สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การหาส่วนประกอบทางเคมีจากส่วนเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ในชั้นเมทานอล

T049282

นายทฤษฎี เสรีพัฒนานนท์ รหัส 42050078
นายวัลลภ ดอนมอญ รหัส 42050113

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 49282
วัน, เดือน, ปี 18 ก.พ. 2547

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chemical Composition Determination from Bark of *Zizyphus attopoensis* Pierre in Methanol Extract

Mr. Tridsadee Sarepattananon

Mr. Wanlop Donmom

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาการหาส่วนประกอบทางเคมีจากส่วนเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ในชั้นเมทานอล			
นักศึกษา	นายทฤษฎี	เสรีพัฒนานนท์	รหัส	42050078
	นายวัลลภ	ดอนมอญ	รหัส	42050113
ภาควิชา	เคมี			
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม			
ปีการศึกษา	2545			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์			
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ, ผศ.ดร.ตะวัน สุขน้อย			

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร.ศักดา ไตรศักดิ์	.....
กรรมการ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	.....
กรรมการ อ.ปัทมา ลีพหาวงศ์	.....
กรรมการ ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์	.....
กรรมการ รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ	.....
กรรมการ ผศ.ดร.ตะวัน สุขน้อย	.....

.....

(รศ.ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การหาส่วนประกอบทางเคมีจากส่วนเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ในชั้นเมทานอล

นักศึกษา นายทฤษฎี เสรีพัฒนานนท์

นายวัลลภ ดอนมอญ

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2545

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ, ผศ.ดร.ตะวัน สุขน้อย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการหาส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) โดยการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งด้วยตัวทำละลายเมทานอลซึ่งจะได้สารสกัดชั้นเมทานอลออกมาคิดเป็น %conversion เท่ากับ 4.315% โดยน้ำหนักของเปลือกต้นก่อนสกัด จากนั้นนำสารสกัดชั้นเมทานอลมาทำการแยกส่วนย่อยทางเคมีโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าแยกได้ 12 ส่วนย่อย โดยพิจารณาจากการเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC โดยมีส่วนย่อย 2 ส่วนที่สามารถนำมาแยกสารต่อให้บริสุทธิ์ได้ หลังจากแยกสารบริสุทธิ์ทั้งสองแล้วพบว่ามีลักษณะที่เหมือนกันคือเป็นผลึกสีขาว และจากการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ทั้งสองด้วยเทคนิค NMR Spectroscopy โดยใช้ ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR พบว่าสเปกตรัมของสารทั้งสองมีลักษณะใกล้เคียงกันจึงน่าจะเป็นสารตัวเดียวกัน จากการแปลผลข้อมูลของสเปกตรัม และจากการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมโดยใช้โปรแกรม Chem Draw Ultra พบว่าสารบริสุทธิ์ที่ได้มีลักษณะของสเปกตรัมคล้ายกับสารประกอบฟีนอลิก (Phonolic compound) ซึ่งจากการเปรียบเทียบสเปกตรัมของสารบริสุทธิ์กับ Authentic (-) Epicatechin พบว่าสัญญาณของ NMR ปรากฏที่เดียวกัน ดังนั้นโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของสารบริสุทธิ์คาดว่ามีโครงสร้างเป็น Epicatechin ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแด็นท์ (antioxidant) และใช้เป็นส่วนประกอบในยาที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title Chemical Composition Determination from Bark of *Zizyphus attopoensis* Pierre in Methanol Extract

Student Mr. Tridsadee Sarepattananon

Mr.Wanlop Donmon

Department Chemistry

Programme Industrial Chemistry

Year 2002

Project Advisor Asst. Prof. Dr. Teerawat Mongkolasavarat

Project Co-Advisor Assoc. Prof. Dr. Sunit Suksumran, Asst. Prof. Dr. Tawan Sooknoi

