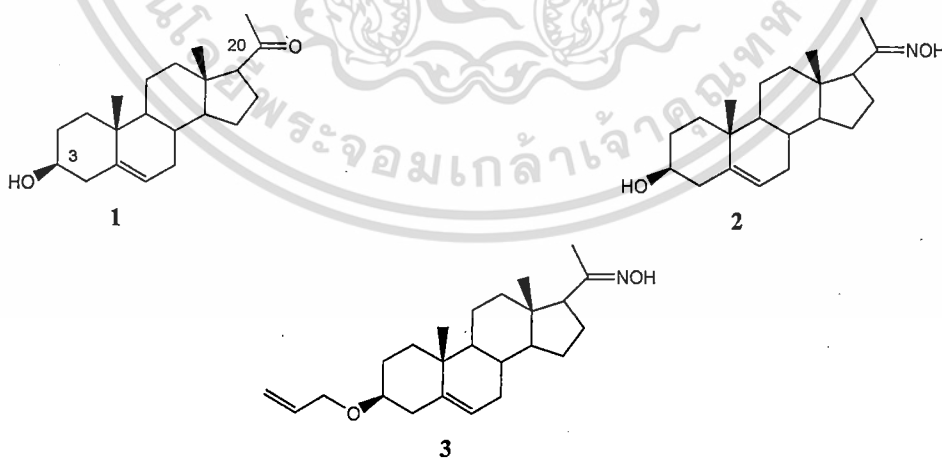
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในสมัยโบราณมนุษย์รู้จักการนำส่วนต่าง ๆ ของพืชมาใช้เป็นยารักษาโรคซึ่งเป็นการนำมาใช้ตามคำบอกกล่าวกันมาหรือสังเกตจากพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิตจากธรรมชาติ และเมื่อพืชถูกนำมาใช้จริงพบว่าสามารถรักษาโรคนั้นได้ โดยผู้ที่นำมาใช้ไม่ทราบหรือมีข้อมูลพื้นฐานว่า พืชที่นำมาใช้ในการรักษาโรคนั้นสามารถรักษาโรคให้หายได้อย่างไร แต่ก็ยังมีใช้กันมากถึงปัจจุบันด้วยการบอกเล่าจากปากต่อปาก และเมื่อวิทยาศาสตร์ก้าวหน้าขึ้นทำให้นักวิจัยสังเกตเห็นความสำคัญของพืชเหล่านั้นมากขึ้น โดยในยุคแรกนักวิจัยให้ความสนใจกับการหาโครงสร้างของสารสำคัญในพืชเช่น กรดไขมัน (Fatty acids) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นต้น ซึ่งสารในกลุ่มต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจทั้งสิ้น และได้ประยุกต์ใช้สารสำคัญในพืชมาพัฒนาเป็นสารชีวภาพและพัฒนาโดยการปรับปรุงโครงสร้างเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้ด้วยความเชื่อที่ว่าสารชีวภาพมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารที่ได้จากธรรมชาติ

สเตียรอยด์ (Steroids) เป็นหนึ่งในสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Product) ที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ จากการวิจัยพบว่า สารกลุ่มสเตียรอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ปัจจุบันจึงนิยมใช้สารประเภทสเตียรอยด์ในทางการแพทย์ เช่น รักษาโรคไขข้อ โรคหืด บำรุงหัวใจ และเป็นส่วนผสมในยาคุมกำเนิดซึ่งถูกนำไปใช้ในการแก้ปัญหาประชากรที่เพิ่มขึ้น [1] คอเลสเตอรอล (Cholesterol) เป็นสเตียรอยด์อีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสาเหตุในการเกิดไขมันอุดตันในเส้นเลือดซึ่งเป็นปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์อย่างมาก สเตียรอยด์ที่ได้จากพืชธรรมชาติถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค เช่น G-strophanthin [2] ได้จากเมล็ดของ *Strophanthus gratus* Baillon ใช้รักษาโรคหัวใจวายฉับพลัน Ruscogenin [2] ได้จากต้น *Ruscus aculeatus* วงศ์ Liliaceae ใช้รักษาโรคโรคเลือดงทวาร Scillaren A [2] ได้จากส่วนใบบนหัวใต้ดินของ *Urginea maritima* Baker วงศ์ Liliaceae ใช้เป็นยาขับเสมหะที่ออกฤทธิ์บำรุงหัวใจและมีฤทธิ์ขับปัสสาวะด้วย สารกลุ่มสเตียรอยด์ยังเป็นฮอร์โมนของพืชและสัตว์เช่น โปรเจสเตอโรน (Progesterone) เป็นฮอร์โมนเพศหญิงสามารถฉีดให้ผู้ป่วยที่ขาดฮอร์โมนเพศหญิงได้ สเตียรอยด์ยังมีฤทธิ์ที่สำคัญอื่น ๆ ในร่างกายของมนุษย์อีก เช่น เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ vitamin D และ เป็น emulsifying agent [3] พืชสามารถสร้างสารกลุ่มสเตียรอยด์ขึ้นโดยผ่านกระบวนการทางชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) สเตียรอยด์บางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดหนึ่งแต่อาจมีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชอีกชนิดหนึ่งตัวอย่างเช่น บราสสิโนสเตียรอยด์ (Brassinostroids) เป็นฮอร์โมนของพืชที่สามารถเร่งไม่ช้าก็เร็วได้ทุกสิ่งทุกอย่างอีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตหรือเข้าไปเกี่ยวข้องในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของพืชและสเต็มรอยด่างตัวมีฤทธิ์ในการเป็นยาฆ่าแมลง เช่น Solanidine [2] พบในต้นมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) ในวงศ์ Solanaceae แต่เนื่องจากปริมาณสเต็มรอยด่างที่พืชหรือสัตว์สังเคราะห์ขึ้นมานั้นมีปริมาณน้อยมาก ถ้าสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อแยกสเต็มรอยด่างจากพืชหรือสัตว์เป็นเรื่องที่ทำได้แต่อาจต้องใช้พืชหรือสัตว์ปริมาณมากซึ่งส่งผลต่อการเสียดุลธรรมชาติ เพื่อเป็นการต่อยอดงานวิจัยให้ดีและมีคุณภาพ ด้วยเหตุนี้จึงมีการคิดค้นที่จะสังเคราะห์และปรับปรุงโครงสร้างสเต็มรอยด่างที่มีโครงสร้างอย่างง่าย ทั้งนี้เพื่อเลียนแบบที่พบในธรรมชาติและนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จากจุดที่น่าสนใจนี้งานวิจัยนี้จึงถือกำเนิดขึ้นมา โดยที่สเต็มรอยด่างสังเคราะห์ที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันหลัก โดยจะมีการนำเทคนิคเฉพาะในการสังเคราะห์ และนำไปศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยจะเน้นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ ฤทธิ์ในการยับยั้งและกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ เช่น ข้าว (*Oryza sativa*) ผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor*) และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาถึง structure-activity relationship (SAR) จากการวิจัยเบื้องต้นคณะผู้วิจัยได้ทำการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ Pregnenolone 1 ที่คาร์บอนตำแหน่ง C-20 เป็นอนุพันธ์ออกซิม 2 เมื่อนำไปทดสอบความเป็นต่อเซลล์โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติพบว่า สาร 2 สามารถยับยั้งเซลล์พิษ (Cytotoxic) และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) โดยมีค่า MIC เท่ากับ 12.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และเมื่อเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C-3 เป็นหมู่แอลคิล อีเทอร์ เมื่อนำสาร 3 ไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้ง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 3 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดกวางตุ้ง เท่ากับ 22 เปอร์เซ็นต์



1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเป็นแนวทางสังเคราะห์สเต็มรอยด่างชนิดใหม่ โดยการเลือกใช้สารเข้าทำปฏิกิริยาและเทคนิคในการสังเคราะห์ที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้ใช้เริ่มงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เพื่อสังเคราะห์และศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากสเตียรอยด์สังเคราะห์โดยทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านการยับยั้งและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบและการต้านเชื้อจุลินทรีย์

3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสเตียรอยด์สังเคราะห์

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. ทำการสังเคราะห์สเตียรอยด์โดยการดัดแปลงหมู่ฟังก์ชันของนิวเคลียส

2. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสเตียรอยด์สังเคราะห์ในด้านการยับยั้งและกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยใช้วิธี Agar Test

3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยใช้วิธี Vial Test

4. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและดำเนินงาน

1. ทำการสังเคราะห์สเตียรอยด์เป้าหมายโดยใช้วิธีการสังเคราะห์ทางเคมีอินทรีย์

2. ทดสอบฤทธิ์ของสเตียรอยด์สังเคราะห์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบ

3. ทดสอบฤทธิ์ของสเตียรอยด์สังเคราะห์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสังเคราะห์สเตียรอยด์ชนิดใหม่ได้ ซึ่งสเตียรอยด์สังเคราะห์นี้อาจแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการงอกและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบและการต้านเชื้อจุลินทรีย์

2. สามารถทราบถึงฤทธิ์ของสเตียรอยด์สังเคราะห์ในการยับยั้งการงอกและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบและการต้านเชื้อจุลินทรีย์

3. สามารถนำสเตียรอยด์สังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์ไปใช้ได้โดยตรงหรือเป็นส่วนผสม

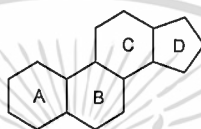
4. เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการพัฒนาเพื่อผลิตส่วนผสมของยาที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

บทที่ 2

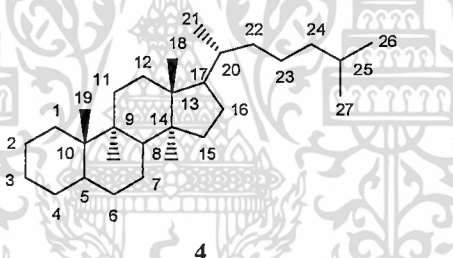
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างของสเตียรอยด์

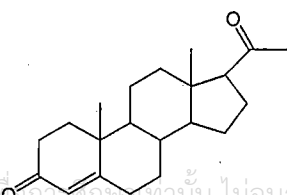
สเตียรอยด์เป็นสารประกอบที่เป็นของแข็ง จัดเป็นอนุพันธ์ของสารที่มีโครงสร้างเป็นวงที่เรียกว่า Perhydrocyclopentanephenanthrene ประกอบด้วยวงหกเหลี่ยม 3 วง คือ วง A วง B วง C และมีวงห้าเหลี่ยม 1 วง คือ วง D ที่เชื่อมต่อกัน



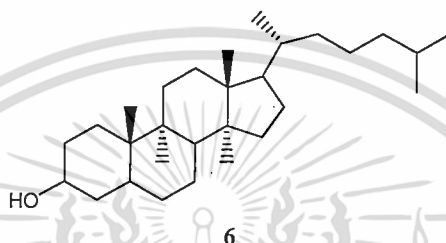
ในระบบ IUPAC แสดงการนับตำแหน่งของสเตียรอยด์ตัวอย่างเช่น Cholestane 4



จากโครงสร้างของสเตียรอยด์มีลักษณะทั่วไปเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน การอ่านชื่อของสเตียรอยด์ขึ้นกับวงที่อิมิตัวของแอลเคน 4 วง การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจากโครงสร้างหลักจะแสดงโดยคำอุปสรรค (Prefix) เช่น 19-norandrostanes หมายถึง ขาดคาร์บอนตำแหน่งที่ 19 จากโครงสร้างเดิม Androstanes และ A-homosteroid หมายถึง มีวง A ที่ประกอบด้วย 7 อะตอม โครงสร้างที่มีความซับซ้อนหรือเป็นอนุพันธ์ของโครงสร้างสเตียรอยด์หลัก โดยตำแหน่งต่าง ๆ ในโมเลกุลถูกแทนที่จะมีการเปลี่ยนคำลงท้ายจาก “ane” เป็น “ene” “one” หรือคำต่อท้าย (Suffix) อื่น ๆ ที่เหมาะสม เช่น Progesterone 5 คือ pregn-4-ene-3, 20-dione (Δ^4 -pregnene-3,20-dione)



การเชื่อมต่อของวงสเตียรอยด์ทำให้เกิดพื้นผิวที่มีลักษณะราบในโครงสร้าง ที่สามารถเห็น ทั้งด้านล่างและด้านบนของผิวราบ การแทนที่อะตอมในโครงสร้างด้านล่างกำหนดให้ใช้อักษร “ α ” และแสดงด้วยเส้นประ (Dashed lines) การแทนที่อะตอมในโครงสร้างด้านบนกำหนดให้ใช้อักษร “ β ” และแสดงด้วยเส้นทึบ (Solid lines) เช่นกรณีของ คอเลสเตอรอล 6 อ่านชื่อได้ดังนี้ 5-cholesten-3 β -ol 1 แต่ถ้าคอนฟิเจอร์ชันไม่แน่นอนกำหนดให้ใช้เส้นหยักเป็นคลื่น (Wavy lines) และใช้อักษร “ ξ ” (ξ) คอนฟิเจอร์ชันของตำแหน่งไครัลในโซ่ข้าง (Side-chain) ดังกรณี Cholestane 4 สามารถบอกได้โดยใช้ระบบ *RS* – configuration



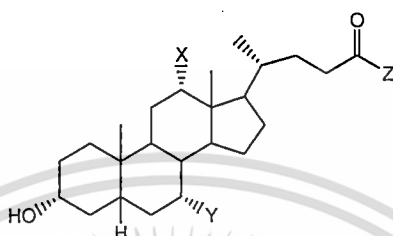
วงแต่ละวงอาจเชื่อมต่อกันแบบซิส (*cis*) หรือแบบทรานส์ (*trans*) แต่วง BC และวง CD จะเชื่อมกันแบบทรานส์ (*trans*) เป็นปกติของโครงสร้างทั่วไปของสเตียรอยด์ กรณีของ Lithocholic acid 7 การต่อของวง AB เป็นซิส (*cis*) เป็น 5 β มีไฮโดรเจนที่ตำแหน่งที่ 5 ของการต่อของวงจึงมีคำนำหน้า (prefix) เป็น 5 β ถ้าการต่อเป็นแบบทรานส์ (*trans*) จะมีคำนำหน้าเป็น 5 α เช่น Lithocholic acid 7 เป็น bile acid มีการอ่านชื่อเป็น 3 α -hydroxy-5 β -cholan-24-oic acid ซึ่งมีการเชื่อมต่อแบบ 5 β

จากโครงสร้างหลักของสเตียรอยด์ที่ประกอบด้วยวงหกเหลี่ยมและห้าเหลี่ยมมาเชื่อมต่อกัน หมู่มุมแทนที่ต่าง ๆ ที่มาเกาะหรือหมู่มุมฟังก์ชันจะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน นักเคมีได้ใช้ปฏิกิริยาเฉพาะทางเคมีอินทรีย์ในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างและ/หรือหมู่มุมฟังก์ชันซึ่งจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะเป็นการนำไปสู่การสังเคราะห์สเตียรอยด์ชนิดใหม่ได้ โดยการเลือกใช้สารที่เข้าทำปฏิกิริยา (reagent) และสถานะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม รวมทั้งชนิด จำนวน ตำแหน่งและสเตอริโอเคมีของหมู่มุมฟังก์ชันที่สายโซ่ด้านข้างก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจในการสังเคราะห์ ซึ่งจะเป็นผลดีอย่างมากถ้าพบว่า สเตียรอยด์สังเคราะห์นั้นมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไปด้วย

2.2 ชีวิตสังเคราะห์ของสเตียรอยด์ [4]

สัตว์มีกระดูกสันหลังทั้งหมดรวมทั้ง นก ปลา สัตว์เลื้อยคลานและมนุษย์จะมีน้ำดีที่ช่วยในการย่อย ไขมันและไขมันชนิดอื่นในลำไส้เล็ก สารที่ออกฤทธิ์ในน้ำดีคือ Bile salt ซึ่งเป็นสเตียรอยด์ชนิดหนึ่ง และเป็นเกลือของ Bile acid Bile salt โครงสร้างประกอบด้วยส่วนไม่มีขั้ว เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ขอสงวนสิทธิ์ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ตัวโครงสร้างหลักของสเตียรอยด์ เมื่อสายโซ่ข้างมีความมีขี้จะส่งผลให้สเตียรอยด์มีสมบัติคล้ายสบู่และผงซักฟอก (Detergent properties) จึงเรียกได้ว่าเป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ส่งผลให้เกิดไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ดีซีเอ็นและช่วยในการดูดซึมในน้ำเหลือง เมื่อ Bile salt ถูกไฮโดรไลสจะได้ Bile acid ซึ่งโดยทั่วไปจะมีคาร์บอน 24 อะตอม ซึ่งวง A และวง B จะต่อกันแบบซิส (Cis ring junction) และมีสายโซ่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 17 เป็นกรดคาร์บอกซิลิก



7 ; X=Y=H, Z=OH Lithocholic acid

8 ; X=Y=Z=OH Cholic acid

9 ; X=H, Y=Z=OH Deoxycholic acid

คอเลสเตอรอล 6 เป็นสเตียรอยด์ที่พบมากในข้อกระดูกสันหลังแต่พบว่าไม่ออกฤทธิ์การเป็นฮอร์โมน สเตียรอยด์ฮอร์โมนมีความเข้มข้นในระดับต่ำมาก เช่น พบว่าในเลือดมีความเข้มข้น 10^{-9} โมลต่อลิตร แต่มีผลมากต่อเนื้อเยื่อเป้าหมาย

2.3 ประเภทของสเตียรอยด์ [4]

สเตียรอยด์แบ่งประเภทโดยอาศัยฤทธิ์ทางสรีระ (Physiological activities) และลักษณะโครงสร้างทั่วไปได้ 6 ประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้

2.3.1 Sterols

Sterols คือ สเตียรอยด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เช่น คอเลสเตอรอล 6

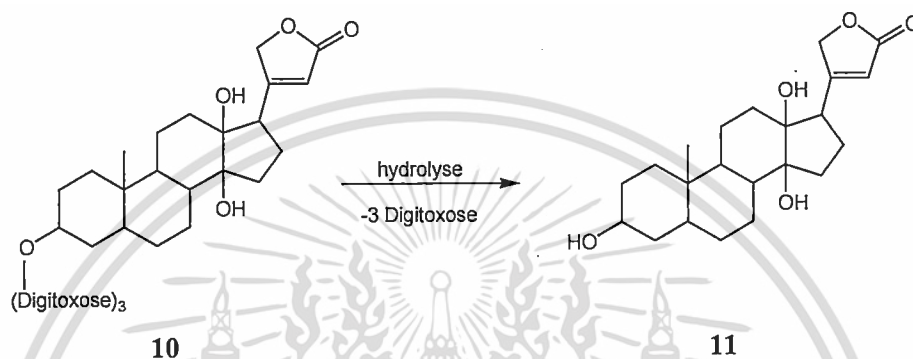
2.3.2 Vitamin D Precursors

Vitamin D Precursors คือ สเตียรอยด์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมทาบอลิซึมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระดูก ถ้าร่างกายขาดสารกลุ่มนี้จะส่งผลกระทบต่อกระดูก โดยสารสเตียรอยด์กลุ่มนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเมื่อถูกเร่งด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นส่วนใหญ่แล้วให้วิตามิน D

2.3.3 Glycosides ของ sterols

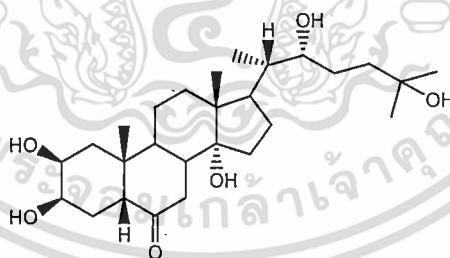
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Glycosides ของ sterols คือ สเตียรอยด์ที่ได้จากการเชื่อมต่อบน Glycosidic linkage (Ether linkage) ระหว่างสเตียรอยด์ (Cholesterol 6 และ Phytosterol อื่น ๆ) กับน้ำตาลชนิดต่าง ๆ จำนวนหนึ่งหรือหลายโมเลกุล ดังนั้น Steroidal glycosides จึงมีโครงสร้างตั้งแต่ง่ายไปจนถึงโครงสร้างที่ซับซ้อนโดยขึ้นกับชนิดและจำนวนน้ำตาลในโมเลกุล สารกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดี เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอื่น เช่น กลุ่มฟีนอลิก ดังตัวอย่างการไฮโดรไลซิส Digoxin 10 เป็น Digoxigenin 11



2.3.4 สารกลุ่ม Ecdysones

Ecdysone 12 เป็นชื่อสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบของตัวอ่อนแมลง (insect moulting hormone) Ecdysone สกัดแยกได้ครั้งแรกจากดักแด้ของตัวไหมชื่อ *Bombyx mori* สารกลุ่มนี้ยังพบในพืชชั้นสูงอีกด้วย Ecdysone มีโครงสร้างดังนี้

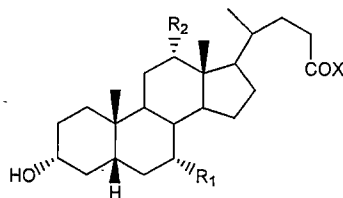


12

2.3.5 Bile acids และ alcohols

สารสองกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กันแต่ที่มีผลทางชีวภาพ คือ Bile acids 8 หรือ 9 โดยมักจะอยู่ในรูปสารประกอบเอไมด์ ที่เกิดจากการเชื่อมต่อบน Bile acids กับ Glycine ได้สารผลิตภัณฑ์คือ สาร 13 และ Bile acids กับ Taurine ได้สารผลิตภัณฑ์คือ สาร 14 ดังโครงสร้างต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