Abstract

This research is the study of chemicals extracted from *Zizyphus Attopoensis* Pierre. 4.315 % of crude extract were obtained from *Zizyphus Attopoensis* Pierre when methanol were used as solvent. The crude extract was primarily separated by column chromatography using 5% methanol in ethyl acetate as eluent. From this technique, 12 fractions were obtained. The second and the third fractions were futher separated by column chromatography using 5% dichloromethane in ethyl acetate and 20% dichloromethane in ethyl acetate, respectively. Two pure compounds were obtained as white crystals. The structure of these two compounds were elucidated using ^{1}H –NMR and ^{13}C – NMR spectroscopy. It was found that the two compounds exhibit the same structure. Together with Chem Draw Ultra information, it can be speculated that the compounds may well be phenolic compounds. Then we compare the spectrum of the pure compounds with Authentic (-) Epicatechin and it was found that the NMR's signals appear the same. Therefore without knowing stereochemisty, the possible structure of the pure compounds can be Epicatechin. Epicatechin is an anti-oxidant compound and it is the one of the compositions in medicine for Diabetes.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงงานพิเศษสำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ ความร่วมมือ ตลอดจนคำแนะนำต่างๆที่เห็นประโยชน์แก่คณะผู้จัดทำจากบุคลคลและองค์กรต่างๆ

ขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์ รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ และ ผศ.ดร.ตะวัน สุขน้อย เป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ปัญหา เอาใจใส่ดูแล และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้มาโดยตลอด

ขอขอบคุณ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง รศ.ดร.ศักดา ไตรศักดิ์ อาจารย์ปัทมา ลีพหาวงค์ และ อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ช่วยกรุณาตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่านที่คอยช่วยเหลือให้การทำโครงงานพิเศษนี้ดำเนินไปด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยถามไถ่ ให้กำลังใจและคำปรึกษาที่ดีตลอดมา ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยช่วยเหลือ ให้กำลังใจตลอดการทำโครงงานพิเศษ

นายทฤษฎี เสรีพัฒนานนท์

นายวัลลภ ดอนมอญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ฌ
อภิธานศัพท์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตการศึกษา	1
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 แผนการศึกษา	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 สมุนไพร	3
2.1.1 ความหมายของสมุนไพร	3
2.1.2 ลักษณะของพืชสมุนไพร	4
2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร	7
2.1.4 ความสำคัญของสมุนไพร	8
2.1.5 ข้อดีของสมุนไพร	8
2.1.6 ข้อเสียของสมุนไพร	9
2.1.7 ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร	9
2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง	10
2.2.1 การเตรียมตัวอย่าง	10
2.2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช	10
2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.2.4 การแยกส่วนผสม	11
2.2.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์	11
2.3 ต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre)	12
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	22
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	22
3.2 ขั้นตอนการวิจัย	24
3.3 วิธีการทดลอง	25
บทที่ 4 ผลการวิจัย	28
4.1 ผลการสกัดเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	28
4.2 ผลการศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีจากชั้นตัวทำละลายเมทานอลด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี เพื่อนำไปใช้แยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	28
4.2.1 ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของสารสกัดชั้นเมทานอล	28
4.2.2 ผลการแยกด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม	29
4.3 ผลการแยกส่วนย่อยจากสารสกัดในชั้นเมทานอล (Crude MeOH Extract) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	30
4.4 การทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification)	33
4.4.1 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี และการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	33
4.4.2 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี และการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.4.3 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	42
4.4.4 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	45
4.4.5 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	49
4.5 ผลการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์	55
4.5.1ผล ^{1}H-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	55
4.5.2 ผล ^{13}C-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	55
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	59
5.1 สรุปผลการวิจัย	59
5.2 ข้อเสนอแนะ	60
เอกสารอ้างอิง	61
ภาคผนวก	62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid	13
2.2 โครงสร้างหลักของ13-membered ring	14
2.3 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-F or *O*-desmethyl- Zizyphine-A (2)	15
2.4 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-I (3)	15
2.5 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-K (4)	16
2.6 โครงสร้างหลัก 14-membered ring	16
2.7 สูตรโครงสร้างของ Frangufoline (6)	17
2.8 สูตรโครงสร้างของ Mauritine-D (7)	17
2.9 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-G	18
2.10 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Zizyphine-D	18
2.11 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Abyssinine	19
2.12 สูตรโครงสร้างของ Betulinic acid	19
2.13 สูตรโครงสร้างของ Zizyotin	19
2.14 สูตรโครงสร้างของ Nummularine –D, Nummularine –E และ Nummularine –F	21
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 แสดงการแยกของส่วนย่อยของสารสกัดด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี	29
4.2 แผนผังการแยกของ Crude MeOH Extract	32
4.3 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี	34
4.4 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี	38
4.5 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี	40
4.6 แผนผังการแยกของZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	43
4.8 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	47
4.9 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	50
4.10 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	53
4.11 แผนผังการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	54
4.12 โครงสร้างที่เป็นไปได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	56
4.13 แสดง ^{1}H-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	57
4.14 แสดง ^{13}C-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	58
5.1 โครงสร้างที่เป็นไปได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) และ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	59
ภาคผนวก	
ก-1 แสดงสัญญาณ ^{1}H-NMR ของ (-) Epicatechin มาตรฐาน	63
ก-2 แสดงสัญญาณ ^{13}C-NMR ของ (-) Epicatechin มาตรฐาน	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดเบื้องต้น (Crude Extract) ในชั้นตัวทำละลายเมทานอล 28

4.2 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยของสารสกัดชั้นตัวทำละลายเมทานอล 28

4.3 แสดงผลการแยกสารสกัดด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่าทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 29

4.4 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยกสารสกัดในชั้นเมทานอล (Crude MeOH Extract) 30

4.5 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของสารสกัดในชั้นเทานอล (Crude MeOH Extract) 31

4.6 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) 33

4.7 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/ F_2(4-7) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 34

4.8 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/ F_2(4-7) 35

4.9 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.24/ F_2(4-7) 36

4.10 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) 37

4.11 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 37

4.12 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) 38

4.12(ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) 39

4.13 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) 39

4.14 แสดงน้ำหนักและค่า R_f ของสารบริสุทธิ์ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) 40

4.15 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.16 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 43

4.17 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) 44

4.18 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) 45

4.19 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) 46

4.20 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 46

4.21 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) 47

4.21(ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) 48

4.22 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) 48

4.23 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) 49

4.24 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent 50

4.25 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) 51

4.25 (ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) 52

4.26 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) 52

4.27 แสดงน้ำหนักและค่า R_f ของสารบริสุทธิ์ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) 53

4.28 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) จาก ^{1}H-NMR Spectra 55

4.29 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) จาก ^{13}C-NMR Spectra 55

4.30 แสดงโปรตอนที่เกาะอยู่บนคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ 56

4.31 แสดงตำแหน่งของคาร์บอน 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อภิธานศัพท์

Phe	=	phenylalanine
lle	=	isoleucine
i-butyl	=	*iso*butyl
s-butyl	=	secondary butyl
ZA	=	*Zizyphus attopensis* Pierre ST
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
IR	=	Infrared
TLC	=	Thin Layer Chromatography
UV	=	Ultraviolet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

สารที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในปัจจุบันที่มีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคได้ซึ่งเรียกกันว่า "สมุนไพร" นับว่ามากมายและมีประโยชน์มาก เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับยาแผนปัจจุบัน ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยและนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชกรรมและการแพทย์ตลอดจนในอุตสาหกรรมอาหารมากมาย แต่ทั้งนี้ยังมีสมุนไพรอีกจำนวนมากที่ยังไม่ได้มีการศึกษาวิจัย จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรตัวอื่นเพื่อหาส่วนประกอบที่มีอยู่ในสมุนไพรนั้นๆ เพื่อเป็นการวิเคราะห์หาสารตัวใหม่ที่อาจมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมากกว่าหรือเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารที่มีสมบัติเดิมจากสมุนไพรตัวใหม่

ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการสกัดและวิเคราะห์สารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ซึ่งเป็นไม้ที่พบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จากงานวิจัยที่เคยมีผู้ศึกษามาแล้วพบว่าในสกุล (Genus) ของ *Zizyphus* นั้นมีสารต้านทานเชื้อมาลาเรียและเชื้อวัณโรค ในการศึกษาเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) เพื่อดูว่ามีสารตัวใดที่มีสารต้านทานเชื้อมาลาเรียและเชื้อวัณโรคเหมือนในสกุลของ *Zizyphus* หรือไม่