8, 9 ; $R_1, R_2 = \text{H or OH}$ 13 ; $X = -\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COONa}$

14 ; $X = -\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{COONa}$

2.3.6 Steroid hormones

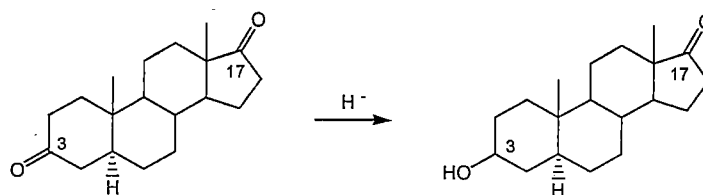
Steroid hormones คือ สเตียรอยด์ที่เป็นฮอร์โมนแต่แตกต่างกันไปจากกลุ่ม Ecdysone ทั้งโครงสร้างและแหล่งกำเนิด แบ่งเป็น 4 ประเภท คือ Corticosteroids Gestogens Androgens และ Estrogens โดยสเตียรอยด์ทั้ง 4 ประเภทพบในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งเกิดจากสเตียรอยด์ที่จัดเป็นสารมัธยันตร์ที่สำคัญ คือ Pregnenolone 1

2.4 สมบัติทางเคมีของสเตียรอยด์ [4]

สเตียรอยด์เป็นกลุ่มสารที่สามารถเกิดเป็นผลึกได้ มีสมบัติเฉพาะตัวคือความจำเพาะเจาะจงในการเกิดปฏิกิริยาเคมี การที่จะทราบถึงการกำหนดทิศทางการเข้าทำปฏิกิริยา (Regioselectivity) และการเลือกทำปฏิกิริยาที่มีสเตอริโอเคมีแน่นอน (Stereoselectivity) ในการเกิดปฏิกิริยาได้นั้น จำเป็นต้องศึกษาจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจริงในการทดลอง

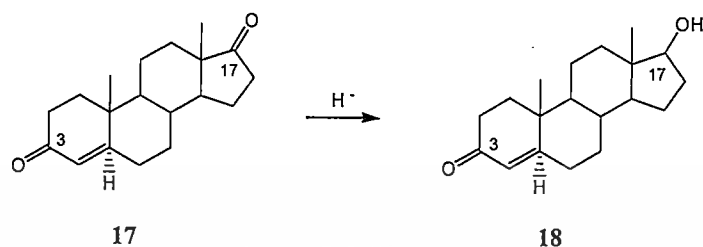
2.4.1 การกำหนดทิศทางการเข้าทำปฏิกิริยา (Regioselectivity)

การเกิดปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันบนโครงสร้างสเตียรอยด์จะขึ้นกับตำแหน่งบนโครงสร้างลำดับความสำคัญในการเกิดปฏิกิริยา คือ 3 11 17 และ 20 เช่น การเข้าทำปฏิกิริยาของนิวคลีโอไฟล์ที่หมู่คาร์บอนิล การเกิดปฏิกิริยารีดักชันโดยไฮดรยด์ไอออน การเกิดคีทาล (ketal formation) และปฏิกิริยาการเพิ่มโดยกรีนยาร์ตรีเอเจนต์ สามารถเรียงลำดับตำแหน่งที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาได้ คือ $3 > 17 \geq 20 > 11$ ตัวอย่างความเฉพาะเจาะจงในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ 5 α -androstane-3,17-dione 15 เป็น 3-hydroxy-5 α -androstane-17-one 16 แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งที่ 3 สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าตำแหน่งที่ 17

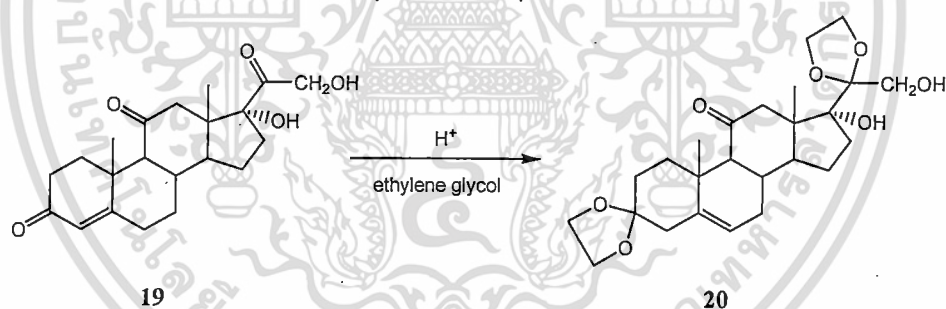


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ 15 การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควร 16 กัดให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

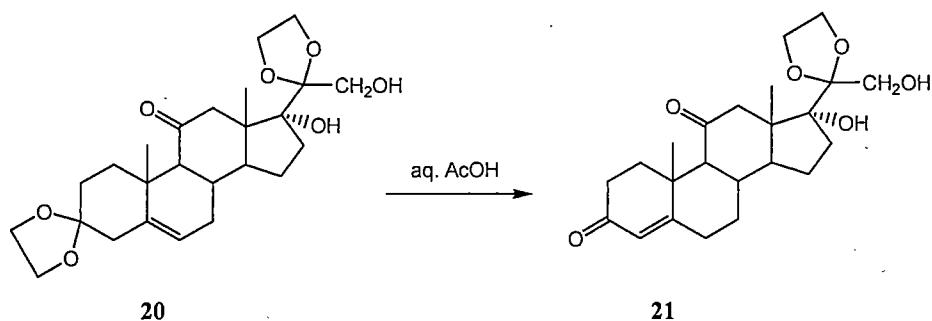
ถ้ามีความไม่อิ่มตัวของโครงสร้างในลักษณะ α,β -Unsaturation จะลดความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน แต่ไม่รวมถึงการเกิดคีทาล (ketal) เช่นการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ androst-4-ene-3, 17-dione 17 ที่ตำแหน่งที่ 17 ให้ Testosterone 18



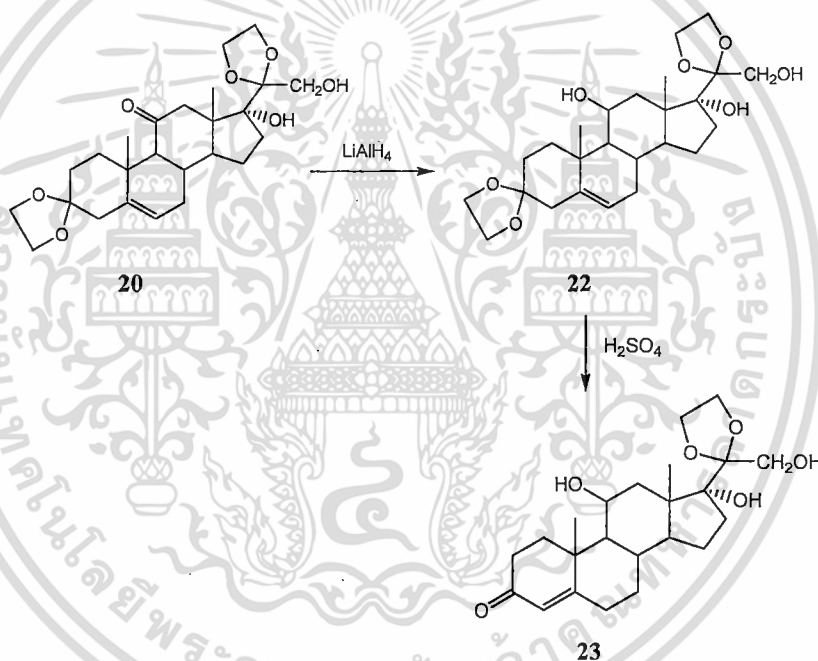
ปฏิกิริยาในการเกิดคีทาล (ketal) เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการป้องกันหมู่คาร์บอนิล เช่นปฏิกิริยาของ Cortisone 19 กับ ethylene glycol ในกรดสามารถป้องกันหมู่คาร์บอนิลได้ 2 หมู่ ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 20 ได้สาร 20 จะเห็นว่าหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 และ 20 มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาคึกกว่าหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 11 เมื่อเติมกรดแอซิดิก จากเดิมสาร 20 ซึ่งมีหมู่คีทาล (ketal) 2 หมู่จะได้สารผลิตภัณฑ์ 21 เหลือหมู่คีทาลเพียง 1 หมู่ที่ตำแหน่งที่ 20 จึงบอกได้ว่าตำแหน่งที่ 3 มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากที่สุด



Cortisone 19 เป็นสารที่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 4 จากโครงสร้างที่คาร์บอนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่สามารถเพิ่มความเสถียรโดยมีระบบคอนจูเกตกับหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 เมื่อหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 เกิดเป็นคีทาล ทำให้ระบบคอนจูเกตเสียไป ส่งผลให้เกิดไอโซเมอร์ที่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 5 และ 6 20 หลังจากนั้นสามารถเกิดพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 4 และ 5 ได้สาร 21 เมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในกรดแอซิดิก



สาร 20 เมื่อทำปฏิกิริยากับ LiAlH_4 (Lithium tri-*t*-butoxyaluminium hydride) จะทำปฏิกิริยารีดักชันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 11 ให้หมู่ไฮดรอกซิล เป็นสาร 22 จากนั้นทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกให้ Hydrocortisone 23



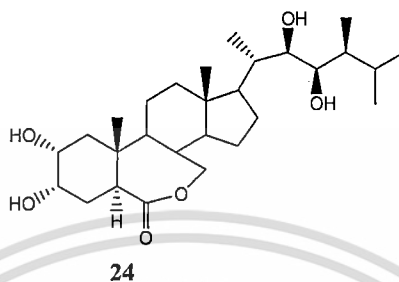
2.4.2 การเลือกทำปฏิกิริยาที่มีสเตอริโอเคมีแน่นอน (Stereoselectivity)

ปฏิกิริยาเคมีของสเตอริโอเคมีสามารถเกิดผลิตภัณฑ์มากกว่า 1 ชนิดได้ โดยจะแตกต่างกันในทิศทางที่เข้าทำปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถเกิดไอโซเมอร์ต่าง ๆ ขึ้นกับสถานะในการเกิดปฏิกิริยา ถ้าปฏิกิริยาสามารถผันกลับได้สิ่งสำคัญในการควบคุมทิศทางที่เกิดปฏิกิริยา คือ ค่าทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ดีกว่า แต่ในปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้สิ่งที่จำเป็นในการเกิดปฏิกิริยา คือ การเปลี่ยนโครงสร้างได้ไปอย่างรวดเร็วและค่าพลังงานที่ต่ำในสถานะทรานสิชัน

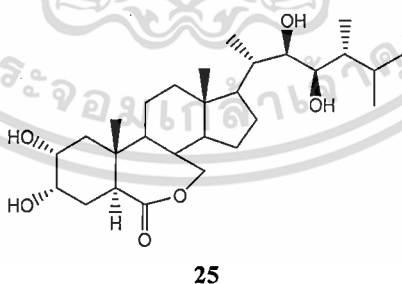
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

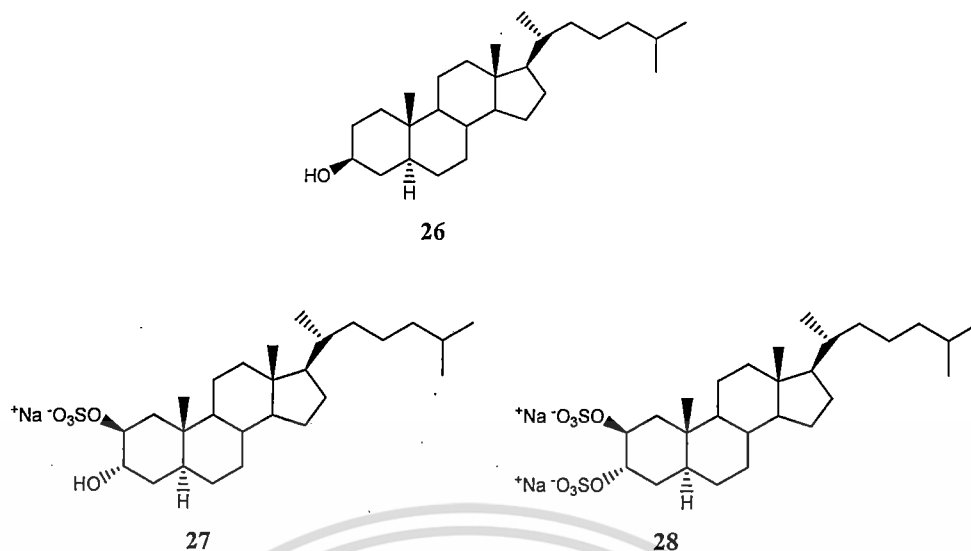
Tominaga และคณะ [5] พบว่า Brassinolide 24 จะกระตุ้นการยาวของเนื้อเยื่อค้ำนอกของ ฟักทองขาว (etiolated squash) การขยายของเนื้อเยื่อค้ำนอกทำให้เปลี่ยนแปลงสมบัติทางกลของผนังเซลล์ ถือว่าเป็นสมบัติเด่นของ Brassinolide 24



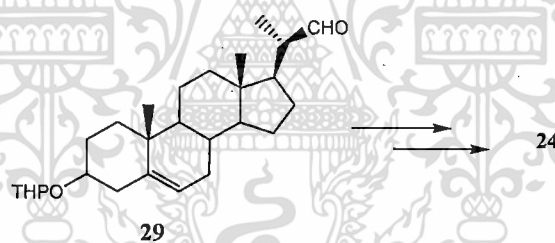
Raddick และ Guan [6] ได้ทดสอบผลของ Brassinosteroid 4 ชนิดต่อไปนี้ Brassinolide 24 24-epibrassinolide 25 22,23,24-triepibrassinolide และ 28-homobrassinolide ต่อการเจริญเติบโตของรากมะเขือเทศในการเลี้ยงที่ปราศจากเชื้อ (aseptic culture) พบว่า Brassinosteroid 4 ชนิดนี้ต้องมีความเข้มข้นมากกว่า 10^{-11} โมลต่อลิตร ในการทดสอบและเรียงลำดับฤทธิ์การยับยั้งการงอกของรากจากมากไปน้อยได้ดังนี้ Brassinolide 24-epibrassinolide 25 22,23,24-triepibrassinolide และ 28-homobrassinolide Brassinolide ยับยั้งการงอกของรากได้เมื่อความเข้มข้นเริ่มที่ 10^{-10} โมลต่อลิตร ขณะที่ 28-homobrassinolide สามารถยับยั้งการงอกของรากได้เมื่อความเข้มข้นเริ่มที่ 10^{-6} โมลต่อลิตร การยับยั้งการงอกที่มีความสำคัญในการทดลองนี้คือคิดตามแนวหลักของรากตามยาว (main axis) ขณะที่การเจริญเติบโตตามขวางของราก (lateral root) ไม่เปลี่ยนแปลง



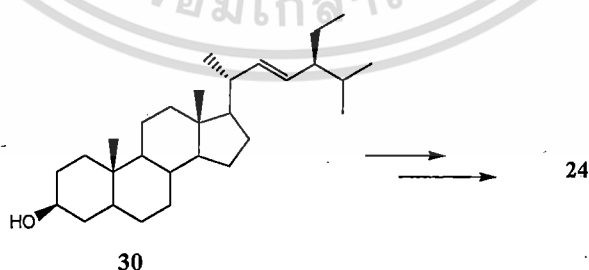
Santos และคณะ [7] ได้สังเคราะห์สเตียรอยด์ซัลเฟตจาก 3β -hydroxy - 5α -cholestene 26 พบว่า Sodium 2 β ,3 α -dihydroxy-5 α -cholestane 2-sulfate 27 และ Disodium 2 β ,3 α -dihydroxy-5 α -cholestane 28 มีฤทธิ์ในการต้าน Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) ได้ดีมากและสาร 28 ยังมีฤทธิ์ในการต้านไวรัสที่ทำให้เกิดโรคในคนชนิด Junin virus (JV) และ Dengue virus type 2 เอกสาร (DEN-2) อีกด้วย งานวิจัยนี้สนับสนุนให้หน่วยงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Ishigoro และคณะ [8] ได้สังเคราะห์ Brassinolide 24 ฮอว์โมนพืชที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโต โดยเริ่มจากสเตียรอยด์ 29 ซึ่งขั้นตอนในการสังเคราะห์มีหลายขั้นตอน รีเอเจนต์ที่ใช้เป็นพวก สารประกอบโลหะลิเทียม การเปิดวงอีพอกไซด์ การเติมหมู่แทนที่ต่าง ๆ เช่น -CHO, -CN และ -CH₃ ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 24 และปฏิกิริยารีดักชัน



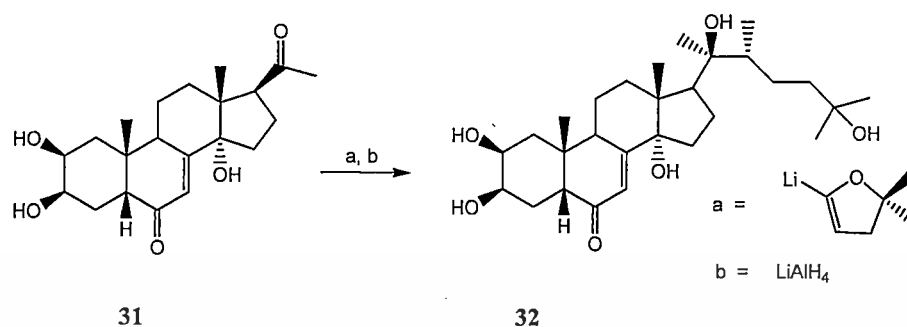
เช่นเดียวกับ Mori และคณะ [9] ได้เตรียมสเตียรอยด์ 24 จากสเตียรอยด์ 30



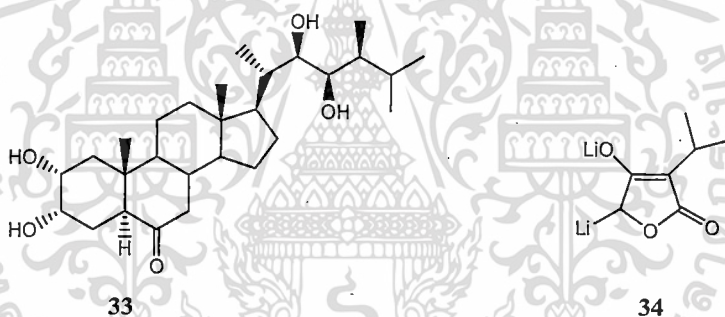
Welzel และคณะ [10] ได้สังเคราะห์เอคไดสเตียรอยด์ 20-hydroxycydysone 32 ซึ่งเป็น ฮอว์โมนลอกคราบแมลง โดยเริ่มจาก Poststerone 31 นำมาทำปฏิกิริยากับสารประกอบโลหะลิเทียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

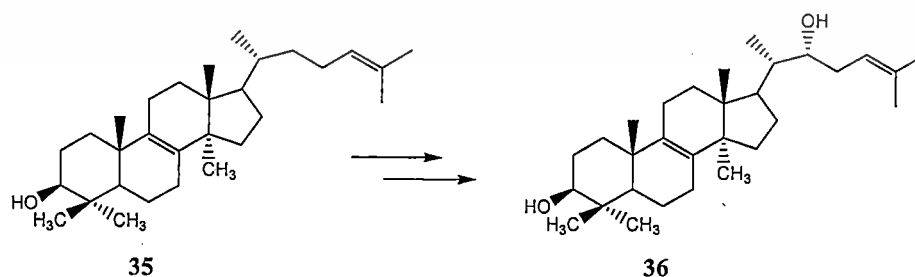
ได้สารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 20 จากนั้นทำปฏิกิริยารีดักชันโดยใช้ LiAlH_4 เป็นตัวรีดิวซ์หมู่คีโตตำแหน่งคาร์บอนที่ 22



Kametani และคณะ [11] ทำการสังเคราะห์ Castasterone 33 สตรีโมนพีชชนิดหนึ่งจาก Pregnenolone 1 โดยทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ dilithio ของ 3-isopropyltetronic acid 34 ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 20 เป็นหมู่คีโต ขั้นตอนในการสังเคราะห์จะคล้ายกับวิธีของ Ishiguro [8]

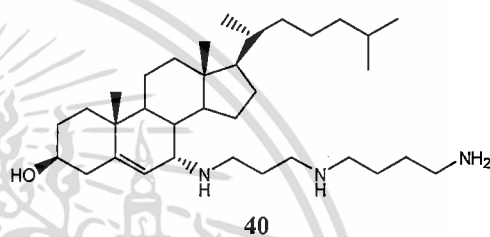
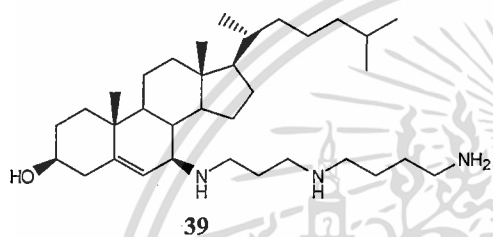
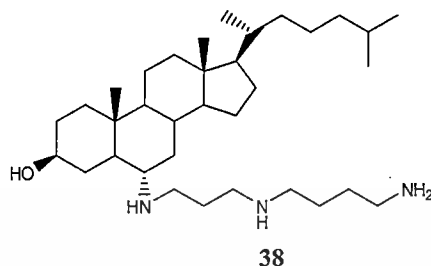
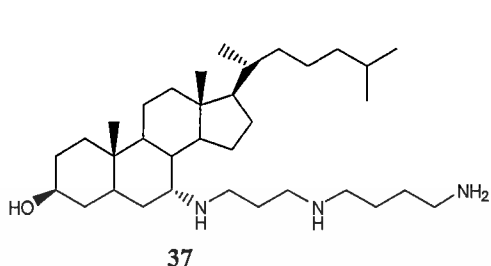


Ourisson และคณะ [12] สังเคราะห์ Inotodiol 36 สเตียรอยด์ที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อ โดยทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของสายโซ่ด้านข้างของ Lanosterol 35 ด้วยวิธีการเพิ่มหมู่ -OH ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 22

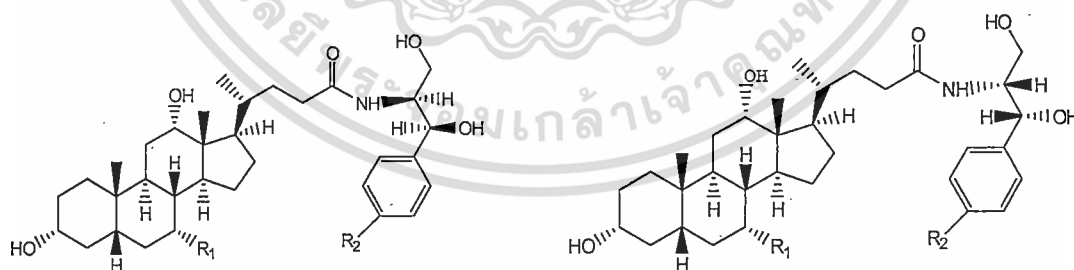


Choucair และคณะ [13] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ squalamine คือ $7\alpha\text{-N-[3N-(4-aminobutyl)aminocholestanol 37}$ $6\alpha\text{-N-[3N-(4-aminobutyl)aminocholestanol 38}$ 7α และ $7\beta\text{-N-}$ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[3*N*-(4-aminobutyl)aminopropyl]aminocholestanol **39** และ **40** จาก cholesterol **6** โดยการทำปฏิกิริยากับ spermidine ที่วง B จากการทดลองพบว่าสารทั้งหมดมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและสาร **39** และ **40** มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ



Hazra และคณะ [14] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ cholic acid **8** และ deoxycholic acid **9** จาก (1*R*,2*R*)-1-phenyl-2-amino-1,3-propanediol, (1*S*,2*S*)-1-phenyl-2-amino-1,3-propanediol, (1*R*,2*R*)-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol และ (1*S*,2*S*)-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol จากการทดลองพบว่าอนุพันธ์ของ amide **43** มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Cryptococcus neotormans* และ อนุพันธ์ของ amide **48** มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก



41 R₁ = OH ; R₂ = H

42 R₁ = OH ; R₂ = NO₂

43 R₁, R₂ = H

44 R₁ = H ; R₂ = NO₂

45 R₁ = OH ; R₂ = H

46 R₁ = OH ; R₂ = NO₂

47 R₁, R₂ = H

48 R₁ = H ; R₂ = NO₂

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

	เกรด	บริษัท
1. เพรกนิน โนโลน	AR grade	Fluka
2. กรดโคลิก	AR grade	Fluka
3. กรดดีออกซีโคลิก	AR grade	Fluka
4. 1,3-ไดอะมิโนโพรเพน	AR grade	Fluka
5. 1,4-ไดอะมิโนบิวเทน	AR grade	Fluka
6. 1,5-ไดอะมิโนเพนเทน	AR grade	Fluka
7. 1,6-ไดอะมิโนเฮกเซน	AR grade	Fluka
8. 1,7-ไดอะมิโนเฮปเทน	AR grade	Fluka
9. 1,8-ไดอะมิโนออกเทน	AR grade	Fluka
10. 1,9-ไดอะมิโนโนเนน	AR grade	Fluka
11. เฮกเซน	Commercial grade	ZEN POINT
12. เอทิลเอซีเตต	Commercial grade	ZEN POINT
13. ไคคลอโรมีเทน	AR grade	Fisher scientific
14. เมทานอล	Commercial grade	Thai pure science
15. ไดเมทิลฟอร์มาไมด์	AR grade	Lab-Scan
16. พิริดีน	AR grade	Lab-Scan
17. Wang resin	AR grade	Fluka
18. 4-ไนโตรฟีนิลคลอโรฟอร์มเมต	AR grade	Merck
19. <i>N,N'</i> -diisopropylcarbodiimide	AR grade	Aldrich
20. กรดไตรฟลูออโรเอซีติก	AR grade	Fluka
21. เบนซิลคลอไรด์	AR grade	Fluka
22. แอลลิลโบรไมด์	AR grade	Fluka
23. ซัลฟามิกแอซิด	AR grade	Fluka
24. Magnesium Sulphate Anhydrous	AR grade	UNILAB
25. ผงวุ้นและ WP (Wettable powder)		

26. ซิลิกาเจล 60 ขนาด 0.02-0.06 มิลลิเมตร 230-400 mesh ASTM (Scharlau GE0048)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

27. รีเอเจนต์ A

28. รีเอเจนต์ B

3.2 การทดลองทั่วไป

ตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลเอซิเตต และเมทานอลที่ใช้สำหรับการทำคลอแลมน์โครมาโทกราฟีเป็นเกรดทางการค้าถูกนำมาผ่านกระบวนการกลั่นก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง และตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ที่นำมาใช้จะแช่ไว้ใน Molecular sieve เพื่อลดน้ำและความชื้น ส่วนสารเคมีที่ได้จากการซื้อจะนำมาใช้โดยปราศจากการทำสารให้บริสุทธิ์

ตัวทำละลายฟิรีดีนที่ใช้ในการทดลอง ถูกนำมาผ่านกระบวนการกลั่นที่อุณหภูมิ 115 – 116 องศาเซลเซียส และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อลดน้ำ ระยะเวลาในการใช้ 30 วัน

สเปกตรัม ^1H และ ^{13}C NMR ถูกบันทึกโดยเครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ BRUKER รุ่น Avance DPX 300 ความถี่ 300 เมกะเฮิร์ต การละลายสารตัวอย่างจะทำการละลายโดยใช้ตัวทำละลาย CDCl_3 และ CD_3OD จะปรากฏตำแหน่งสัญญาณของ CHCl_3 ที่ δ 7.25 ppm สำหรับสเปกตรัม ^1H NMR และที่ δ 77.5 ppm และสเปกตรัม ^{13}C NMR และ CD_3OH ที่ δ 4.80 ppm สำหรับสเปกตรัม ^1H NMR และที่ δ 49.0 ppm สำหรับสเปกตรัม ^{13}C NMR ตามลำดับ

อินฟราเรดสเปกตรัมบันทึกโดยเครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด Perkin Elmer รุ่น Spectrum GX 60237 โดยใช้ KBr เป็นวัสดุในการทำหน้าต่างเซลล์ และทำการบันทึกในช่วงความถี่ $4,000 - 400 \text{ cm}^{-1}$

แมสสเปกตรัมบันทึกโดยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ Finnigan LC – Q MS detector ด้วยเทคนิค Electrospray จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง และ Thermo Finnigan Model Palaris Q – Mass spectrometer serial No. MS 210179 จากมหาวิทยาลัยมหิดล

การทดสอบการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์โดยใช้ รีเอเจนต์ A และ รีเอเจนต์ B ในการทดสอบ ซึ่งเตรียมได้ดังนี้

รีเอเจนต์ A : สารละลาย 1) ชั่งฟีนอล 40 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ 10 มิลลิลิตร สารละลาย 2) ชั่งโพแทสเซียมไฮยาไนด์ 65 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นแบ่งสารละลายมา 2 มิลลิลิตร เจือจางด้วยฟิรีดีน 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการผสมสารละลาย 1 และ 2 ตั้งปั่นกวนให้สารละลายผสมเข้ากัน

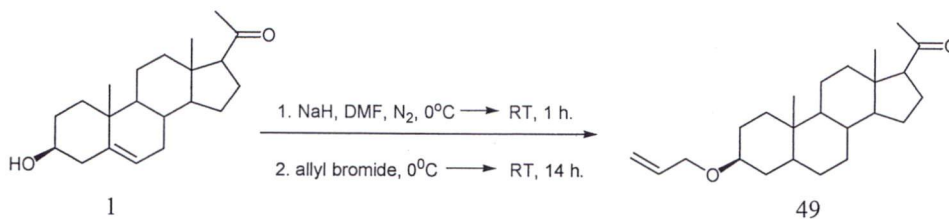
รีเอเจนต์ B : ชั่งนินไฮดริน 2.5 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ 50 มิลลิลิตร

3.3 วิธีการสังเคราะห์สาร

3.3.1 การสังเคราะห์สาร 3 β -Alloxy-5-pregnene-20-one 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 1

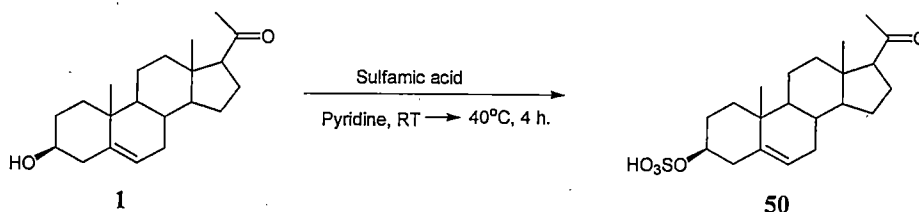


1. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 18.0 มิลลิกรัม (1.0 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมสองคอขนาด 100 มิลลิลิตร เติมไดเมทิลฟอร์มาไมด์ 3 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะไนโตรเจน
2. ชั่ง Pregnenolone 1 300.0 มิลลิกรัม (0.95 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดเมทิลฟอร์มาไมด์ 3 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้สภาวะไนโตรเจน
3. เติมสารละลายจากข้อ 2 ลงในสารที่เตรียมในข้อ 1 ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไนโตรเจน และปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. เติมแอลิลโบรไมด์ 0.06 มิลลิลิตร (1.20 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลมที่มีสารละลาย Pregnenolone 1 ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไนโตรเจนและปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปั่นกวนต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมง
5. ทดสอบการดำเนินของปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทิลเอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 8 : 2
6. เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้ว ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และสารละลาย 10 % กรดไฮโดรคลอริก 20 มิลลิลิตรและทำการสกัดสารละลายด้วยเอทิลเอซิเตต 3 x 20 มิลลิลิตร และทำการคูลน้ำจากชั้นอินทรีย์ด้วย MgSO₄ ปราศจากน้ำ นำชั้นอินทรีย์ไประเหยตัวทำละลายออก จะได้สารลักษณะคล้ายน้ำมันสีใส
7. นำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบของตัวชะสารคือ เฮกเซนต่อเอทิลเอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 3 ได้สารผลิตภัณฑ์ 49 156.1 มิลลิกรัม (69.29%) มีค่า R_f เท่ากับ 0.85 ทำการตรวจสอบโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.3.2 การสังเคราะห์สาร 3β-Sulfate-5-pregnene-20-one 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 2

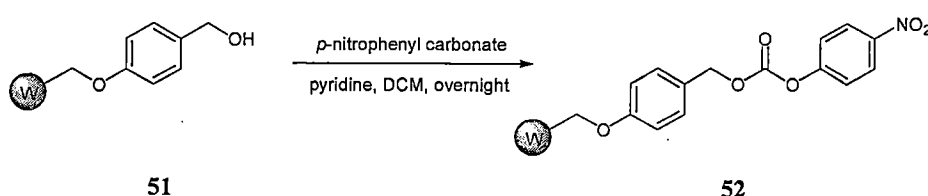


1. ชั่ง Pregnenolone 1 500.0 มิลลิกรัม (1.57 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยไพริดีน 10 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
2. เติม Sulfamic acid 184.4 มิลลิกรัม (1.2 มิลลิโมล) ที่อุณหภูมิห้อง ลงในสารละลายของ Pregnenolone 1 และทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นให้ความร้อนผ่านอ่างน้ำมันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และทำการปั่นกวนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. ทดสอบการดำเนินของปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยใช้ระบบตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 7 : 3
4. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว
5. นำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบของตัวชะสารคือ ไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 80 : 20 ได้สารผลิตภัณฑ์ 50 622.0 มิลลิกรัม (99.28 %) มีค่า R_f เท่ากับ 0.70 ทำการตรวจสอบโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบสแอสิดโดยเทคนิควิทยาศาสตร์ของแข็ง

3.4.1 ปฏิกิริยาการกระตุ้น Wang resin โดยการเปลี่ยนเป็นหมู่คาร์บอเนต

แผนภาพที่ 3

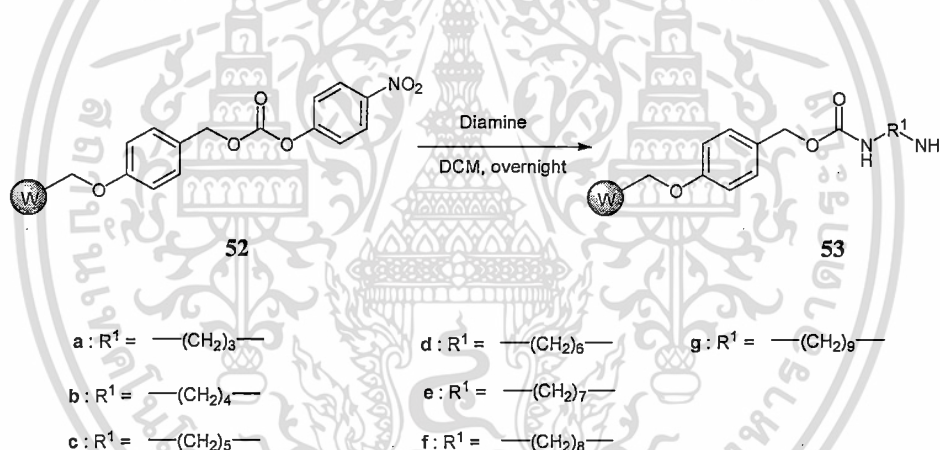


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ชั่ง Wang resin **51** จำนวน 100.0 มิลลิกรัม (0.10 มิลลิโมล) ใส่ลงใน column cap แล้วเติม ไดคลอโรมีเทน 10 มิลลิลิตร แช่ไว้ประมาณ 10 นาที จนกระทั่งเรซินบวมตัว
2. ไซ้ไดคลอโรมีเทนออกจาก column cap เติมสารละลายของ 4-ไนโตรฟีนิลไดคลอโรฟอร์เมต 80.6 มิลลิกรัม (0.40 มิลลิโมล) ในไดคลอโรมีเทน ลงใน column cap
3. เติมฟิรดินลงไปประมาณ 5 หยด แล้วเติมไดคลอโรมีเทนจนได้ปริมาตร 2/3 ของ column cap
4. จากนั้นปิดฝา column cap ให้เรียบร้อย และระบายความดันภายใน column cap นำ column cap ไปตั้งหมუნ เปิดเครื่องตั้งหมუნทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
5. เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดไซ้สารละลายที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาทิ้ง จากนั้นล้างเรซินด้วยไดคลอโรมีเทนหลาย ๆ ครั้ง จะได้ *p*-nitrophenyl carbonate wang resin **52**

3.4.2 ปฏิกิริยาการใส่ไดเอมีนเข้าไปทำปฏิกิริยากับ Wang resin

แผนภาพที่ 4

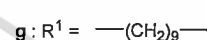
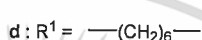
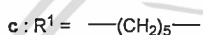
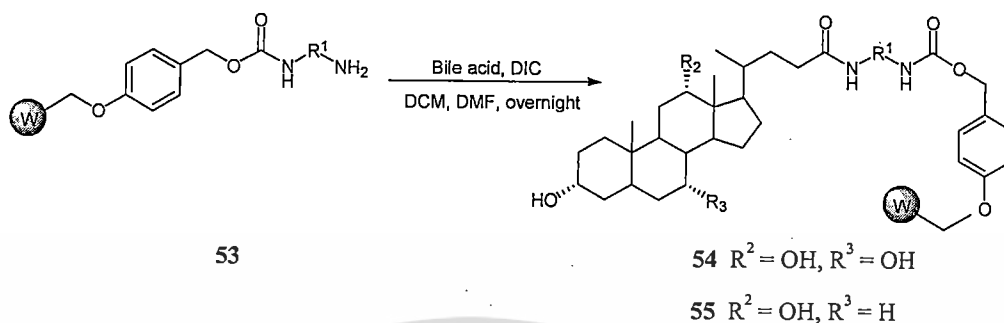


1. ชั่งไดเอมีนจำนวน 4 equivalent ของ Wang resin ละลายในไดคลอโรมีเทน จากนั้นเติมลงใน column cap ที่ได้จากปฏิกิริยา 3.4.1
2. จากนั้นเติมไดคลอโรมีเทนลงใน column cap จนได้ปริมาตร 2/3 ของหลอด
3. นำ column cap ไปตั้งหมუნ เปิดเครื่องตั้งหมუნทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
4. เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดไซ้สารละลายที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาทิ้ง จากนั้นล้างเรซินด้วยไดคลอโรมีเทนสลับกับเมทานอลหลาย ๆ ครั้ง
5. นำเม็ดเรซิน 2-3 เม็ด ใส่หลอดทดลองขนาดเล็กไปทดสอบ โดยใส่ รีเอเจนต์ A 3 หยด และ รีเอเจนต์ B 1 หยด จากนั้นนำหลอดทดลองนี้ไปให้ความร้อนประมาณ 1 นาที ถ้าเม็ดเรซิน เปลี่ยนเป็นสีม่วงแสดงว่าไดเอมีนได้ทำปฏิกิริยากับ Wang resin สมบูรณ์แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 ปฏิกิริยาการใส่ไบลต์แอซิดเข้าไปทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน

แผนภาพที่ 5

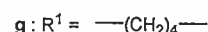
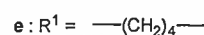
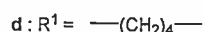
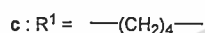
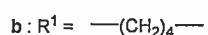
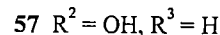
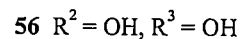
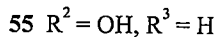
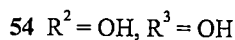
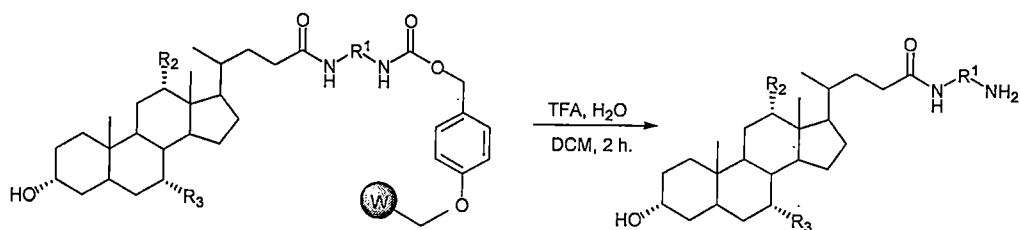


1. ชั่ง ไบลต์แอซิดจำนวน 4 equivalent ของ Wang resin ใส่ลงใน vial ละลายไบลต์แอซิดด้วย ไดคลอโรมีเทน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ทำการปั่นกวนจนกระทั่ง ไบลต์แอซิดละลายหมด
2. จากนั้นใส่ DIC ลงในไบลต์แอซิดปั่นกวนต่อเป็นเวลา 10 นาที
3. นำไบลต์แอซิดที่ได้จากข้อ 2 ใส่ลงใน column cap ที่มีเรซินที่ได้จากปฏิกิริยา 3.4.2
4. เติมไดคลอโรมีเทนลงใน column cap จนมีปริมาณเป็น 2/3 ของหลอด
5. นำ column cap ไปตั้งหมุน เปิดเครื่องตั้งหมุนทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
6. เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด ไขสารละลายที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาทิ้ง และล้างเรซินด้วยไดคลอโรมีเทนสลับกับเมทานอล จากนั้นแช่เรซินในไดคลอโรมีเทนเป็นเวลา 30 นาที สลับกับแช่ในเมทานอลเป็นเวลา 30 นาทีเช่นกัน ประมาณ 5-6 ครั้ง
7. นำเม็ดเรซิน 2-3 เม็ด ใส่หลอดทดลองขนาดเล็กไปทดสอบ โดยใส่รีเอเจนต์ A 3 หยด และรีเอเจนต์ B 1 หยด จากนั้นนำหลอดทดลองนี้ไปให้ความร้อนประมาณ 1 นาที ถ้าเม็ดเรซินไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วงแสดงว่าไบลต์แอซิดได้ทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนสมบูรณ์แล้ว

3.4.4 ปฏิกิริยาการตัดสารผลิตภัณฑ์ออกจาก Wang resin

แผนภาพที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1. นำ column cap ที่มีเรซินที่ได้จากปฏิกิริยา 3.4.3 มาเติมกรดไตรฟลูออโรแอซิดลงไปประมาณ 1/3 โดยปริมาตรของหลอด
2. จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 2-3 หยด
3. เติมไดคลอโรมีเทนลงใน column cap จนมีปริมาตรเป็น 2/3 ของหลอด
4. นำ column cap ไปตั้งหมუნ เปิดเครื่องตั้งหมუნทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
5. ไซสารละลายจาก column cap ใส่ลงในขวดแก้วเล็กที่ทราบน้ำหนัก จากนั้นนำไปพันด้วยก๊าชไนโตรเจนเพื่อกำจัดตัวทำละลายออกจากสารผลิตภัณฑ์ทั้งหมด
5. นำขวดแก้วเล็กที่มีสารผลิตภัณฑ์ไปชั่งน้ำหนักเพื่อกำหนดหาปริมาณสารผลิตภัณฑ์ที่ได้
6. นำสารผลิตภัณฑ์ไปตรวจวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