การศึกษาครั้งนี้ใช้เปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre)ในการวิจัย โดยการนำเอาพื้นฐานเทคนิคทางด้านเคมีอินทรีย์มาประยุกต์ใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแยกสารประกอบจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง
2. เพื่อศึกษาการแยกสารประกอบที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography)
3. เพื่อศึกษาวิธีการหาโครงสร้างของสารจากสารที่ได้จากการแยกคอลัมน์

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1. จัดหาเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre)
2. ตัดเปลือกต้นเป็นชิ้นเล็กๆแล้วนำไปตากให้แห้ง จากนั้นทำการบดแก่นรากให้ละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำส่วนเปลือกที่บดแล้วทำการสกัดโดยแช่ในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) 48 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส
4. กรองแยกกากและตัวทำละลายออกจากกัน และระเหยตัวทำละลายออก (evaporation) ได้ส่วนที่เรียกว่าสารสกัดหยาบ (crude extract)
5. นำสารสกัดหยาบที่ได้มาแยกคอลัมน์โดยเลือกระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม จนกว่าจะแยกได้สารบริสุทธิ์ในแต่ละองค์ประกอบ
6. ตรวจสอบหาโครงสร้าง

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

การหาส่วนประกอบทางเคมีในสมุนไพรธรรมชาติที่มีผลในการรักษาโรคหรือผลที่ช่วยในการส่งเสริมสุขภาพ โดยสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาคือ เปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ข้อมูลที่ได้จะนำไปศึกษาและเปรียบเทียบกับยาที่ใช้ในการรักษาโรคทางเภสัชวินิจฉัยเพื่อพิสูจน์ว่าสารที่แยกได้จากการสกัดเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งมีผลในการใช้เป็นตัวยารักษาโรคได้จริง

ถ้าผลจากการวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่แยกได้จากการสกัดออกมาแล้วมีหมู่ฟังก์ชันที่เหมือนกับสารที่เป็นส่วนประกอบของยารักษาโรค ดังนั้นสามารถสรุปได้คร่าวๆว่า สารที่แยกได้เป็นสารที่สามารถใช้รักษาโรคได้ นั่นคือเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งเป็นสมุนไพรธรรมชาติชนิดหนึ่งที่ใช้ในการรักษาโรคได้

1.5 แผนงานการศึกษา

งานวิจัยนี้จะศึกษาและวิจัยถึงการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งและการแยกสารที่สกัดได้ ประกอบกับการวิเคราะห์หาโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของสารที่แยกได้โดยมีขอบเขตดังนี้

1. ศึกษาการเตรียมสารสกัดหยาบโดยใช้ตัวทำละลายสกัดสารออกจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง
2. ศึกษาการหาระบบของตัวทำละลายละลาย (solvent system) ที่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ออกมาจากสารสกัดหยาบได้
3. ศึกษาวิธีการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) รวมทั้งการเก็บรักษาสารที่แยกออกมาได้
4. ตรวจสอบและวิเคราะห์สารที่แยกได้โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สมุนไพร

2.1.1 ความหมายของพืชสมุนไพร

“สมุนไพร”นับว่าเป็นยาที่สำหรับรักษาโรคต่างๆได้มากมายโดยเฉพาะอย่างยิ่ง"พืชสมุนไพร" ทั้งหลาย " พืชสมุนไพร"ที่นำเอามาเป็นส่วนประกอบของยารักษาโรคของคนเรานั้นได้รับการอนุญาตให้ใช้รักษาความเจ็บไข้ได้ป่วยของมนุษย์เราได้ โดยมีพระราชบัญญัติยาพุทธศักราช 2522 ปรากฏออกมา

อันมีความหมายถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุต่างๆ ซึ่งยังมิได้ผสมปรุงหรือทำการแปรสภาพ เป็นต้นว่า ส่วนของราก หัว เปลือก ใบ ดอก เมล็ด ผล บางท่านอาจจะเข้าใจผิดคิดไปว่า "สมุนไพร" มีแต่พืชเพียงอย่างเดียว แต่ในความเป็นจริงเพราะยังมีสัตว์และแร่ธาตุอื่นๆอีกสมุนไพรที่เป็นสัตว์ได้แก่ เขา หนัง กระดูก ดี หรือเป็นสัตว์ทั้งตัวก็มีเช่น ตุ๊กแก ไส้เดือน ม้าน้ำ ฯลฯ

"พืชสมุนไพร"นั้นตั้งแต่โบราณก็ทราบกันดีว่ามีคุณค่าทางยามากมายซึ่งเชื่อกันอีกด้วยว่าต้นพืชต่างๆ ก็เป็นพืชที่มีสารที่เป็นตัวยาด้วยกันทั้งสิ้น เพียงแต่ว่าพืชชนิดไหนจะมีคุณค่าทางยามากน้อยกว่ากันเท่านั้น

อย่างไรก็ดี ปัจจุบันสมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศมีความต้องการสูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และประเทศต่างๆในทวีปยุโรป ซึ่งสมุนไพรส่วนมากไม่สามารถทำการผลิตได้ในประเทศเหล่านี้ อีกทั้งคนส่วนใหญ่นิยมนิยมใช้สมุนไพรกันมาก ในลักษณะของการผลิตเป็นอาหารเสริมจึงมีการสนับสนุนส่งเสริมให้มีการปลูกสมุนไพรทั้งชนิดที่มีการรับรองจากทางวิทยาศาสตร์ และชนิดที่ยังไม่ได้ผ่านการทดลองแต่เคยใช้ได้ผลกันมาแต่โบราณ สำหรับในประเทศไทยนั้นมีสมุนไพรที่สำคัญหลายชนิดที่ตลาดต่างประเทศต้องการ แต่ว่าการผลิตสมุนไพรไทย ส่วนใหญ่ใช้วิธีเก็บหามาจากธรรมชาติมีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่เพาะปลูกและเป็นที่รู้จักกันดีในทางการค้า เนื่องจากการที่จะควบคุมคุณภาพเพื่อส่งออกต่างประเทศทำได้ยาก ดังนั้นการส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้น จะต้องใช้เวลาอีกนานพอสมควร เพื่อให้มีข้อมูลเพียงพอทางด้านวิทยาศาสตร์ พฤกษศาสตร์ สารเคมีในสมุนไพรแต่ละชนิดสรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยาตลอดจนต้องมีการคัดเลือกสมุนไพรที่ถูกต้องตามความต้องการของตลาดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"พืชสมุนไพร" หรือวัตถุธาตุนี้ หรือตัวยาสมุนไพรนี้แบ่งออกเป็น 5 ประการ

1.รูป ได้แก่ ใบไม้ ดอกไม้ เปลือกไม้ แก่นไม้ กระพี้ไม้ รากไม้ เมล็ด

2.สี มองแล้วเห็นว่าเป็นสีเขียวใบไม้ สีเหลือง สีแดง สีส้ม สีม่วง สีน้ำตาล สีดำ

3.กลิ่น ให้รู้ว่ามีกลิ่น หอม เหม็น หรือกลิ่นอย่างไร

4.รส ให้รู้ว่ามีรสอย่างไร รสจืด รสฝาด รสขม รสเค็ม รสหวาน รสเปรี้ยว รสเย็น

5.ชื่อ ต้องรู้ว่ามีชื่ออะไรในพืชสมุนไพรนั้นๆ ให้รู้ว่า ขิงเป็นอย่างไร ข่า เป็นอย่างไร ใบขี้เหล็ก เป็นอย่างไร ดอกมะขามเป็นอย่างไร ผลมะเกลือเป็นอย่างไร

2.1.2 ลักษณะของพืชสมุนไพร

"พืชสมุนไพร" โดยทั่วไปนั้น แบ่งออกเป็น 5 ส่วนสำคัญด้วยกัน คือ

1. ราก
2. ลำต้น
3. ใบ
4. ดอก
5. ผล

"พืชสมุนไพร" เหล่านี้มีลักษณะลำต้น ยอด ใบ ดอก ที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ แต่ส่วนต่างๆ ก็ทำหน้าที่เช่นเดียวกัน เช่นรากก็ทำหน้าที่ดูดอาหารมาเลี้ยงลำต้นกิ่งก้านต่างๆและใบกับส่วนต่างๆนั่นเองใบก็ทำหน้าที่ปรุงอาหารดูดออกซิเจน คายคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ดอก ผล เมล็ด ก็ทำหน้าที่สืบพันธุ์กันต่อไป เพื่อทำให้พืชพันธุ์นี้แพร่กระจายออกไปเรื่อยๆไม่มีที่สิ้นสุด

1. ราก

รากของพืชมีมากมายหลายชนิดเอามาเป็นยาสมุนไพรได้อย่างดี เช่น กระชาย ขมิ้นชัน ขิง ข่า ขมิ้นอ้อย เป็นต้น รูปร่างและลักษณะของราก แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

- **รากแก้ว** ต้นพืชมากมายหลายชนิดมีรากแก้วอยู่ นับว่าเป็นรากที่สำคัญมากงอกออกจาลำต้นส่วนปลาย รูปร่างยาวใหญ่เป็นรูปกรวยด้านข้างของรากแก้วจะแตกแยกออกเป็นรากเล็กรากน้อยและรากฝอยออกมาเป็นจำนวนมากเพื่อทำการดูดซึมอาหารในดินไปบำรุงเลี้ยงส่วนต่างๆของต้นพืชที่มีรากแก้วได้แก่ ต้นขี้เหล็กต้นคูน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **รากฝอย** รากฝอยเป็นส่วนที่งอกมาจากลำต้นของพืชที่ส่วนปลายงอกออกมาเป็นรากฝอยจำนวนมากลักษณะรากจะกลมยาวมีขนาดเท่าๆกันต้นพืชที่มีใบเลี้ยงเดี่ยวจะมีรากฝอย เช่น หญ้าคา ตะไคร้ เป็นต้น

2. ลำต้น

นับว่าเป็นโครงสร้างที่สำคัญของต้นพืชทั้งหลายที่มีอยู่สามารถค้ำยันเอาไว้ได้ไม่ให้โค่นล้มลง โดยปกติแล้วลำต้นจะอยู่บนดินแต่บางส่วนจะอยู่ใต้ดินพอสมควร รูปร่าง ของลำต้นนั้นแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน คือ ตา ข้อ ปล้อง บริเวณเหล่านี้จะมีกิ่งก้าน ใบ ดอกเกิดขึ้นอีกด้วย ซึ่งจะทำให้พืชมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป

ชนิดของลำต้นพืชแบ่งตามลักษณะภายนอกของลำต้นได้เป็น

- ประเภทไม้ยืนต้น
- ประเภทไม้พุ่ม
- ประเภทหญ้า
- ประเภทไม้เลื้อย

3. ใบ

ใบเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของต้นพืชทั่วไป มีหน้าที่ทำการสังเคราะห์แสง ผลิตอาหาร และเป็นส่วนที่แลกเปลี่ยนน้ำและอากาศให้ต้นพืช ใบเกิดจากการงอกของกิ่งและตา ใบไม้โดยทั่วไปจะมีสีเขียว (สีเขียวเกิดจากสารที่มีชื่อว่า"คลอโรฟิลล์"อยู่ในใบของพืช) ใบของพืชหลายชนิดใช้เป็นยาสมุนไพรได้ดีมาก ใบที่สมบูรณ์มีส่วนประกอบรวม 3 ส่วนด้วยกันคือ

- ตัวใบ
- ก้านใบ
- หูใบ

ชนิดของใบ แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว หมายถึงก้านใบอันหนึ่ง มีเพียงใบเดียว เช่น ก้านพลู ขลู่ ยอ กระวาน
2. ชนิดใบประกอบ หมายถึงตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไปที่เกิดขึ้นก้านใบอันเดียวมี มะขามแขกแคบ้าน ขี้เหล็ก มะขาม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ดอก