3.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืช

พืชที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่

- ข้าว พันธุ์ กข6
- หญ้าข้าวเนก เก็บในช่วงเดือน กรกฎาคม-กันยายน มีอัตราการงอก 80 เปอร์เซ็นต์
- ผักโขมจีน จากบริษัท ที เอส เอ จำกัด มีอัตราการงอก 80 เปอร์เซ็นต์

3.5.1 การทดสอบผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยวิธี Agar Test

วิธี Agar Test เป็นวิธีการทดสอบการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ในวัสดุปลูกที่เป็นวุ้น ในการทดลองนี้ใช้เมล็ดพืชทดสอบ ข้าว โดยวางเมล็ดข้าว 1 เมล็ดในหลอดทดลองขนาด

16 X 160 มิลลิเมตร ที่มีอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ในวุ้นที่มีความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายวัน 0.66 เปอร์เซ็นต์

ชั่งผงวัน 2.668 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 400 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยแผ่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จนผงวันละลายมีลักษณะใส

การเตรียมสารละลาย WP (CHECK)

ชั่ง WP 340 มิลลิกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 15 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จะได้สารละลาย WP

การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของ Pregnenolone

นำอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ในอัตราส่วน 15 ต่อ 85 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และละลายสารด้วยน้ำกลั่นจะได้อนุพันธ์ของ Pregnenolone ดังนี้

- การเตรียมอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ความเข้มข้น 4000 ppm (Stock solution 4000 ppm)

1. ชั่งอนุพันธ์ของ Pregnenolone 60.0 มิลลิกรัม ใส่ในโถรงบดสารแล้วละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม บดอนุพันธ์ของ Pregnenolone ให้ละลาย จากนั้นเติม WP 340 มิลลิกรัมลงในโถรงที่มีอนุพันธ์ของ Pregnenolone บดผสมกันจนแห้งแล้วเติมตัวทำละลายบดซ้ำ 2 ครั้ง จนได้ของผสมเป็นผงละเอียด
2. นำของผสมของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ที่บดผสมกับ WP ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 15 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จะได้อนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ที่มีความเข้มข้น 400 ppm

การทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ทำการเจือจางสารอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ให้ได้ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 100 200 300 และ 400 ppm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 เพื่อทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ คือ ข้าว แซ่เมล็ดข้าวในน้ำก่อนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นเมตาบอลิซึมและคัดเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์ ทำการเตรียมสารละลายวันโดยให้สารละลายวันมีความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำเมล็ดข้าวเสียบบนสารละลายวันที่แห้งตัวอยู่ในหลอดทดลองทำมุม 45 องศา หลอดทดลองละ 1 เมล็ด จากนั้นใช้พาราฟิล์มปิดปากหลอดทดลอง และนำไปเก็บไว้ในตู้เพาะเลี้ยงการเจริญเติบโต (Growth Chamber)

ตารางที่ 3.1 ปริมาตรของอนุพันธ์ของ Pregnenolone แต่ละความเข้มข้นในการทดสอบโดยวิธี

Agar Test

ความเข้มข้น (ppm)	ปริมาตรวุ้น (mL)	Stock solution 4000 ppm (mL)	CHECK (mL)	น้ำกลั่น (mL)	ปริมาตรรวม (mL)
control	45	-	-	5.0	50
CHECK	45	-	5.0	-	50
400	45	5.0	-	-	50
300	45	3.75	1.25	-	50
200	45	2.5	2.5	-	50
100	45	1.25	3.75	-	50

การวางแผนการทดลอง การวัดผลและการเก็บข้อมูล ในการทดลองนี้พืชทดสอบใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ผลหลังจากเพาะเมล็ด 7 วัน จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5.2 การเตรียมเมล็ดพืชทดสอบ

คัดแยกเมล็ดพืชที่มีความสมบูรณ์ออกมา สำหรับหญ้าข้าวจะต้อนนำไปแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ส่วนผักโขมจีนไม่ต้องแช่น้ำ

3.5.3 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของไบโอดีเอซิดในเมทานอล และการทดสอบ

ชั่งสารอนุพันธ์ของไบโอดีเอซิดจำนวน 8.0 มิลลิกรัมละลายในเมทานอล 0.8 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 500 250 125 และ 62.5 ppm ปิเปตสารละลายในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเมล็ดพืชขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 3.5 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด แล้วปล่อยให้เมทานอลระเหยออกจนสมบูรณ์ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ใส่เมล็ดพืชทดสอบซึ่งได้แก่ หญ้าข้าว และผักโขมจีน จำนวน 10 เมล็ดต่อขวด ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม ทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง

3.5.4 การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในแต่ละพืชทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยนับจำนวนการงอกของเมล็ด วัดความยาวต้นและความยาวรากในวันที่ 7 โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีเรดิเคิล (radicle) งอกพื้นออกมายาว 2 มิลลิเมตร เป็นเมล็ดที่งอก นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ดัดแปลงมาจากวิธีของ Bauer และคณะ [15] โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

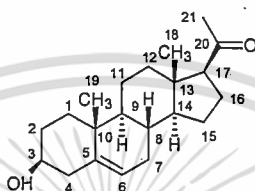
1. นำแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่เก็บไว้บน Trypticase Soy Agar เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain Heart Infusion Broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อราใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Sabouraud Broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 72 ชั่วโมง
2. หลังจากนั้นนำแบคทีเรียที่เพาะได้มาปรับความขุ่นที่ 660 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ความขุ่นของ McFarland เบอร์ 0.5 ซึ่งเทียบเท่ากับจำนวนแบคทีเรีย $10^7 - 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร
3. นำแบคทีเรียที่เตรียมได้มาเพาะลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mueller Hinton Ager อยู่ โดยการขีดลงบนหน้าวุ้นให้ทั่วจำนวน 3 ครั้ง ทำให้ได้จานอาหารเลี้ยงเชื้อมีแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ อยู่บนหน้าวุ้น
4. หลังจากนั้นนำแผ่นดิสก์ขนาด 0.6 มิลลิเมตร ที่มีสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งละลายด้วย DMSO (เจือจางลงเป็น 2 เท่าตามลำดับ) วางบนผิววุ้นที่มีแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ บ่มทิ้งไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 – 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย ในกรณีทดสอบกับแบคทีเรียใช้ Vancomycin และ Oxacilin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ
5. อาหารสำหรับเชื้อราใช้เป็นชนิด Sabouraud Agar และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 – 72 ชั่วโมง ซึ่งอุณหภูมิและเวลาขึ้นอยู่กับเชื้อราแต่ละชนิด

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Pregnenolone

สเตียรอยด์ในการทดลองนี้คือ Pregnenolone 1



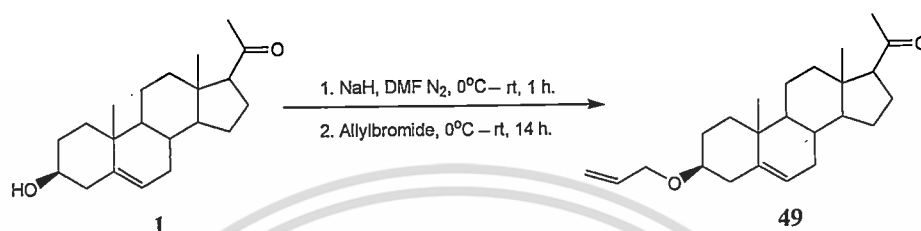
Pregnenolone 1

จากงานวิจัยของ Szendi และคณะ[16] ทำการพิสูจน์โครงสร้างของ Pregnenolone 1 โดยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR พบว่า ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.84 และ 1.08 (2H, H-1), 1.84 และ 1.48 (2H, H-2), 3.54 (1H, H-3), 2.27 (2H, H-4), 5.34 (1H, H-6), 1.97 และ 1.57 (2H, H-7), 1.46 (1H, H-8), 0.98 (1H, H-9), 1.62 และ 1.47 (2H, H-11), 2.04 และ 1.43 (2H, H-12), 1.17 (1H, H-14), 1.68 และ 1.23 (2H, H-15), 2.19 และ 1.66 (2H, H-16), 2.55 (1H, H-17), 0.63 (3H, H-18), 1.00 (2H, H-19) และ 2.11 (3H, H-21) ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 37.3 (C-1), 31.6 (C-2), 71.7 (C-3), 42.3 (C-4), 140.8 (C-5), 121.4 (C-6), 31.8 (C-7), 31.9 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 21.1 (C-11), 38.9 (C-12), 44.0 (C-13), 56.9 (C-14), 24.5 (C-15), 22.9 (C-16), 63.7 (C-17), 13.2 (C-18), 19.4 (C-19), 209.4 (C-20), 31.5 (C-21) เมื่อตรวจสอบเปรียบเทียบกับ ^1H NMR และ ^{13}C NMR กับ Pregnenolone 1 จากบริษัท Fluka ได้ผล ^1H NMR และ ^{13}C NMR สอดคล้องกับข้อมูลของ Szendi และคณะ ได้เสนอไว้คือ ^1H NMR (CDCl_3 ; 300 MHz) δ 3.53 (m, 1H, H-3), 5.35 (br.t, 1H, H-6), 2.53 (t, 1H, H-17, $J_{\text{H-17, H-16}} = 8.0$ Hz), 0.63 (s, 3H, H-18), 1.00 (s, 3H, H-19), 2.12 (s, 3H, H-21) และ 1.0-2.5 (m, $-\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 300 MHz) δ 37.3 (C-1), 31.6 (C-2), 71.6 (C-3), 42.2 (C-4), 140.8 (C-5), 121.3 (C-6), 31.8 (C-7), 31.9 (C-8), 50.0 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 38.9 (C-12), 44.0 (C-13), 56.9 (C-14), 24.9 (C-14), 24.5 (C-15), 22.8 (C-16), 63.7 (C-17), 13.2 (C-18), 19.4 (C-19), 209.6 (C-20) และ 31.5 (C-21)

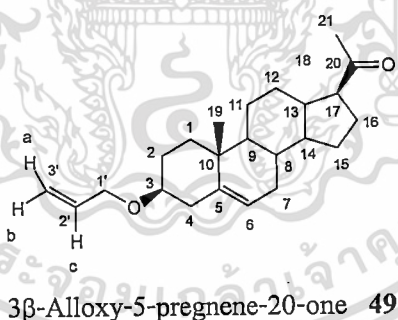
4.1.1 การสังเคราะห์สาร 3 β -Alloxy-5-pregnene-20-one 49

สังเคราะห์สาร 49 จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง Pregnenolone 1 กับ Allyl bromide โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ เป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 7



ผลการทดลองเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย เฮกเซนต่อเอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 8 : 2 ทดสอบด้วย Anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสี เขียว ซึ่งจุดของสารผลิตภัณฑ์จะอยู่สูงกว่าสารตั้งต้น แสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น นำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวชะสารคือ เฮกเซนต่อเอทิลแอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 3 ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะคล้ายน้ำมัน และเย็นย่น สูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี



ข้อมูลที่ได้คือ IR (KBr) cm^{-1} : 2932 (C-H stretching ของหมู่ CH_2), 2860 (C-H stretching ของหมู่ CH_3), 1706 (C=O stretching), 1451 (CH_2 bending), 1355 (CH_3 bending) และ 1094 (C-O stretching); ^1H NMR (CDCl_3 ; 300 MHz) δ 3.21 (m, 1H, H-3), 5.35 (br t, 1H, H-6), 2.50 (t, 1H, H-17, $J_{\text{H-17, H-16}} = 8.0$ Hz), 0.64 (s, 3H, H-18), 1.09 (s, 3H, H-19), 2.12 (s, 3H, H-21), 4.03 (d, 2H, H-1', $J_{\text{H-1', H-2'}} = 5.51$ Hz), 5.92 (m, 1H, H-2') และ 5.13 และ 5.25 (dd, 2H, H-3', $J_{\text{H-a, H-b}} = 1.38$ Hz, $J_{\text{H-b, H-c}} = 10.2$ Hz, $J_{\text{H-a, H-c}} = 17.2$ Hz) และ 1.0-2.5 (m, CH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 300 MHz) δ 38.6 (C-1), 32.8 (C-2), 70.3 (C-3), 40.4 (C-4), 142.3 (C-5), 122.5 (C-6), 33.1 (C-7), 33.2 (C-8),

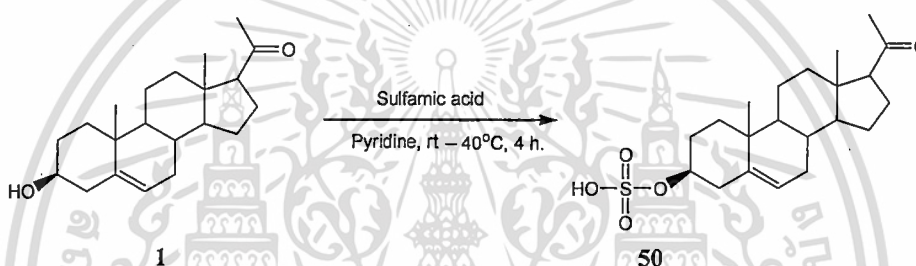
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

51.4 (C-9), 38.2 (C-10), 22.4 (C-11), 40.2 (C-12), 45.3 (C-13), 58.3 (C-14), 25.8 (C-15) 24.2 (C-16), 65.0 (C-17), 14.5 (C-18), 20.7 (C-19), 210.8 (C-20), 29.7 (C-21), 79.7 (C-1'), 136.8 (C-2') และ 117.8 (C-3'); EI-MS: $C_{24}H_{36}O_2$ Cal. 356.5 g/mol ข้อมูลที่ได้คือ m/z $[M]^+$ 356 (11.9 %) 315 (5.2 %) 300 (100.0 %) 285 (39.5 %) 257 (32.8 %) และ 241 (41.8 %)

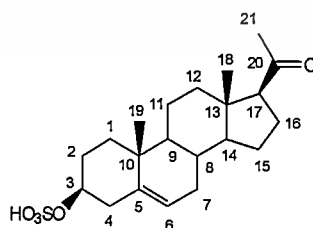
4.1.2 การสังเคราะห์สาร 3 β -Sulfate-5-pregnene-20-one 50

สังเคราะห์สาร 50 จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง Pregnenolone 1 กับ Sulfamic acid โดยใช้ไพริดีน เป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 8



ผลการทดลองเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 7 : 3 ทดสอบด้วย Anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสีเขียว ซึ่งจุดของสารผลิตภัณฑ์จะอยู่ต่ำกว่าสารตั้งต้น แสดงว่าสารผลิตภัณฑ์มีขั้วสูงกว่าสารตั้งต้น นำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวละลายคือ ไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วนเท่ากับ 80 : 20 ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 167-169 องศาเซลเซียส และยืนยันสูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี



3 β -Sulfate-5-pregnene-20-one 50

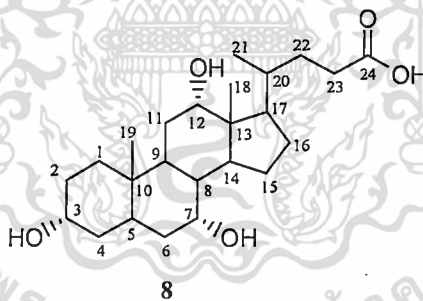
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลที่ได้คือ IR (KBr) cm^{-1} : 3493 (O-H stretching), 2942 (C-H stretching ของหมู่ CH_2), 2825 (C-H stretching ของหมู่ CH_3), 1704 (C=O stretching ของหมู่ คีโต), 1450 (CH_2 bending), 1358 (CH_3 bend) 1236 ; 994 (S=O stretching) และ 1066 (C-O stretching); ^1H NMR ($\text{CH}_3\text{OH}-d_4$, 300 MHz) δ 4.15 (m, 1H, H-3), 5.40 (br t, 1H, H-6), 2.66 (t, 1H, H-17, $J_{\text{H-17, H-16}} = 8.7$ Hz), 0.65 (s, 3H, H-18), 1.05 (s, 3H, H-19) และ 2.14 (s, 3H, H-21) และโปรตอนที่อยู่ในช่วง δ เท่ากับ 1.0 ถึง 2.5 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene ; ^{13}C NMR ($\text{CH}_3\text{OH}-d_4$; 300 MHz) δ 78.5 (C-3), 140.3 (C-5), 121.8 (C-6), 50.2 (C-9), 48.6 (C-13), 56.7 (C-14), 63.4 (C-17), 211.0 (C-20) และ คาร์บอนที่อยู่ในช่วง δ เท่ากับ 10.0 ถึง 40.0 ppm เป็นของหมู่ methylene และหมู่ methyl; ES-MS : $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{S}$ Cal. 396.59 g/mol ข้อมูลที่ได้คือ m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 397.7 (100.0 %) 379.3 (1.7 %) และ 315.3 (2.9 %)

4.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบต์แอซิดโดยเทคนิควิทยุภาคของแข็ง

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบต์แอซิดโดยเทคนิควิทยุภาคของแข็ง ไบต์แอซิดที่ใช้เป็นสารตั้งต้น คือ กรดโคลิก 8 และกรดคีออกซีโคลิก 9 โดยทำการพิสูจน์โครงสร้างของไบต์แอซิดด้วยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR ได้ผลดังต่อไปนี้

กรด โคลิก 8

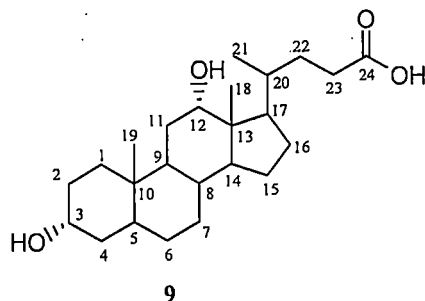


^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.61 (3H, s, H18), 0.81 (3H, s, H19), 0.91 (3H, d, $J_{\text{H21, H20}} = 6.2$ Hz, H21), 1.19-1.92 (m, $-\text{CH}_2$), 2.07-2.26 (m, $-\text{CH}_2$), 3.20-3.30 (1H, m, H3), 3.69 (1H, m, H7) และ 3.85 (1H, m, H12)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.7 (C21), 23.2 (C19), 24.2 (C15), 27.9 (C9), 28.6 (C16), 29.6 (C11), 31.2 (C2), 32.0 (C22), 32.3 (C23), 35.9 (C6), 35.9 (C10), 36.5 (C1), 36.7 (C20), 40.5 (C4), 41.0 (C8), 43.0 (C14), 43.2 (C5), 47.5 (C13), 48.0 (C17), 69.1 (C7), 72.9 (C3), 74.0 (C12) และ 178.2 (C24)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดดีออกซีโคเลสิก 9



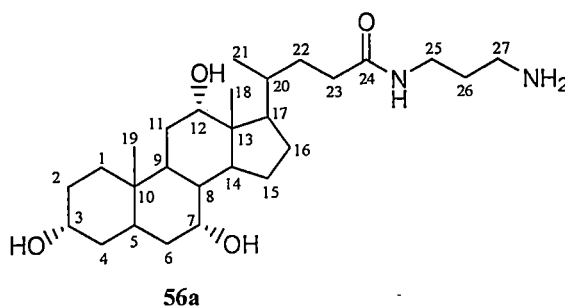
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.57 (3H, s, H18), 0.79 (3H, s, H19), 0.87 (3H, d, $J_{\text{H21},\text{H20}} = 6.2$ Hz, H21), 0.93–1.75 (m, $-\text{CH}_2$), 2.01–2.26 (m, $-\text{CH}_2$), 3.17 (1H, m, H3) และ 3.82 (1H, m, H12)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.4 (C21), 23.5 (C19), 24.7 (C15), 27.3 (C7), 28.2 (C6), 28.4 (C16), 29.7 (C11), 30.9 (C2), 31.8 (C22), 32.1 (C23), 34.6 (C9), 35.1 (C10), 36.3 (C1), 36.5 (C20), 37.0 (C4), 37.2 (C8), 43.4 (C5), 47.4 (C13), 47.9 (C17), 49.1 (C14), 72.3 (C3), 73.8 (C12) และ 178.0 (C24)

ข้อมูลจากการวิเคราะห์โครงสร้างของไบต์แอซิดด้วยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR ที่แสดงไว้ข้างต้นนี้ สามารถนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างของไบต์แอซิดเอไมด์สังเคราะห์ โดยสามารถสังเกตจากการเปลี่ยนแปลง คือ ค่า chemical shift ของ ^{13}C ของหมู่เอไมด์ ($-\text{CONH}$) จะปรากฏสัญญาณที่ δ 176.0–177.0 ppm และสามารถตรวจสอบได้อย่างชัดเจนจากมวลโมเลกุลของไบต์แอซิดเอไมด์สังเคราะห์ด้วยเทคนิคแมสสเปกโทรสโกปี ข้อมูลของไบต์แอซิดเอไมด์สังเคราะห์แสดงได้ดังต่อไปนี้

4.2.1 สารสังเคราะห์ *N*-(3-Aminopropyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56a



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร 56a สังเคราะห์จากกรดโคเลอิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,3-ไดอะมิโนโพรเพน สาร 56a มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 72.32 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56a ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1230 (C-N stretching), 1659 (C=O stretching ของ CONH), 2850, 2920 (C-H stretching) และ 3359 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

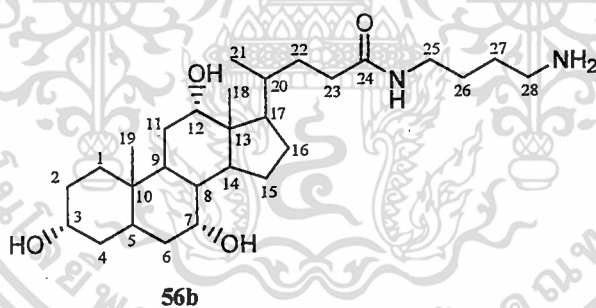
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.60 (3H, s, H18), 0.84 (3H, s, H19), 0.92 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 5.8$ Hz, H21), 1.17-2.22 (m, $-\text{CH}_2$), 2.81 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H27), 2.93 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H25), 3.15-3.19 (1H, m, H3), 3.70 (1H, m, H7), 3.85 (1H, m, H12) และ 7.86 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.7 (C21), 22.8 (C19), 24.2 (C15), 27.9 (C9), 28.7 (C16), 28.9 (C26), 29.6 (C11), 31.2 (C2), 33.3 (C22), 34.0 (C23), 35.7 (C6), 35.8 (C25), 35.8 (C10), 36.8 (C1), 37.0 (C20), 38.2 (C27), 40.5 (C4), 41.0 (C8), 42.8 (C14), 43.1 (C5), 47.5 (C13), 48.0 (C17), 68.9 (C7), 73.2 (C3), 74.0 (C12) และ 177.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 465.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (81%)

4.2.2 สารสังเคราะห์ *N*-(4-Aminobutyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56b



สาร 56b สังเคราะห์จากกรดโคเลอิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,4-ไดอะมิโนบิวเทน สาร 56b มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 77.09 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56b ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1204 (C-N stretching), 1672 (C=O stretching ของ CONH), 2857, 2925 (C-H stretching) และ 3435 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.65 (3H, s, H18), 0.85 (3H, s, H19), 0.96 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 5.0$ Hz, H21), 1.19-2.23 (m, $-\text{CH}_2$), 2.80-2.93 (2H, m, H28), 3.13 (2H, m, H25), 3.24 (1H, m, H3), 3.73 (1H, m, H7), 3.89 (1H, m, H12) และ 7.91 (2H, s, NH_2)

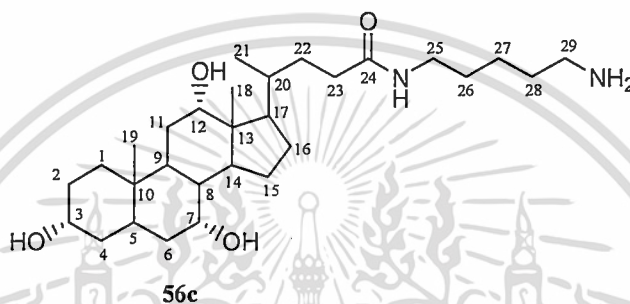
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.8 (C21), 23.2 (C19), 24.3 (C15), 25.9 (C26), 27.5 (C27), 28.0 (C9), 28.7 (C16), 29.7 (C11), 31.2 (C2), 33.3 (C22), 34.1 (C23), 36.0 (C6), 36.1 (C10), 36.5 (C1), 37.0 (C20), 39.5 (C25), 40.4 (C28), 40.5 (C4), 41.0 (C8), 43.1 (C14), 43.2 (C5), 47.5 (C13), 48.0 (C17), 69.1 (C7), 72.9 (C3), 74.1 (C12) และ 177.1 (C24)

MS (positive mode) : m/z 477.35 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (4.5%)

4.2.3 สารสังเคราะห์ *N*-(5-Aminopentyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56c



สาร 56c สังเคราะห์จากกรดโคเลอิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,5-ไดอะมิโนเพนเทน สาร 56c มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 79.49 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56c ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{max} 1202 (C-N stretching), 1642 (C=O stretching ของ CONH), 2868, 2918 (C-H stretching) และ 3406 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.62 (3H, s, H18), 0.80 (3H, s, H19), 1.01 (3H, d, $J_{\text{H21},\text{H20}} = 6.2$ Hz, H21), 1.02-1.97 (m, $-\text{CH}_2$), 2.67 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H29), 3.07 (2H, m, H25), 3.07 (1H, m, H3), 3.60 (1H, m, H7), 3.77 (1H, m, H12) และ 7.84 (2H, s, NH_2)

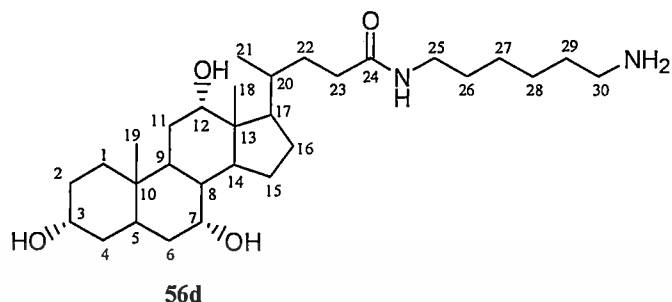
^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 12.9 (C18), 17.6 (C21), 22.7 (C19), 24.3 (C15), 24.7 (C26), 28.0 (C9), 28.1 (C28), 28.5 (C16), 29.7 (C11), 31.0 (C2), 33.3 (C22), 34.0 (C23), 34.0 (C27), 35.7 (C25), 35.9 (C10), 36.0 (C6), 36.8 (C1), 37.0 (C20), 40.4 (C4), 40.6 (C29), 41.0 (C8), 43.1 (C14), 43.2 (C5), 47.8 (C13), 48.2 (C17), 69.1 (C7), 73.2 (C3), 74.0 (C12) และ 177.0 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 493.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 สารสังเคราะห์ *N*-(6-Aminoheptyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56d



สาร **56d** สังเคราะห์จากกรดโคเลอิก **8** ทำปฏิกิริยากับ 1,6-ไดอะมิโนเฮกเซน สาร **56d** มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 56.80 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร **56d** ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1203 (C-N stretching), 1677 (C=O stretching ของ CONH), 2862, 2935 (C-H stretching) และ 3394 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

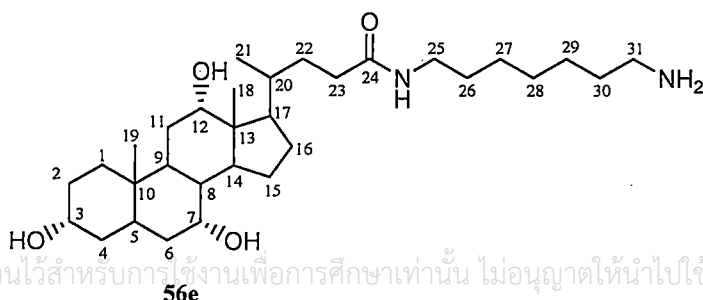
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.58 (3H, s, H18), 0.83 (3H, s, H19), 0.90 (3H, d, $J_{\text{H21},\text{H20}} = 6.2$ Hz, H21), 1.15-2.21 (m, $-\text{CH}_2$), 2.78 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H30), 3.03 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H25), 3.17-3.18 (1H, m, H3), 3.67 (1H, m, H7), 3.84 (1H, m, H12) และ 7.85 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.8 (C21), 23.2 (C19), 24.2 (C15), 27.0 (C26), 27.3 (C29), 28.0 (C9), 28.5 (C16), 29.6 (C11), 30.2 (C28), 31.2 (C2), 33.5 (C22), 34.3 (C23), 35.7 (C27), 35.9 (C6), 36.1 (C10), 36.5 (C1), 36.8 (C20), 37.0 (C25), 40.1 (C4), 40.7 (C30), 41.0 (C8), 43.1 (C14), 43.2 (C5), 47.6 (C13), 48.1 (C17), 69.1 (C7), 72.9 (C3), 74.1 (C12) และ 176.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 507.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (40%)

4.2.5 สารสังเคราะห์ *N*-(7-Aminoheptyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56e



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร 56e สังเคราะห์จากกรดโคลิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,7-ไดอะมิโนเฮปแทน สาร 56e มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 48.18 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56e ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1202 (C-N stretching), 1659 (C=O stretching ของ CONH), 2851, 2922 (C-H stretching) และ 3359 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

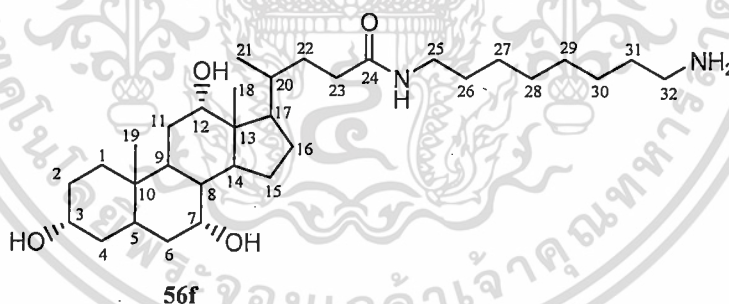
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.61 (3H, s, H18), 0.86 (3H, s, H19), 0.93 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 6.2$ Hz, H21), 1.19-2.25 (m, $-\text{CH}_2$), 2.81 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H31), 3.06 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H25), 3.21-3.22 (1H, m, H3), 3.71 (1H, m, H7), 3.86 (1H, m, H12) และ 7.88 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.8 (C21), 23.2 (C19), 24.3 (C15), 27.4 (C26), 28.0 (C9), 28.5 (C30), 28.7 (C16), 29.7 (C11), 29.8 (C29), 31.2 (C2), 33.4 (C22), 33.5 (C28), 34.1 (C23), 35.7 (C6), 35.9 (C27), 36.1 (C10), 36.5 (C1), 36.8 (C20), 37.0 (C25), 40.5 (C4), 40.8 (C31), 41.1 (C8), 43.1 (C14), 43.2 (C5), 47.6 (C13), 47.8 (C17), 69.1 (C7), 72.9 (C3), 74.1 (C12) และ 176.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 521.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (95%)

4.2.6 สารสังเคราะห์ *N*-(8-Aminoctyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56f



สาร 56f สังเคราะห์จากกรดโคลิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,8-ไดอะมิโนออกเทน สาร 56f มีลักษณะเป็นออยล์สีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 43.07 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56f ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1253 (C-N stretching), 1619 (C=O stretching ของ CONH), 2851, 2924 (C-H stretching) และ 3432 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

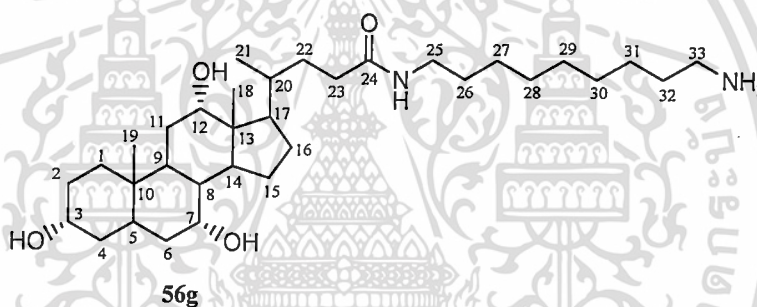
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.59 (3H, s, H18), 0.82 (3H, s, H19), 0.91 (3H, s, H21), 1.18-2.12 (m, $-\text{CH}_2$), 2.75-2.87 (2H, m, H32), 3.05 (2H, m, H25), 3.20 (1H, m, H3), 3.42 (1H, m, H7), 3.85 (1H, m, H12) และ 7.86 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.0 (C18), 17.8 (C21), 22.8 (C19), 24.2 (C15), 27.4 (C26), 27.8 (C31), 27.9 (C9), 28.5 (C16), 29.6 (C11), 30.0 (C28), 30.0 (C29), 30.5 (C30), 31.2 (C2), 33.5 (C22), 34.3 (C23), 35.7 (C27), 35.9 (C6), 36.1 (C10), 36.8 (C1), 37.0 (C20), 38.9 (C25), 40.3 (C4), 40.8 (C32), 41.0 (C8), 42.8 (C14), 43.1 (C5), 47.6 (C13), 47.8 (C17), 68.9 (C7), 73.2 (C3), 74.0 (C12) และ 176.8 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 535.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%)

4.2.7 สารสังเคราะห์ *N*-(9-Aminononyl)-3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-amide

56g



สาร 56g สังเคราะห์จากกรดโคเลอิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,9-ไดอะมิโนโนเนน สาร 56g มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 57.27 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 56g ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{max} 1202 (C-N stretching), 1672 (C=O stretching ของ CONH), 2856, 2925 (C-H stretching) และ 3433 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

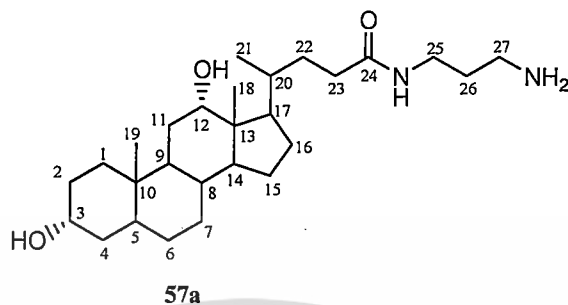
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.62 (3H, s, H18), 0.86 (3H, s, H19), 0.92 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 10.9$ Hz, H21), 1.18-2.10 (m, $-\text{CH}_2$), 2.80 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H33), 3.03 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H25), 3.21 (1H, m, H3), 3.73 (1H, m, H7), 3.88 (1H, m, H12) และ 7.91 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 12.3 (C18), 18.2 (C21), 23.7 (C19), 24.1 (C15), 27.4 (C26), 27.9 (C32), 28.0 (C9), 28.6 (C16), 29.7 (C31), 29.8 (C11), 30.1 (C28), 30.1 (C30), 30.4 (C29), 31.0 (C2), 33.1 (C22), 33.9 (C23), 35.4 (C27), 35.9 (C6), 35.9 (C10), 36.2 (C1), 36.8 (C20), 39.0 (C25), 40.4 (C4), 40.8 (C33), 41.5 (C8), 43.2 (C14), 44.3 (C5), 47.8 (C13), 47.8 (C17), 68.4 (C7), 72.1 (C3), 73.3 (C12) และ 176.3 (C24)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ESMS (positive mode) : m/z 549.6 $[M+H]^+$ (39%)

4.2.8 สารสังเคราะห์ *N*-(3-Aminopropyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57a



สาร 57a สังเคราะห์จากกรดคีออกซีโคลิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,3-ไดอะมิโนโพรเพน สาร 57a มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 58.18 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57a ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

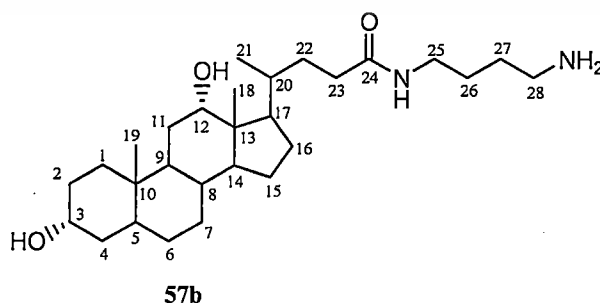
IR : ν_{\max} 1203 (C-N stretching), 1677 (C=O stretching ของ CONH), 2858, 2925 (C-H stretching) และ 3294 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.58 (3H, s, H18), 0.83 (3H, s, H19), 0.88 (3H, d, $J_{\text{H21},\text{H20}} = 6.0$ Hz, H21), 0.95-2.19 (m, $-\text{CH}_2$), 2.78 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H27), 3.13 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H25), 3.17 (1H, m, H3), 3.84 (1H, m, H12) และ 7.84 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.2 (C18), 17.7 (C21), 23.3 (C19), 24.8 (C15), 27.3 (C7), 28.0 (C6), 28.7 (C16), 28.9 (C26), 29.9 (C11), 31.1 (C2), 33.3 (C22), 34.0 (C23), 34.7 (C9), 34.9 (C10), 35.7 (C25), 36.1 (C1), 36.5 (C20), 36.9 (C4), 37.4 (C8), 38.2 (C27), 43.3 (C5), 47.6 (C13), 48.1 (C17), 49.6 (C14), 72.6 (C3), 74.1 (C12) และ 177.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 449.5 $[M+H]^+$ (100%)

4.2.9 สารสังเคราะห์ *N*-(4-Aminobutyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57b



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร 57b สังเคราะห์จากกรดดีออกซีโคสิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,4-ไดอะมิโนบิวเทน สาร 57b มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 47.87 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57b ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

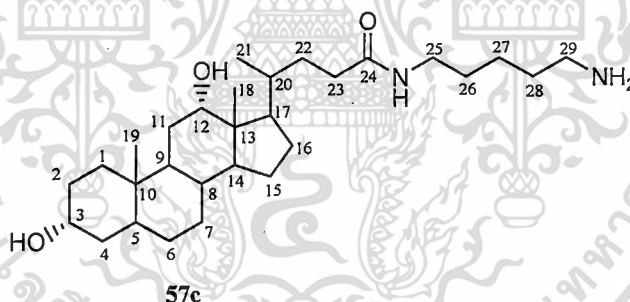
IR : ν_{\max} 1203 (C-N stretching), 1680 (C=O stretching ของ CONH), 2857, 2930 (C-H stretching) และ 3384 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.63 (3H, s, H18), 0.85 (3H, s, H19), 0.94 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 5.6$ Hz, H21), 1.03-2.18 (m, $-\text{CH}_2$), 2.86 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H28), 3.12 (2H, m, H25), 3.23 (1H, m, H3), 3.88 (1H, m, H12) และ 7.90 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.5 (C18), 18.0 (C21), 24.0 (C19), 25.1 (C15), 26.2 (C26), 27.7 (C27), 27.8 (C7), 28.7 (C6), 29.0 (C16), 30.1 (C11), 31.4 (C2), 33.6 (C22), 34.5 (C23), 35.2 (C9), 35.6 (C10), 36.7 (C1), 37.2 (C20), 37.5 (C4), 37.8 (C8), 39.8 (C25), 40.7 (C28), 43.9 (C5), 47.9 (C13), 48.5 (C17), 49.9 (C14), 72.9 (C3), 74.3 (C12) และ 177.4 (C24)

MS (positive mode) : m/z 462.39 [M] (7%)

4.2.10 สารสังเคราะห์ที่ *N*-(5-Aminopentyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57c



สาร 57c สังเคราะห์จากกรดดีออกซีโคสิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,5-ไดอะมิโนเพนเทน สาร 57c มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 44.14 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57c ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : ν_{\max} 1202 (C-N stretching), 1645 (C=O stretching ของ CONH), 2862, 2924 (C-H stretching) และ 3411 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

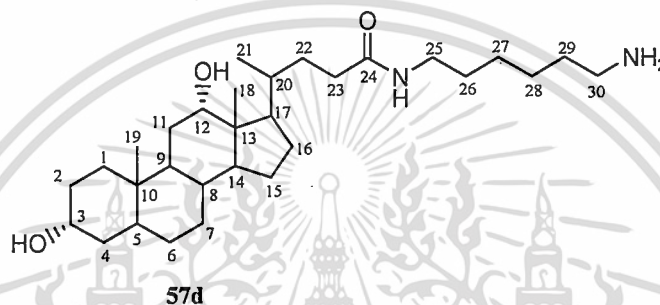
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.57 (3H, s, H18), 0.70 (3H, s, H19), 0.84 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 7.1$ Hz, H21), 1.00-2.11 (m, $-\text{CH}_2$), 2.77 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H29), 3.03 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H25), 3.17 (1H, m, H3), 3.84 (1H, m, H12) และ 7.95 (2H, s, NH_2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 12.7 (C18), 17.7 (C21), 24.3 (C19), 24.7 (C15), 24.7 (C26), 27.3 (C7), 28.1 (C28), 28.2 (C6), 28.3 (C16), 29.9 (C11), 31.1 (C2), 33.1 (C22), 34.0 (C23), 34.0 (C27), 34.8 (C9), 35.2 (C10), 35.7 (C25), 36.2 (C1), 36.8 (C20), 37.1 (C4), 37.4 (C8), 40.7 (C29), 43.3 (C5), 47.6 (C13), 48.2 (C17), 49.6 (C14), 72.2 (C3), 74.1 (C12) และ 176.6 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 477.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (67%)

4.2.11 สารสังเคราะห์ *N*-(6-Aminoethyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57d



สาร 57d สังเคราะห์จากกรดคีออลิกโคเลอิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,6-ไดอะมิโนเฮกเซน สาร 57d มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 58.93 เปอร์เซ็นต์ และเป็นย่นโครงสร้างสาร 57d ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

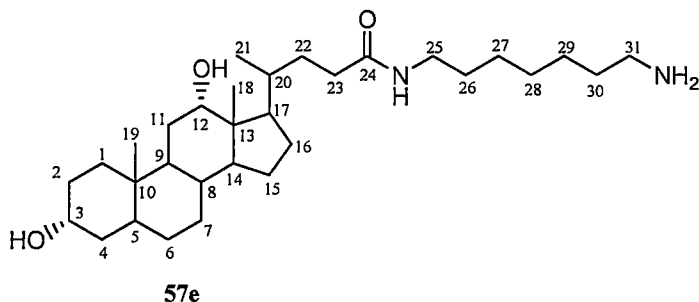
IR : ν_{max} 1204 (C-N stretching), 1677 (C=O stretching ของ CONH), 2850, 2918 (C-H stretching) และ 3355 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.62 (3H, s, H18), 0.85 (3H, s, H19), 0.94 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 5.9$ Hz, H21), 0.98-2.16 (m, $-\text{CH}_2$), 2.83 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H30), 3.08 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H25), 3.23 (1H, m, H3), 3.87 (1H, m, H12) และ 7.89 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.2 (C18), 17.7 (C21), 23.7 (C19), 24.9 (C15), 27.0 (C26), 27.3 (C29), 27.5 (C7), 28.4 (C6), 28.5 (C16), 29.9 (C11), 30.2 (C28), 31.1 (C2), 33.4 (C22), 34.2 (C23), 34.9 (C9), 35.3 (C10), 35.7 (C27), 36.5 (C1), 36.9 (C20), 37.2 (C4), 37.5 (C8), 40.0 (C25), 40.7 (C30), 43.7 (C5), 47.6 (C13), 48.2 (C17), 49.6 (C14), 72.6 (C3), 74.1 (C12) และ 176.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 491.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%)