ส่วนของดอกเป็นส่วนที่สำคัญของพืชเพื่อเป็นการแพร่พันธุ์ของพืชเป็นลักษณะเด่นพิเศษของต้นไม้แต่ละชนิด ส่วนประกอบของดอกมีความแตกต่างกันตามชนิดของพันธุ์ไม้และลักษณะที่แตกต่างกันนี้เป็นข้อมูลสำคัญในการจำแนกประเภทของต้นไม้

รูปร่างลักษณะของดอก ดอกจะต้องมีส่วนประกอบที่สำคัญ 5 ส่วนคือ

- ก้านดอก
- กลีบรอง
- กลีบดอก
- เกสรตัวผู้
- เกสรตัวเมีย

5. ผล

ผลคือส่วนหนึ่งของพืชที่เกิดจากการผสมเกสรตัวผู้กับเกสรตัวเมียในดอกเดียวกันหรือคนละดอกก็ได้มีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกันออกไปตามประเภทและสายพันธุ์รูปร่างลักษณะของผลมีหลายอย่าง ตามชนิดของต้นไม้ที่แตกต่างกัน

แบ่งตามลักษณะของการเกิดได้รวม 3 แบบ

1. ผลเดี่ยว หมายถึง ผลที่เกิดจากรังไข่อันเดียวกัน
2. ผลกลุ่ม หมายถึง ผลที่เกิดจากปลายช่องรังไข่ในดอกเดียวกัน เช่น น้อยหน่า
3. ผลรวม หมายถึง ผลที่เกิดมาจากดอกหลายดอก เช่น สับปะรด

มีการแบ่งผลออกเป็น 3 ลักษณะคือ

3.1 ผลเนื้อ

3.2 ผลแห้งชนิดแตก

3.3 ผลแห้งชนิดไม่แตก

"พืชสมุนไพร"นั้นมีสรรพคุณทางยาดีมาก คนโบราณใช้ทำการรักษาโรคกันมานานแล้ว ควรอนุรักษ์เอาไว้ให้ดี ในวงการแพทย์ก็มองเห็นความสำคัญของพืชที่มีประโยชน์ในทางยานี้มาก เช่น เดียวกันมีการนำเอา "พืชสมุนไพร" ไปสกัดเอาสารสำคัญที่มีอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพร ทำประโยชน์กันมากในชนบทที่ห่างไกลก็ใช้"พืชสมุนไพร" นี้เองช่วยในการบำบัดรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรค และอาการเจ็บไข้ได้ป่วย ซึ่งก็นับว่าได้ผลดีมาก เช่น

ใช้ชุมเห็ดเทศเป็นยาถ่าย ยาระบาย

ใช้บัวบกเป็นยาแก้เจ็บคอ แก้ร้อนใน

ใช้มะนาวเป็นยาแก้เลือดออกตามไรฟันหรือโรคลักปิดลักเปิด

ใช้มะระเป็นยาขมเจริญอาหาร

ใช้กะเพราเป็นยาเพิ่มน้ำนมในสตรีหลังคลอด

ใช้ไพลเป็นยารักษาโรคหืด

ใช้ตำลึงรักษาโรคเบาหวาน

สิ่งเหล่านี้เป็นความสามารถของแพทย์แผนโบราณที่ยึดเอา "พืชสมุนไพร" เป็นหลักในการรักษาโรคที่เกิดขึ้นกับคนเรามานับร้อยนับพันปีมาแล้ว

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาของพืชสมุนไพรเป็นสารเคมีที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย มีดังนี้

1. Tannin เป็นสารประกอบที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนเมื่อถูกกับเกลือคลอไรด์ของเหล็กจะให้สีเขียว น้ำเงินหรือดำ เนื่องจากมีรสฝาดจึงใช้บรรเทาอาการท้องร่วง และยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วย

2. Essential oil เป็นสารที่มีอยู่ในพืช โดยทั่วไปมีกลิ่นหอม เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด ถ้าเป็นประเภทเทอร์พีน (terpene) มักมีฤทธิ์ขับลม สารเหล่านี้หลายชนิดใช้ปรุงแต่งกลิ่นยา ใช้แต่งกลิ่นอาหาร บางชนิดมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