4.2.12 สารสังเคราะห์ที่ *N*-(7-Aminoheptyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57e



สาร 57e สังเคราะห์จากกรดคีอ็อกซีโคคลิก 8 ทำปฏิกิริยากับ 1,7-ไดอะมิโนเฮปเทน สาร 57e มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 63.64 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57e ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

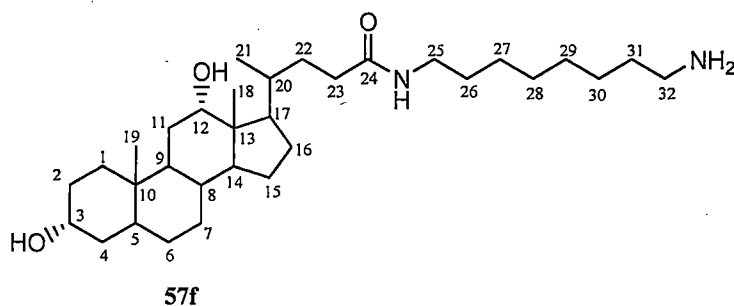
IR : ν_{\max} 1202 (C-N stretching), 1655 (C=O stretching ของ CONH), 2851, 2922 (C-H stretching) และ 3359 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.58 (3H, s, H18), 0.81 (3H, s, H19), 0.90 (3H, d, $J_{\text{H21},\text{H20}} = 5.9$ Hz, H21), 0.94-2.12 (m, $-\text{CH}_2$), 2.79 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H31), 3.03 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H25), 3.19 (1H, m, H3), 3.84 (1H, m, H12) และ 7.93 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.7 (C18), 18.1 (C21), 24.2 (C19), 25.2 (C15), 27.4 (C26), 28.1 (C6), 28.1 (C7), 28.1 (C30), 28.4 (C16), 29.7 (C11), 29.7 (C29), 31.2 (C2), 33.1 (C28), 33.8 (C22), 34.1 (C23), 34.6 (C9), 35.2 (C10), 35.9 (C27), 36.3 (C1), 37.0 (C25), 37.4 (C20), 37.0 (C4), 38.0 (C8), 40.3 (C31), 44.1 (C5), 47.4 (C13), 48.0 (C17), 49.1 (C14), 72.8 (C3), 74.6 (C12) และ 176.5 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 505.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%)

4.2.13 สารสังเคราะห์ที่ *N*-(8-Amino-octyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57f



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร 57f สังเคราะห์จากกรดคีโตออกซีโคลิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,8-ไดอะมิโนออกเทน สาร 57f มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 47.84 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57f ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

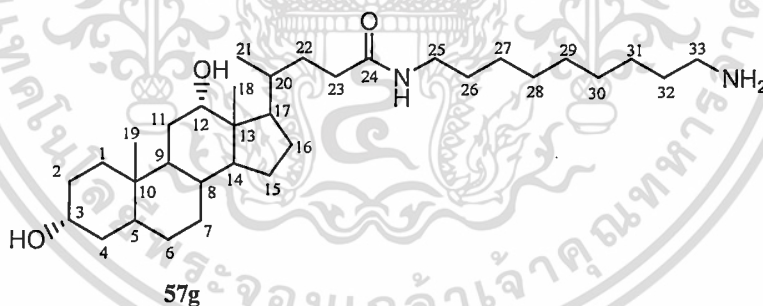
IR : V_{\max} 1203 (C-N stretching), 1616 (C=O stretching ของ CONH), 2857, 2924 (C-H stretching) และ 3435 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.62 (3H, s, H18), 0.84 (3H, s, H19), 0.93 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 6.0$ Hz, H21), 1.02-2.20 (m, $-\text{CH}_2$), 2.82 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H32), 3.06 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H25), 3.22 (1H, m, H3), 3.87 (1H, m, H12) และ 7.95 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 13.2 (C18), 17.7 (C21), 23.7 (C19), 24.9 (C15), 27.4 (C26), 27.5 (C7), 27.8 (C31), 28.5 (C6), 28.7 (C16), 30.0 (C11), 30.1 (C28), 30.1 (C29), 30.4 (C30), 31.1 (C2), 33.5 (C22), 34.3 (C23), 34.9 (C9), 35.4 (C10), 35.7 (C27), 36.5 (C1), 36.9 (C20), 37.3 (C4), 37.5 (C8), 38.9 (C25), 40.8 (C32), 43.7 (C5), 47.6 (C13), 48.2 (C17), 49.6 (C14), 72.6 (C3), 74.1 (C12) และ 176.9 (C24)

ESMS (positive mode) : m/z 519.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%)

4.2.14 สารสังเคราะห์ *N*-(9-Aminononyl)-3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-amide 57g



สาร 57g สังเคราะห์จากกรดคีโตออกซีโคลิก 9 ทำปฏิกิริยากับ 1,9-ไดอะมิโนโนเนน สาร 57g มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง มีผลได้เท่ากับ 76.36 เปอร์เซ็นต์ และยืนยันโครงสร้างสาร 57g ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR : V_{\max} 1202 (C-N stretching), 1673 (C=O stretching ของ CONH), 2857, 2925 (C-H stretching) และ 3434 (O-H stretching และ N-H stretching) cm^{-1}

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : δ 0.57 (3H, s, H18), 0.69 (3H, s, H19), 0.83 (3H, d, $J_{\text{H21,H20}} = 12.0$ Hz, H21), 1.03-2.06 (m, $-\text{CH}_2$), 2.76 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H33), 3.06 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H25), 3.17 (1H, m, H3), 3.83 (1H, m, H12) และ 7.94 (2H, s, NH_2)

^{13}C NMR (75.5 MHz, CD_3OD) : δ 12.7 (C18), 18.1 (C21), 23.5 (C19), 24.3 (C15), 27.4 (C7), 27.4 (C26), 27.9 (C32), 28.2 (C6), 28.6 (C16), 28.6 (C31), 30.1 (C11), 30.1 (C28), 30.1 (C30), 30.2 (C29), 30.3 (C2), 33.2 (C22), 34.0 (C23), 35.1 (C10), 35.3 (C27), 35.8 (C9), 36.0 (C20), 36.1 (C1), 37.0 (C8), 37.1 (C4), 38.9 (C25), 40.8 (C33), 43.4 (C5), 46.5 (C13), 48.2 (C17), 49.6 (C14), 72.2 (C3), 72.2 (C12) และ 176.4 (C24)

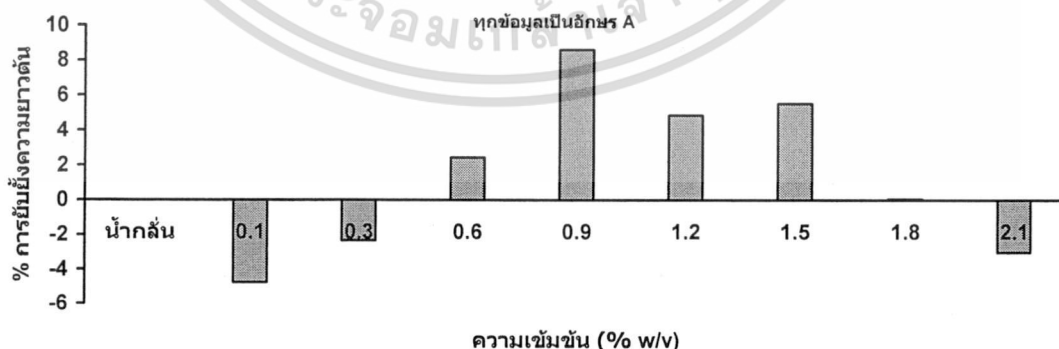
ESMS (positive mode) : m/z 533.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (33%)

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ในด้านการส่งเสริมและการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

4.3.1 ผลของ WP (wetable powder) ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ทำการทดสอบโดยวิธี Vial Test

ผลของ WP ต่อการเจริญเติบโตของข้าว

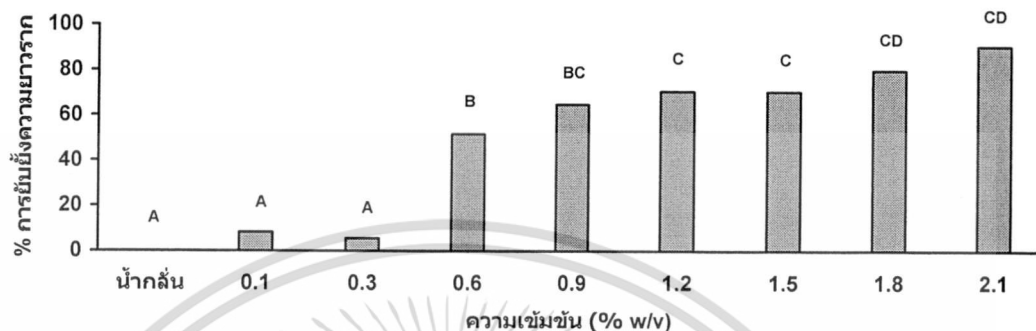
อิทธิพลของระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ WP ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้นของข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ผลของความเข้มข้นของ WP ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในด้านความยาวราก พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.6 % (w/v) ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของข้าว ซึ่งการเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลให้ความยาวรากของข้าวถูกยับยั้งมากขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 2.1 % (w/v) สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 90.80 เปอร์เซ็นต์ โดยเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 ผลของความเข้มข้นของ WP ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของข้าว

4.3.2 ผลการทดสอบผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบโดยวิธี Agar Test

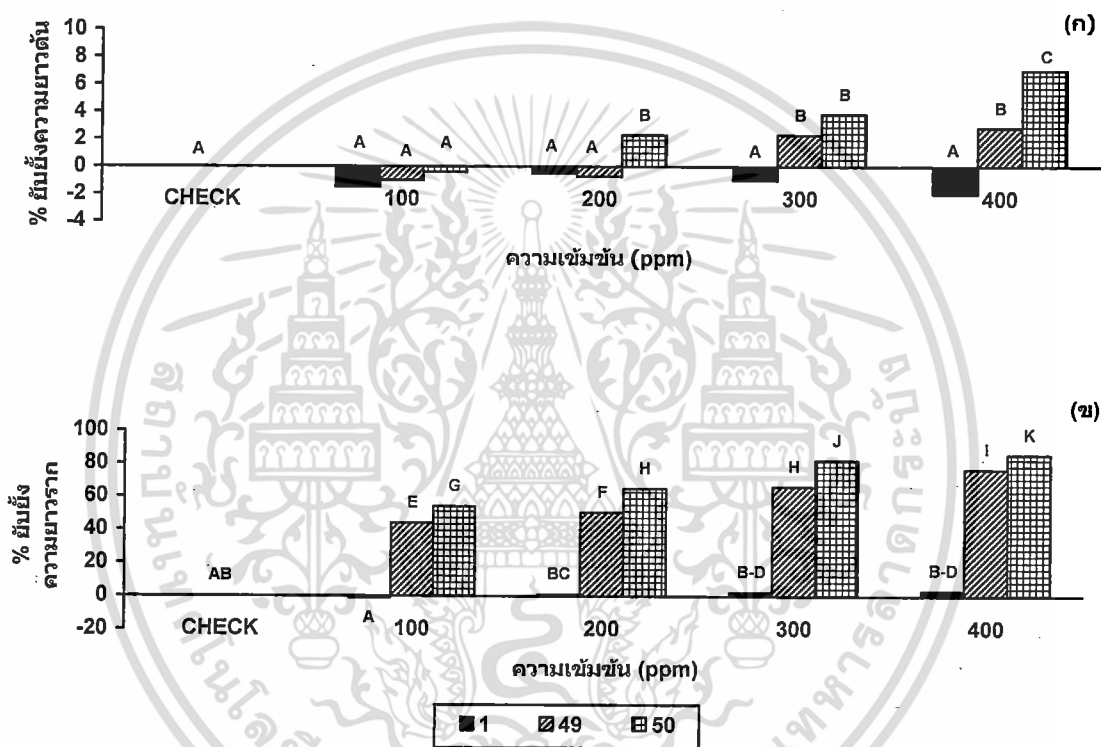
ในการทดสอบผลอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบโดยวิธี Agar Test พืชทดสอบคือ ข้าว สเตรียรอยด์ที่ได้นำมาทดสอบ คือ Pregnenolone 1 และอนุพันธ์ ได้แก่ สาร 49 และ 50 โดยสารที่นำมาทดสอบในการทดลองนี้เป็นสารที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าว โดยวิธี Vial Test

ผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว

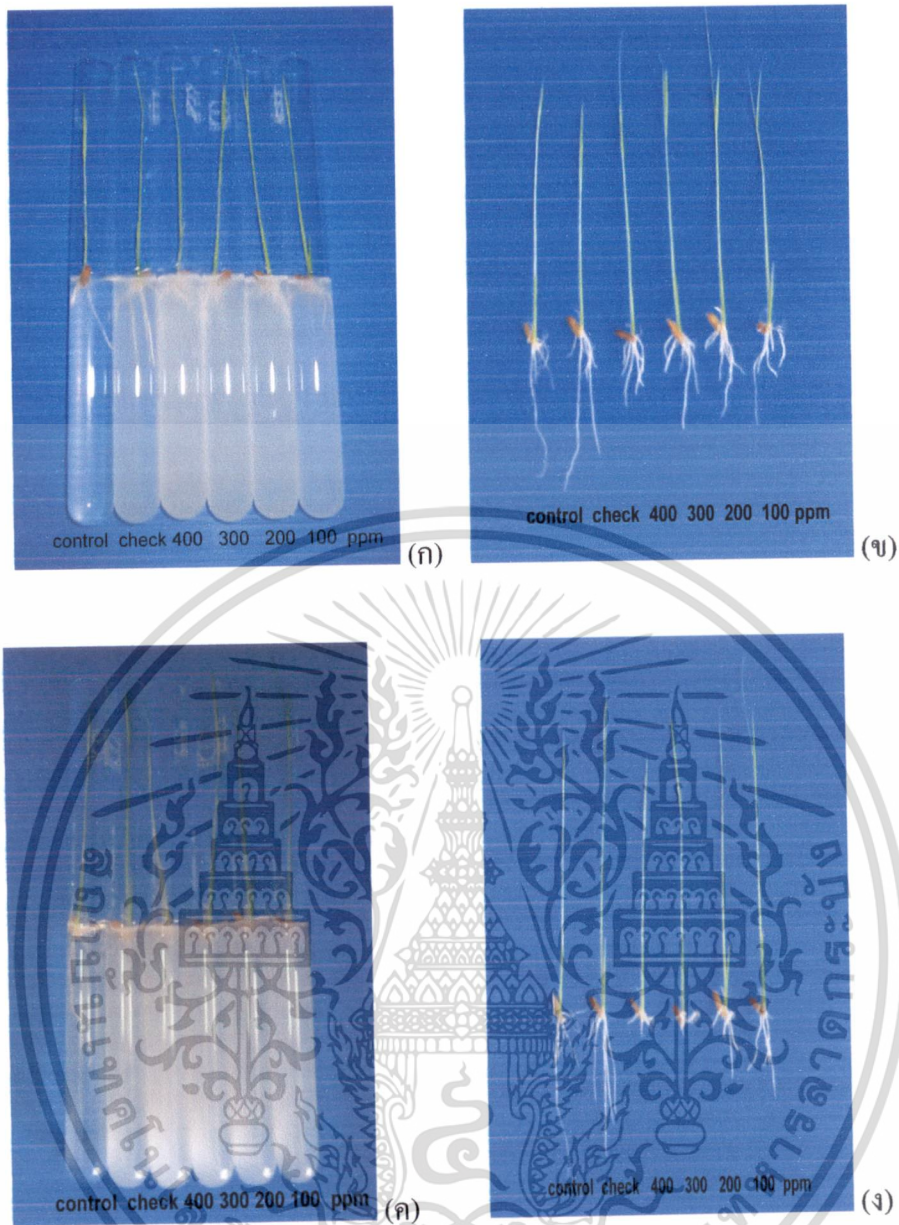
อิทธิพลของ Pregnenolone 1 และอนุพันธ์ของ Pregnenolone 49 และ 50 ที่ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm หลังจากเพาะพืชทดสอบในอนุพันธ์ของ Pregnenolone ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า สาร 50 มีผลการยับยั้งความยาวต้นได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอนุพันธ์ของ Pregnenolone อื่น ๆ โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 300 และ 400 ppm มีผลยับยั้งความยาวต้นได้ 2.3 3.8 และ 7.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร 49 ที่ระดับความเข้มข้น 300 และ 400 ppm มีผลยับยั้งความยาวต้นได้ 2.3 และ 2.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่นผสม WP (CHECK) ในขณะที่ Pregnenolone 1 ไม่มีผลต่อความยาวต้นของข้าวทางสถิติ รูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในด้านความยาวรากพบว่า สาร 50 มีผลการยับยั้งความยาวรากได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอนุพันธ์ของ Pregnenolone อื่น ๆ โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm มีผลยับยั้งความยาวรากได้ 54.0 64.8 81.8 และ 85.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งรากของข้าวมีลักษณะของรากสั้นกุด และขดงอ ร่องลงมาคือ สาร 49 โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm มีผลยับยั้งความยาวรากได้ 43.8 50.3 65.8 และ 76.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งรากของข้าวมีลักษณะสั้นลง เมื่อเปรียบเทียบกับกรเพาะเมล็ดในน้ำกลั่นผสม WP (CHECK) ในขณะที่ Pregnenolone 1 ไม่มีผลต่อความยาวรากของข้าวทางสถิติ รูปที่ 4.4



รูปที่ 4.3 ผลของ Pregnenolone 1 อนุพันธ์ allyl ether 49 และอนุพันธ์ sulfate 50 ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของข้าว (ก) และด้านความยาวรากของข้าว (ข)



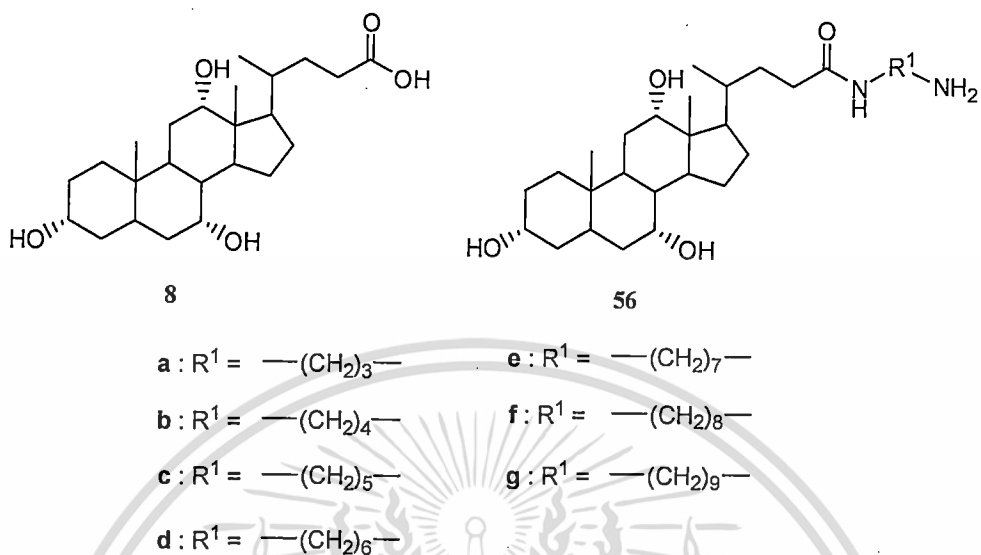
รูปที่ 4.4 แสดงผลของสารอนุพันธ์ allyl ether 49 ต่อการเจริญเติบโตของข้าว (ก) และ (ข) และสารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 ต่อการเจริญเติบโตของข้าว (ค) และ (ง) โดยวิธี Agar Test

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของไบล์แอซิดและอนุพันธ์เอไมด์ต่อพืชทดสอบ

ในการทดสอบผลของไบล์แอซิด และอนุพันธ์เอไมด์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2 ชนิด คือ ผักโขมจีน และหญ้าข้าวนก โดยวิธี Vial Test ผลการทดสอบแสดงได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของกรดโคลิค 1 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g ต่อพืชทดสอบ



ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ผลต่อการงอกของผักโขมจีน

จากตารางที่ 4.1 พบว่า กรดโคลิค 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1,000 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ขึ้นไป สาร 56b ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สาร 56e มีผลต่อการยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สาร 56a ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1,000 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 21.05 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิค 56c 56d 56f และ 56g ไม่มีผลต่อการงอกของผักโขมจีน เมื่อทำการเพาะเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น ดังแสดงในรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.1 ผลของกรดโคลิค 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน

	%การยับยั้ง		
	การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก
Control	0.00c	0.00jk	0.00m
กรด โคลิค 8			
62.5 ppm	2.50c	3.17ijk	5.95lm
125 ppm	0.00c	5.60hijk	-4.25m
250 ppm	5.00c	-3.65jklm	5.10lm
500 ppm	2.50c	47.3cd	50.85fgh
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
56a			
62.5 ppm	0.00c	-4.75klmn	30.97ijk
125 ppm	-2.63c	-6.33klmn	58.94efg
250 ppm	-2.63c	-2.77jklm	77.59bcd
500 ppm	-2.63c	25.346fg	87.51abc
1,000 ppm	21.05b	88.11a	87.21abc
56b			
62.5 ppm	0.00c	5.36hijk	78.03bcd
125 ppm	2.50c	22.59fg	93.30ab
250 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
500 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
56c			
62.5 ppm	0.00c	-1.15jkl	36.19hijk
125 ppm	0.00c	10.85ghij	35.07hijk
250 ppm	0.00c	20.09fgh	71.42cde
500 ppm	0.00c	67.66b	91.26ab
1,000 ppm	0.00c	100.00a	93.65ab
56d			
62.5 ppm	-2.56c	16.00fghi	32.06ijk
125 ppm	-2.56c	16.79fghi	33.56ijk
250 ppm	-2.56c	22.72fg	59.20efg
500 ppm	-2.56c	50.98cd	77.21bcd

1,000 ppm	-2.56c	100.00a	92.36ab
56e			
62.5 ppm	-2.56c	4.33ijk	2.61lm
125 ppm	-2.56c	6.40hijk	19.68kl
250 ppm	-2.56c	29.75ef	48.08ghi
500 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
56f			
62.5 ppm	0.00c	3.54ijk	18.31kl
125 ppm	0.00c	10.88ghij	33.67ijk
250 ppm	-2.63c	4.81ijk	26.14jk
500 ppm	-2.63c	11.64ghij	89.36ab
1,000 ppm	-5.26c	100.00a	94.09ab
56g			
62.5 ppm	0.00c	-22.28o	4.13lm
125 ppm	0.00c	2.28ijk	-8.27m
250 ppm	2.5000 c	6.28hijk	4.31lm
500 ppm	0.00c	65.42b	92.93ab
1,000 ppm	0.00c	100.00a	93.10ab

ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ($p=0.05$)

ผลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ในด้านความยาวต้นพบว่า กรดโคลิก 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 47.32 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สาร 56b มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สาร 56c 56d และ 56e ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งได้ 20.09 22.73 และ 29.76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 67.67 50.99 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สาร 56a 56f และ 56g ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 25.35 11.65 และ 65.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 88.12 100.0 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อทำการเพาะเปรียบเทียบเทียบกับน้ำกลั่น

ในด้านความยาวรากพบว่า กรดโคลิก 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 50.85 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สาร 56a 56b 56c 56d 56e และ 56f ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm สามารถยับยั้งได้ 30.98 78.04 36.19 32.06 2.61 และ 18.32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 58.95 93.30 35.08 33.56 19.69 และ 33.68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 77.59 100.0 71.43 59.21 48.08 และ 26.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 87.52 100.0 91.27 77.22 100.0 และ 89.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 87.22 100.0 93.65 92.36 100.0 และ 94.09 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสาร 56g ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีผลต่อการยับยั้งความยาวรากได้ 92.93 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 93.10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเพาะเปรียบเทียบเทียบกับน้ำกลั่น



รูปที่ 4.5 แสดงผลของกรดโคลิก 8 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ก) และสารอนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิก 56b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน (ข) โดยวิธี Vial Test

ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

จากตารางที่ 4.2 พบว่า กรดโคลิก 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 15.79 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งการงอกได้ 36.84 เปอร์เซ็นต์ สาร 56b มีผลต่อการยับยั้งการงอกที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm โดยสามารถยับยั้งได้ 14.71 และ 67.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่นอนญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เปอร์เซ็นต์ สาร 56c ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 12.50 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งการงอกได้ 15.0 เปอร์เซ็นต์ สาร 56f ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 16.79 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อนุพันธ์เอไมด์ของกรด โคลิก 56a 56d 56e และ 56g ไม่มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวเนก เมื่อทำการเพาะเปรียบเทียบที่น้ำกลั่น ดังแสดงดังรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.2 ผลของกรด โคลิก 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวเนกหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน

	%การยับยั้ง		
	การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก
Control	0.00ghijk	0.00wx	0.00jklmno
กรด โคลิก 8			
62.5 ppm	2.63fghij	-11.90z	2.20ijklm
125 ppm	5.26efghij	-2.02xy	2.80ijkl
250 ppm	2.63fghij	-1.72xy	-1.00jklmnop
500 ppm	15.78cdef	10.05qr	39.20e
1,000 ppm	36.84b	75.29b	100.00a
56a			
62.5 ppm	5.00efghij	1.43vwx	-1.91klmnop
125 ppm	5.00efghij	12.26pq	-6.80lmnop
250 ppm	0.00ghijk	19.71mn	-9.77nopqr.
500 ppm	5.00efghij	31.57ij	0.69jklmn
1,000 ppm	7.50defghij	49.30f	-5.23lmnop
56b			
62.5 ppm	2.94efghij	14.25op	-22.73s
125 ppm	-2.94ijk	32.98i	0.38jklmn
250 ppm	5.88efghij	42.43h	-2.50klmnop
500 ppm	14.70cdef	59.44d	94.79ab
1,000 ppm	67.64a	83.14a	100.00a
56c			
62.5 ppm	0.00ghijk	-3.77y	9.24ghij
125 ppm	0.00ghijk	7.32rst	26.48f
250 ppm	0.00ghijk	16.46no	-18.06qrs
500 ppm	12.50cdefg	43.06gh	18.48fg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1,000 ppm	15.00cdef	63.19c	85.21b
56d			
62.5 ppm	0.00ghijk	3.45uvw	-6.58lmnop
125 ppm	0.00ghijk	9.45qr	-11.12pqr
250 ppm	-3.03ijk	19.50mn	-10.65opqr
500 ppm	-3.03ijk	20.45m	-8.77mnopqr
1,000 ppm	0.00ghijk	49.25f	-19.12rs
56e			
62.5 ppm	-2.56hijk	12.51pq	-5.00lmnop
125 ppm	2.56fghij	13.92op	6.04hijk
250 ppm	-2.56hijk	24.68l	-7.25lmnop
500 ppm	-2.56hijk	42.45h	-17.78qrs
1,000 ppm	0.00ghijk	53.99e	90.32ab
56f			
62.5 ppm	-2.85ijk	4.09tuv	-18.26qrs
125 ppm	0.00ghijk	3.67uv	-40.21t
250 ppm	11.42cdefgh	11.92pq	-18.91rs
500 ppm	5.71efghij	29.12jk	-35.86t
1,000 ppm	16.78cde	45.94g	50.21d
56g			
62.5 ppm	-12.90kl	1.28vwx	-33.93t
125 ppm	-16.12l	14.05op	-10.65opqr
250 ppm	-6.45jkl	21.05m	-4.91lmnop
500 ppm	-3.22ijk	32.29ij	1.96jklm
1,000 ppm	9.67cdefghi	42.75gh	75.08c

ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ($p=0.05$)

ผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ในด้านความยาวต้นพบว่า กรดโคลิก 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวต้นได้ 10.06 และ 75.30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 56b และ 56e ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 14.25 และ 12.51 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้

เอกส... ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

32.98 และ 13.92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 42.43 และ 24.68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 59.45 และ 42.45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 83.15 และ 53.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 56a 56c 56d และ 56g ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 12.26 7.33 9.46 และ 14.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 19.71 16.46 19.50 และ 21.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 31.58 43.07 20.46 และ 32.30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 49.30 63.19 49.26 และ 42.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 56f มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 29.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 45.95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ในด้านความยาวรากพบว่า กรด โคลิก 8 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 39.20 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 56b ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 94.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 56c 56e 56f และ 56g ยับยั้งความยาวรากได้ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm โดยสามารถยับยั้งได้ 85.22 90.33 50.22 และ 75.08 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่อนุพันธ์ เอไมด์ของกรด โคลิก 56a และ 56d ไม่มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก รูปที่ 4.6

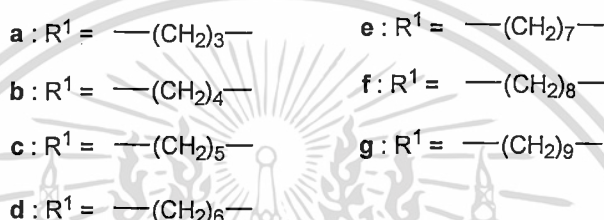
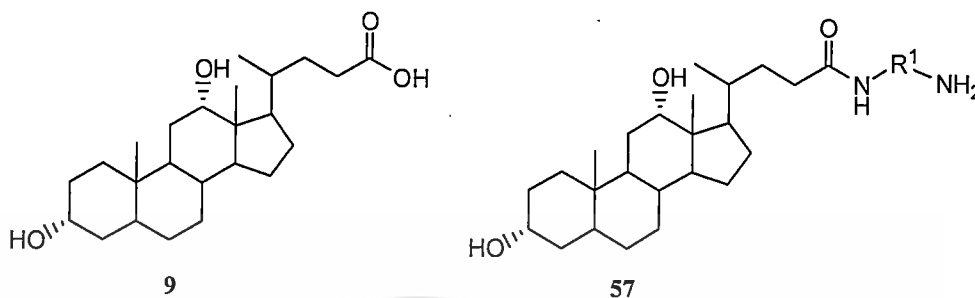


รูปที่ 4.6 แสดงผลของกรด โคลิก 8 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ก) และสารอนุพันธ์เอไมด์ของกรด โคลิก 56b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ข) โดยวิธี Vial Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของกรดดีออกซีโคลิค 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g ต่อพืชทดสอบ

57a-57i



ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ผลต่อการงอกของผักโขมจีน

จากตารางที่ 4.3 พบว่า กรดดีออกซีโคลิค 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยสามารถยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป และอนุพันธ์เอไมด์ของกรดดีออกซีโคลิค 57b มีผลต่อการยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm ขึ้นไป สาร 57e มีผลการยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สาร 57d และ 57i มีผลต่อการยับยั้งการงอกได้ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm โดยสามารถยับยั้งได้ 23.08 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อนุพันธ์เอไมด์ของกรดดีออกซีโคลิค 57a 57c 57f และ 57g ไม่มีผลต่อการงอกของผักโขมจีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.3 ผลของกรดคือออกซีโคลิก 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน

	%การยับยั้ง		
	การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก
Control	0.00cd	0.00ghijk	0.00mn
กรดคือออกซีโคลิก 9			
62.5 ppm	2.50cd	-25.95m	-46.41o
125 ppm	7.50c	25.27cde	48.59fg
250 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
500 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
57a			
62.5 ppm	0.00cd	0.79ghijk	47.36fg
125 ppm	0.00cd	0.19ghijk	56.69f
250 ppm	2.56cd	61.98b	85.41abcde
500 ppm	2.56cd	73.46b	86.91abcd
1,000 ppm	0.00cd	86.13a	86.76abcd
57b			
62.5 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
125 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
250 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
500 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
57c			
62.5 ppm	0.00cd	7.39fghij	22.85jkl
125 ppm	0.00cd	10.39fgh	15.23l
250 ppm	0.00cd	36.95c	83.17bcde
500 ppm	0.00cd	100.00a	93.65ab
1,000 ppm	0.00cd	100.00a	93.65ab
57d			
62.5 ppm	-2.56cd	1.77fghijk	30.01ijk
125 ppm	0.00cd	6.12fghij	43.38fgh
250 ppm	0.00cd	28.26cd	76.80cde
500 ppm	2.56cd	66.00b	84.72bcde

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในรูปแบบการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1,000 ppm	23.07b	100.00a	91.67ab
57e			
62.5 ppm	-2.56cd	-5.08ijkl	-4.00n
125 ppm	-2.56cd	13.37efg	19.68jkl
250 ppm	-2.56cd	16.38def	72.12e
500 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
57f			
62.5 ppm	-5.26d	10.37fgh	36.77ghi
125 ppm	-5.26d	4.30fghijk	17.72kl
250 ppm	-5.26d	-1.51ghijkl	47.71fg
500 ppm	-2.63cd	29.11cd	88.47abc
1,000 ppm	-5.26d	100.00a	94.09ab
57g			
62.5 ppm	0.00cd	-3.71hijk	15.174l
125 ppm	2.50cd	-10.00kl	28.96ijk
250 ppm	5.00cd	-5.71jkl	32.75hij
500 ppm	2.50cd	-2.57hijkl	76.20cde
1,000 ppm	0.00cd	72.00b	93.10ab

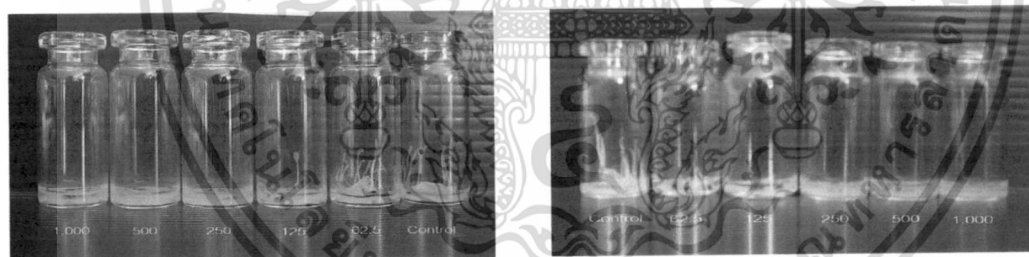
ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ($p=0.05$)

ผลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ในด้านความยาวต้นพบว่า กรดคือออกซิโคลิก 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป มีผลต่อความยาวต้นของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm สามารถยับยั้งได้ 25.28 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สาร 57b มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไป สาร 57a 57c และ 57d ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งได้ 61.98 36.95 และ 28.26 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 73.47 100.0 และ 66.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 86.14 100.00 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57e และ 57f ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของผัก

โคมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 100.00 และ 29.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm

ในด้านความยาวรากพบว่า กรดคือออกซีโคลิค 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป มีผลต่อความยาวรากของผักโคมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm สามารถยับยั้งได้ 48.60 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งความยาวรากได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สาร 57b มีผลต่อการยับยั้งความยาวรากได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm ขึ้นไป สาร 57a 57c 57d และ 57f ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของผักโคมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm สามารถยับยั้งได้ 47.37 22.86 30.01 และ 36.78 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 56.69 15.24 43.38 และ 17.73 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 85.41 83.17 76.81 และ 47.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 86.92 93.65 84.72 และ 88.48 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 86.77 93.65 91.68 94.09 และ 93.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57e ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของผักโคมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm สามารถยับยั้งได้ 19.69 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 72.13 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้อย่างสมบูรณ์ รูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงผลของกรดคือออกซีโคลิค 9 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโคมจีน (ก) และ สารอนุพันธ์เอไมด์ของกรดคือออกซีโคลิค 57b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโคมจีน (ข) โดยวิธี Vial Test

รูปที่ 4.7 แสดงผลของกรดคือออกซีโคลิค 9 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโคมจีน (ก) และ สารอนุพันธ์เอไมด์ของกรดคือออกซีโคลิค 57b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโคมจีน (ข) โดยวิธี Vial Test

ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

จากตารางที่ 4.4 พบว่า กรดคือออกซีโคลิค 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 250 500 และ 1,000 ppm สามารถยับยั้งเอกสาร์นเป็นเอกสาร์นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ 15.38 23.08 82.05 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57c ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวเนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งการงอกได้ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งการงอกได้ 15.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งการงอกได้ 15.0 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งการงอกได้ 25.00 เปอร์เซ็นต์ สาร 57a และ 57f ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวเนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 10.00 และ 10.81 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งการงอกได้ 10.00 และ 10.81 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่อนุพันธ์เอไมด์ของกรดคีออลิก 57b 57d 57e และ 57g ไม่มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวเนกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.4 ผลของกรดคีออลิก 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวเนกหลังการเพาะเมล็ด 7 วัน

	%การยับยั้ง		
	การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก
Control	0.00jklm	0.00wxy	0.0000lmnop
กรดคีออลิก 9			
62.5 ppm	-2.56klm	1.27vwx	74.8cde
125 ppm	15.38efghi	12.20qrst	82.89bc
250 ppm	23.07def	29.7jkl	98.39a
500 ppm	82.0513 B	78.6740 B	100.00a
1,000 ppm	100.00a	100.00a	100.00a
57a			
62.5 ppm	5.00hijklm	6.80stuvw	3.14klmno
125 ppm	5.00hijklm	13.70pqrs	5.58klm
250 ppm	7.50ghijklm	9.38rstu	-17.27r
500 ppm	10.00fghijkl	22.39lmno	-12.04qr
1,000 ppm	10.00fghijkl	34.60hij	72.07de
57b			
62.5 ppm	3.44ijklm	27.01jklm	76.05cde
125 ppm	3.44ijklm	39.83hi	93.76a
250 ppm	6.89hijklm	41.76gh	98.18a
500 ppm	-3.44lm	69.61c	100.00a

1,000 ppm	13.79efghij	77.01b	100.00a
57c			
62.5 ppm	5.00hijklm	0.50vwxy	4.31klmn
125 ppm	7.50ghijklm	1.80uvwxy	-11.08qr
250 ppm	15.00efghij	21.02mnop	12.73ijk
500 ppm	15.00efghij	38.16hi	58.93fg
1,000 ppm	25.00de	54.73def	97.74a
57d			
62.5 ppm	-2.77lm	-11.08z	-5.64nopq
125 ppm	-2.77lm	-8.40z	2.82klmnop
250 ppm	2.77ijklm	-0.31xy	8.30jkl
500 ppm	2.77ijklm	17.22nopq	-6.73opq
1,000 ppm	2.77ijklm	30.25jk	78.68cd
57e			
62.5 ppm	0.00jklm	-6.76yz	16.40ij
125 ppm	2.56ijklm	23.75klmn	10.19ijkl
250 ppm	0.00jklm	38.65hi	5.52klm
500 ppm	0.00jklm	48.44fg	53.54g
1,000 ppm	-2.56klm	61.10d	98.10a
57f			
62.5 ppm	-2.70lm	0.00wxy	-77.60u
125 ppm	-2.70lm	5.13tuvwxyz	-46.73t
250 ppm	-5.40m	11.12qrst	-39.13t
500 ppm	10.81efghijk	27.56jklm	-30.00s
1,000 ppm	10.81efghijk	32.56ij	66.95ef
57g			
62.5 ppm	0.00jklm	8.13rstuv	20.32i
125 ppm	0.00jklm	6.31stuvwxyz	11.31ijk
250 ppm	5.55hijklm	17.89nopq	4.75klmn
500 ppm	2.77ijklm	40.68h	-4.09mnopq
1,000 ppm	11.11efghijkl	52.46ef	69.50de

ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ($p=0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

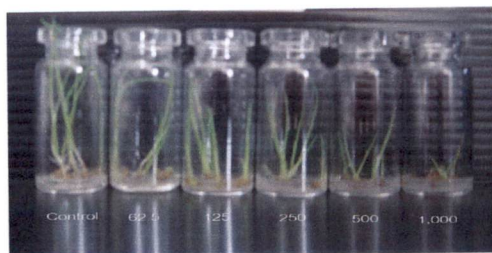
ผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ในด้านความยาวต้นพบว่า กรดคือออกซีโคลิก 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 125 ppm ขึ้นไป มีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 125 250 500 และ 1,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 12.21 29.78 78.67 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57a 57b และ 57g ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 สามารถยับยั้งได้ 6.80 27.02 และ 8.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 13.70 39.83 และ 6.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 9.38 41.77 และ 17.90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 22.39 69.61 และ 40.68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 34.61 77.02 และ 52.47 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57e ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 500 และ 1,000 ppm มีผลการยับยั้งความยาวต้นได้ 23.76 38.66 48.44 และ 61.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57c และ 57f ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 250 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งได้ 21.03 และ 11.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 38.16 และ 27.57 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 54.74 และ 32.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57d มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นได้ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm โดยสามารถยับยั้งได้ 17.23 และ 30.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงดังรูปที่ 4.9

ในด้านความยาวรากพบว่า กรดคือออกซีโคลิก 9 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 125 และ 250 ppm สามารถยับยั้งได้ 74.85 82.90 และ 98.39 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีผลต่อการยับยั้งความยาวรากได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สาร 57b ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 125 และ 250 ppm สามารถยับยั้งได้ 76.06 93.76 และ 98.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีผลต่อการยับยั้งความยาวรากได้อย่างสมบูรณ์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สาร 57c และ 57e ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 500 ppm ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 58.92 และ 53.54 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งความยาวรากได้ 97.74 และ 98.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สาร 57a 57d 57f และ 57g ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยสามารถยับยั้งได้ 72.08 78.68 66.96 และ 69.51 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รูปที่ 4.8



ก



ข

รูปที่ 4.8 แสดงผลของกรดคือออกซิโคลิค 9 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ก) และสารอนุพันธ์เอไมด์ของกรดคือออกซิโคลิค 57b ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (ข) โดยวิธี Vial Test

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

เมื่อสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบลต์แอซิดโดยใช้เทคนิควิทยาของแข็งแล้ว จะนำไบลต์แอซิดและไบลต์แอซิดเอไมด์มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ผลการทดสอบแสดงเป็นค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ซึ่งค่า MIC หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของไบลต์แอซิดและไบลต์แอซิดเอไมด์แสดงดังตารางที่ 4.5-4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของไบโพลีเอซิด 8 และ 9

แบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	
	8	9
<i>Streptococcus milleri</i> group	> 100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	> 100	> 100
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27175	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	> 100	> 100
<i>Staphylococcus coag</i> negative	> 100	> 100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26633	> 100	> 100
<i>Bordetella pertussis</i>	> 100	> 100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	50	100
<i>Streptococcus sobrinus</i>	> 100	> 100
<i>Vibrio cholerae</i>	> 100	> 100
<i>Vibrio paraheamolyticus</i>	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA N1	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20625	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20626	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20627	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20628	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20630	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20631	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20632	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20633	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20635	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20636	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20652	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20653	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20654	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20622	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20623	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20624	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 21083	> 100	> 100
<i>Enterococcus faecalis</i> 4737 (VRE)	> 100	> 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 56a 56b 56c และ 56d

แบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			
	56a	56b	56c	56d
<i>Streptococcus milleri</i> group	25	12.5	6.25	12.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	> 100	50	> 100	100
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27175	6.25	25	6.25	12.5
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	> 100	50	100	50
<i>Staphylococcus</i> coag negative	> 100	50	25	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26633	> 100	100	100	50
<i>Bordetella pertussis</i>	> 100	50	50	100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	> 100	6.25	6.25	12.5
<i>Streptococcus sobrinus</i>	> 100	25	50	100
<i>Vibrio cholerae</i>	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>Vibrio paraheamolyticus</i>	> 100	25	25	100
<i>S. aureus</i> MRSA N1	100	50	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20625	> 100	50	50	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20626	> 100	50	50	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20627	> 100	50	100	50
<i>S. aureus</i> MRSA 20628	> 100	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20630	> 100	100	100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20631	> 100	100	100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20632	> 100	100	100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20633	> 100	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20635	> 100	100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20636	> 100	100	12.5	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20652	100	50	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20653	> 100	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20654	> 100	100	50	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20622	100	100	100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20623	> 100	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20624	> 100	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 21083	> 100	100	100	> 100
<i>Enterococcus faecalis</i> 4737 (VRE)	> 100	100	> 100	> 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 56e 56f และ 56g

แบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)		
	56e	56f	56g
<i>Streptococcus milleri</i> group	12.5	> 100	12.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	> 100	> 100	100
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27175	12.5	> 100	3.125
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	50	> 100	100
<i>Staphylococcus coag</i> negative	100	> 100	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26633	50	> 100	100
<i>Bordetella pertussis</i>	100	> 100	100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.56	> 100	6.25
<i>Streptococcus sobrinus</i>	50	> 100	100
<i>Vibrio cholerae</i>	> 100	> 100	> 100
<i>Vibrio paraheamolyticus</i>	100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA N1	100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20625	100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20626	50	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20627	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20628	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20630	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20631	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20632	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20633	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20635	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20636	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20652	100	> 100	12.5
<i>S. aureus</i> MRSA 20653	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20654	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20622	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20623	100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 20624	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> VRSA 21083	100	> 100	> 100
<i>Enterococcus faecalis</i> 4737 (VRE)	> 100	> 100	> 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 57a 57b และ 57c

แบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)		
	57a	57b	57c
<i>Streptococcus milleri</i> group	25	12.5	12.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	> 100	50	25
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27175	12.5	12.5	25
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	> 100	50	100
<i>Staphylococcus coag</i> negative	12.5	6.25	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26633	> 100	100	100
<i>Bordetella pertussis</i>	> 100	50	25
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	6.25	6.25	6.25
<i>Streptococcus sobrinus</i>	> 100	12.5	25
<i>Vibrio cholerae</i>	> 100	> 100	> 100
<i>Vibrio paraheamolyticus</i>	> 100	25	12.5
<i>S. aureus</i> MRSA N1	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20625	> 100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20626	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20627	> 100	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> MRSA 20628	> 100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20630	> 100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20631	> 100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20632	> 100	100	50
<i>S. aureus</i> MRSA 20633	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20635	> 100	> 100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20636	> 100	100	50
<i>S. aureus</i> MRSA 20652	> 100	50	12.5
<i>S. aureus</i> MRSA 20653	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA 20654	> 100	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> VRSA 20622	100	12.5	12.5
<i>S. aureus</i> VRSA 20623	> 100	50	50
<i>S. aureus</i> VRSA 20624	> 100	12.5	25
<i>S. aureus</i> VRSA 21083	100	6.25	50
<i>Enterococcus faecalis</i> 4737 (VRE)	> 100	50	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาร 57d 57e 57f และ 57g

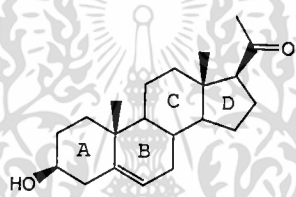
แบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			
	57d	57e	57f	57g
<i>Streptococcus milleri</i> group	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12.5	25	50	50
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27175	1.56	6.25	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	50	100	100	100
<i>Staphylococcus coag</i> negative	1.56	6.25	6.25	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26633	50	100	100	100
<i>Bordetella pertussis</i>	12.5	50	50	50
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	3.125	3.125	1.56	6.25
<i>Streptococcus sobrinus</i>	100	6.25	25	12.5
<i>Vibrio cholerae</i>	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	50	25	25	> 100
<i>S. aureus</i> MRSA N1	100	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20625	50	6.25	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20626	50	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20627	50	6.25	6.25	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20628	12.5	50	50	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20630	50	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20631	50	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20632	25	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20633	50	50	50	50
<i>S. aureus</i> MRSA 20635	50	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20636	25	50	50	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20652	50	25	25	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20653	50	100	100	100
<i>S. aureus</i> MRSA 20654	12.5	6.25	25	50
<i>S. aureus</i> VRSA 20622	6.25	12.5	25	50
<i>S. aureus</i> VRSA 20623	6.25	25	50	50
<i>S. aureus</i> VRSA 20624	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> VRSA 21083	25	50	50	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> 4737 (VRE)	> 100	25	25	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของ สเตียรอยด์ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ พบสเตียรอยด์ที่น่าสนใจในการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชัน คือ Pregnenolone 1 เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสเตียรอยด์ Pregnenolone พบว่า Pregnenolone 1 มีความเหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชัน เนื่องจากมีหมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกัน 2 หมู่ที่วง A และ วง D คือหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอนิล ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันได้ และจากที่กล่าวมาโดยพิจารณาฤทธิ์ทางชีวภาพและโครงสร้าง ในงานวิจัยนี้จึงเลือกสเตียรอยด์ Pregnenolone หรือ 3 β -Hydroxy-5-pregnene-20-one 1 เป็นสารตั้งต้น



3 β -Hydroxy-5-pregnene-20-one 1

นอกจากนั้นอีกหนึ่งความสนใจของผู้วิจัยได้แก่ การปรับปรุงโครงสร้างของสเตียรอยด์ ได้แก่การปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของไบสแอสิต จึงได้สังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบสแอสิต และนำสารสังเคราะห์ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

5.1 ผลการทดสอบอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

จากการทดสอบผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ในด้านการส่งเสริมและการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบผักกวางตุ้ง และข้าว การทดลองแรกเป็นการทดสอบผลของ WP (wetable powder) ต่อเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ทำการทดสอบโดยวิธี Vial Test เนื่องจากสารสเตียรอยด์มีคุณสมบัติในการละลายน้ำน้อย แต่พืชใช้น้ำเป็นตัวพาในการนำสารเข้าสู่ต้นพืช ดังนั้นจึงต้องทำให้สารสเตียรอยด์สังเคราะห์มีคุณสมบัติละลายได้ดีขึ้น ในการทดลองนี้ทำให้สารอยู่ในรูปผง (เปียก) แฉวนลอยในน้ำ (wetable powder หรือ WP)

5.1.1. ผลของ WP ต่อเมล็ดพืชทดสอบโดยวิธี Vial Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ว่าลิขสิทธิ์ในวงเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองนี้ทำให้สารอยู่ในรูปผง (เปียก) แขนวลอยในน้ำ (wetable powder หรือ WP) จากการทดลองทำการเจือจางสาร WP ในน้ำกลั่นให้ได้ระดับความเข้มข้น 0.1 0.3 0.6 0.9 1.2 1.5 1.8 และ 2.1 % w/v โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ เพื่อทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ คือ ข้าว พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.6 % (w/v) ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของข้าว และที่ระดับความเข้มข้น 0.9 % (w/v) ขึ้นไปมีผลต่อความยาวรากของข้าว ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ 85 % WP คือมีสารออกฤทธิ์ 15 % และ WP 85 % ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของ WP เท่ากับ 0.19 % (w/v) โดยที่ระดับความเข้มข้นนี้ WP ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบและสเตรอยด์สังเคราะห์ทุกตัวเมื่อผสมกับ WP ที่ระดับความเข้มข้น 0.19 % (w/v) สเตรอยด์สังเคราะห์จะอยู่ในรูปผง (เปียก) แขนวลอยในน้ำทุกตัว

5.1.2. ผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยวิธี

Vial Test

จากการทดลองทำการเจือจางอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ในน้ำกลั่นให้ได้ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm โดยใช้ น้ำกลั่นผสม WP เป็นวิธีการเปรียบเทียบ (CHECK) เพื่อทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ 2 ชนิด คือ ข้าว พบว่า สารอนุพันธ์อีเทอร์ 3β -Alloxy-5-pregnene-20-one 49 มีผลยับยั้งความยาวรากของข้าวที่ระดับความเข้มข้น 300 ppm ขึ้นไป สารอนุพันธ์ซัลเฟต 3β -Sulfate-5-pregnene-20-one 50 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของข้าว ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป ส่วนในด้านความยาวต้นนั้นไม่ได้รับผลใดๆ จากผลการทดลองได้สอดคล้องกับโครงสร้างสาร 49 และ 50 มีหมู่ฟังก์ชันที่คล้ายกับสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในปัจจุบัน [17]

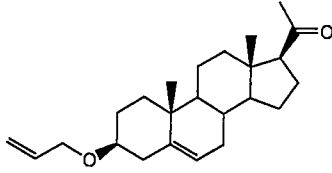
5.1.3. ผลของอนุพันธ์ของ Pregnenolone ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยวิธี

Agar Test

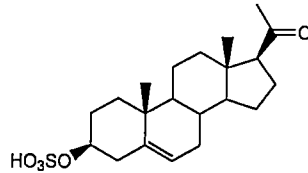
ผลการทดสอบผลของสารอนุพันธ์อีเทอร์ 3β -Alloxy-5-pregnene-20-one 49 และสารอนุพันธ์ซัลเฟต 3β -Sulfate-5-pregnene-20-one 50 ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบโดยวิธี Agar Test ซึ่งสารอนุพันธ์อีเทอร์ 49 และสารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าว ดีที่สุด ในการทดสอบโดยวิธี Vial Test จากการทดลองทำการเจือจางอนุพันธ์ของ Pregnenolone ผสม WP ในวัสดุปลูกวันผสมน้ำกลั่นให้ได้ระดับความเข้มข้น 100 200 300 และ 400 ppm โดยใช้ น้ำกลั่นผสม WP เป็นวิธีการเปรียบเทียบ เพื่อทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบคือ ข้าว พบว่า สารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 และ สารอนุพันธ์อีเทอร์ 49 ที่ระดับความเข้มข้น 300 และ 400 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวต้นของข้าวน้อย ในทางตรงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้ามที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป สารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 และ สารอนุพันธ์อีเทอร์ 49 ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อข้าวในด้านการยับยั้งความยาวราก เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นผสม WP (CHECK)



3β-Alloxy-5-pregnene-20-one 49

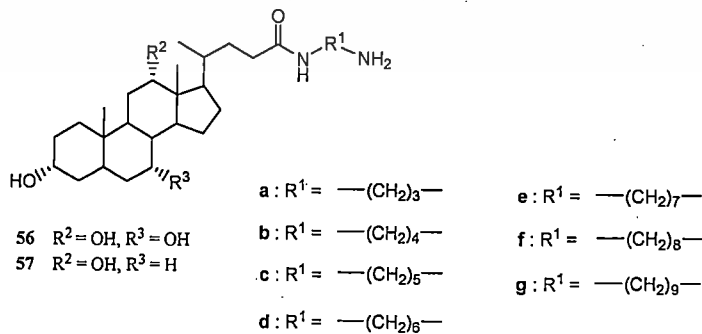


3β-Sulfate-5-pregnene-20-one 50

จากการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ Pregnenolone 1 ที่คาร์บอนตำแหน่ง 3 ของวง A มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพด้านการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยพบว่าหมู่ฟังก์ชันกลุ่ม allyl ether และ กลุ่มซัลเฟต มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ สารอนุพันธ์อีเทอร์ 49 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ และสารอนุพันธ์ซัลเฟต 50 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ

5.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบสแอสิดโดยเทคนิควิทยุภาคของแข็ง

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของไบสแอสิดที่สามารถตรวจสอบโครงสร้างสารด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้มีความถูกต้อง ผลได้ของสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 40 – 80 เปอร์เซ็นต์ สูตรโครงสร้างของไบสแอสิดเอไมด์สังเคราะห์แสดงดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การทดสอบผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

5.3.1 ผลการทดสอบผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของกรดโคลิก 8 และอนุพันธ์เอไมด์ 56a-56g

ในด้านผักโขมจีนพบว่า อนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิก 56b เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุด ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการงอกได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป มีผลยับยั้งความยาวต้นได้ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ขึ้นไป และมีผลยับยั้งความยาวรากได้ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm ขึ้นไป ซึ่งมีผลการยับยั้งที่ดีมากกว่าเมื่อเทียบกับการยับยั้งการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของกรดโคลิก 8

ในด้านหญ้าข้าวนกพบว่า อนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิก 56b มีผลต่อการยับยั้งการงอก ความยาวต้น และความยาวราก ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการยับยั้งการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของกรดโคลิก 8 โดยสามารถยับยั้งความยาวต้นได้ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm เป็นต้นไป และมีผลยับยั้งความยาวรากได้ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เป็นต้นไป

5.3.2 ผลการทดสอบผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของกรดคีออกซีโคลิก 9 และอนุพันธ์เอไมด์ 57a-57g

ในด้านผักโขมจีนพบว่า อนุพันธ์เอไมด์ของกรดคีออกซีโคลิก 57b มีผลต่อการยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของผักโขมจีน ทั้งความยาวต้นและความยาวรากได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 ppm เป็นต้นไป ซึ่งมีผลการยับยั้งได้ดีมากเมื่อเทียบกับกรดคีออกซีโคลิก 9

ในด้านหญ้าข้าวนกพบว่า อนุพันธ์เอไมด์ของกรดคีออกซีโคลิก 57b มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก โดยสามารถยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 62.5 ppm เป็นต้นไป ซึ่งดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรดคีออกซีโคลิก 9

5.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของไบสแอสิดและอนุพันธ์เอไมด์ พบว่าสารตั้งต้นไบสแอสิดทั้ง 2 ชนิด คือกรดโคลิก 8 และ กรดคีออกซีโคลิก 9 เมื่อทดสอบกับแบคทีเรียชนิดต่างๆ พบว่าส่วนใหญ่มีค่า MIC มากกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้น กรดโคลิก 8 ในการต้านแบคทีเรีย *C. diphtheriae* มีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กรดคีออกซีโคลิก 9 ในการต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย *S. milleri* group และ *C. diphtheriae* มีค่า MIC เท่ากับ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงเห็นได้ว่าสารตั้งต้น ไบโอสแตตินส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ

เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของอนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิก 56a – 56g พบว่าสาร 56g มีค่า MIC ต่ำสุดเท่ากับ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับการต้าน *S. mutans* ATCC 27175 และสาร 56f ไม่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียทุกชนิดที่ทำการทดสอบ

สำหรับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของอนุพันธ์เอไมด์ของกรดคีโนไดออกซีโคลิก 57a – 57g พบว่าสารส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียเกือบทุกชนิด ยกเว้นสาร 57a ที่ส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้พบว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุดในกลุ่มนี้มีค่า MIC เท่ากับ 1.56 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่สาร 57d สำหรับการต้าน *S. mutans* ATCC 27175 และ *Staphylococcus coag negative* และสาร 57f สำหรับการต้าน *C. diphtheriae*

สำหรับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของอนุพันธ์เอไมด์ของกรดไดออกซีโคลิก 57a – 57g พบว่าสารทุกตัวมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ได้ดี สารที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุด คือ สาร 57g มีค่า MIC เท่ากับ 0.78 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับการต้าน *S. mutans* ATCC 27175 และ *C. diphtheriae*

นอกจากนี้จากผลการทดลองยังพบอีกว่าไบโอสแตตินเอไมด์สังเคราะห์เกือบทุกชนิดไม่มีฤทธิ์ในการต้าน *V. cholerae* ยกเว้น สาร 57d ที่ค่า MIC เท่ากับ 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สาร 57e ที่ค่า MIC เท่ากับ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่า การปรับปรุงโครงสร้างของกรดโคลิก 8 และกรดไดออกซีโคลิก 9 เป็นสารประกอบเอไมด์จะทำให้สารมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียดีมากยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hazra และคณะ[14] ที่ศึกษาพบว่าอนุพันธ์เอไมด์ของกรดโคลิก และกรดไดออกซีโคลิก มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากนี้ยังพบว่าอนุพันธ์เอไมด์ และเอสเทอร์ของกรดโคลิกมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย *S. aureus*

เอกสารอ้างอิง

- [1] วีรศักดิ์ เชื้อมโนชาญ. 2529 สเต็มรอยดักพืช ภาควิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- [2] ภาควิชาเกษตรชีววิทย. 2536 เกษตรวิทย. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [3] R.J. Simmonds. 1997. Chemistry of Biomolecules: An Introduction, Billing & Sons Ltd., Worcester.
- [4] วิชชุ โลงนาภวัฒน์. 2532. ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชีวสังเคราะห์, ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [5] R. Tominaga, N. Sakurai and S. Kuraishi. 1994. Brassinolide Induced Elongation of Inner Tissues of Segments of Squash (*Cucurbita maxima* Duch.) Hypocotyls., **Plant and Cell Physiology**, Vol. 55, 7, pp. 1105-1106.
- [6] J. G. Roddick and M. Guan. 1991. in *Brassinosteroids; Chemistry, Bioactivity and Applications.*, ed. H. G. Culter, T. Yokota and G. Adam., American Chemical Society, Washington, 37, 1277.
- [7] F. R. Bisogno, A. A. Orden, C. A. Pranzoni, D. A. Cifuentes, O. S. Giordano and M. K. Sanz. 2007. Atypical Regioselective Biohydrolysis on Steroidal Oxiranes by *Aspergillus niger* Whole Cells: Some Stereochemical Features., **Steroids**, Vol. 72, 8, pp. 643-652.
- [8] M. Ishiguro, S. Takatsuo and M. Morisaki. 1980. The Synthesis of Brassinosteroides, a New Class of Plant Hormones., **Journal of Chemical Society Chemistry Communication**, 20, pp. 962-964.
- [9] M. Sakakibara and K. Mori. 1983. Improved Synthesis of Brassinolide., **Agricultural and Biological Chemistry**, Vol. 47, 30, pp. 663-664.
- [10] U. Hedtmann, KHobert, T. Milkova and P. Weizel. 1988. Synthesis of Potential Ecdysteroid Precursors from Δ^2 Sterols. **Tetrahedron**, Vol. 44, 7, pp. 1941-1952.
- [11] T. Kametani, T. Katoh, J. Fujio, I. Nogiwa, M. Tsubuki and T. Honda. 1998. **Journal of Organic Chemistry**, 53, pp. 1962.
- [12] A. Amann, G. Ourisson and B. Luu. 1987 AUG. A Novel Stereospecific Synthesis of 22-Hydroxylated Triterpenes and Steroids-Synthesis of 22R-Hydroxylanosterol and 22R-Hydroxydesmosterol., **Synthesis-Stuttgart**, 8, pp. 696-700.

- [13] A. Sadownik, G. Deng, V. Janoul and S. L. Regen. 1995., Rapid Construction of a Squalamine Mimic, *Journal of American Chemical Society*, Vol. 177, 88, pp. 6138-6139.
- [14] B. G. Hazra, V. S. Pore, S. K. Dey, S. Datta, M. P. Darokar, D. Saikai, S. P. S.Khanuja and A. P. Thakur. 2004. Bile Acid Amide Derived from Chiral Amino Alcohols : Novel Antimicrobials and Antifungals, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, pp. 773-777.
- [15] A. W. Bauer, W. M. M. Kirby J. C. Sherris and M. Truck. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method., *American Journal Clinical Pathology*, Vol. 45, pp. 493-496.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของพืชทดสอบแต่ละการทดลองจะใช้สูตรในการคำนวณเป็นดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = ((\text{control}-\text{treatment})/\text{control}) \times 100$$

ตัวอย่างเช่น

ตารางที่ 1 แสดงผลจากการทดสอบด้วยวิธี Agar Test ในด้านการเจริญเติบโตด้านความยาวราก โดยใช้สาร 50 ที่ 5 ระดับความเข้มข้น

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยความยาวราก (ซม.)
CHECK (control)	100
100	46.00
200	35.25
300	18.25
400	14.75

เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = ((\text{control}-\text{treatment})/\text{control}) \times 100$$

จะได้ว่า
$$= ((100-14.75)/100) \times 100$$

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ซึ่งทดสอบโดยวิธี Agar Test เท่ากับ 85.25 เปอร์เซ็นต์

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงผลการทดลองที่เกี่ยวข้อง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของข้าวที่เพาะในสาร 49 และสาร 50 โดยใช้ 4 ระดับความเข้มข้นเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่นผสม WP (CHECK) โดยวิธี Agar Test

Source of variation	df	Mean Square	
		ความยาวต้น	ความยาวราก
treatment	14	23.480**	4891.492**
A	4	43.839**	7920.808**
B	2	15.798**	1413.650**
AXB	8	15.221**	4246.295**
Error	45	1.593	1.394
Total	59	6.787	1161.756

* มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้