3. Cyanogenic glycoside เป็นสารเคมีที่มีอยู่ในพืช เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เกิดปฏิกิริยาทางเคมีจะให้ไซยาไนด์ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เนื่องจากไปแย่งจับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิจน สารพวกนี้ถูกทำลายได้โดยใช้ความร้อน มีอยู่ในพืชบางชนิด เช่น มันสำปะหลัง จึงไม่ควรรับประทานสด ๆ

4. Alkaloid เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบมีคุณสมบัติเป็นด่างเมื่ออยู่ในรูปของเกลือ แต่ถ้าอยู่ในรูปของด่างจะละลายในตัวทำละลายซึ่งละลายไขมันได้ดี เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เป็นต้น ตัวอย่างของอัลคาลอยด์ ได้แก่ Atropine จากต้นลำโพงมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Flavonoid เป็นสารประกอบของคาร์บอนและออกซิเจน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ กัน เช่น ลดการอักเสบ ขยายหลอดลม มดลูกคลายตัว ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

6. Steroid เป็นสารประกอบในพืชที่ละลายได้ดีในไขมัน สารในกลุ่มนี้บางตัวใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบ

7. Latex เป็นยางสีขาวเหมือนน้ำนม ประกอบด้วยแป้ง กัม เรซิน หรือสารอื่น บางชนิดมีสารเคมีซึ่งเมื่อรวมกับสารบางอย่างจะทำให้เกิดมะเร็ง (Co-carcinogen) ที่เรียกว่า Phorbol

8. Saponin เป็นสารประเภทไกลโคไซด์ (Glycoside) อาจเป็น steroid หรือ triterpine ซึ่ง saponin มีสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตก เป็นพิษต่อสัตว์เลือดเย็น

9. Gum เป็นของเหนียวที่พบในพืชบางชนิด จะพบเมื่อเรากรีด หรือทำให้พืชนั้นเป็นแผล ซึ่งบางชนิดใช้เป็นยา

10. Glycoside เป็นสารประกอบซึ่งมีสองส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล การมีน้ำตาลมาเกาะทำให้สารนั้นละลายน้ำได้ดีขึ้น ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสารจำพวกอินทรีย์เคมี ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป เช่น หากว่าเป็น Anthraquinone จะมีฤทธิ์เป็นยาถ่าย ถ้าเป็น steroid หรือ triterpine จะมีฤทธิ์ลดการอักเสบหรือการขยายของหลอดลม เป็นต้น

2.1.4 ความสำคัญของพืชสมุนไพร

1. ใช้ในการทำยา
2. ใช้เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการสกัดสารเคมีต่าง ๆ เพื่อใช้ผลิตยาแผนโบราณต่อไป
3. ใช้ในการปรุงแต่งรส กลิ่น สี ของอาหาร
4. ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เครื่องดื่ม อาหาร และเครื่องสำอางค์

2.1.5 ข้อดีของสมุนไพร

1. เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่แล้ว
2. มีความปลอดภัยในการใช้ เนื่องจากสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์อ่อนไม่ค่อยมีพิษภัย
3. ประหยัด ราคาถูก
4. เหมาะสำหรับผู้ที่อยู่ห่างไกลทุรกันดาร
5. ไม่ต้องกลัวปัญหาการขาดแคลนยา
6. เป็นพืชเศรษฐกิจ ทำให้ประหยัดกว่าใช้จ่ายในการซื้อยาสามารถส่งจำหน่ายทั้งภายในและต่างประเทศได้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 ข้อเสียของสมุนไพร

1. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกชนิด เนื่องจากมีพืชอยู่มากมาย และบางชนิดก็มีลักษณะคล้ายคลึงกันมากดังนั้นก่อนที่จะใช้สมุนไพรต้องมีความมั่นใจว่าเป็นพืชที่ต้องการจริงจึงจะเกิดประโยชน์ในการบำบัดโรคภัยไข้เจ็บ
2. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกขนาด ถูกสัดส่วน
3. การเตรียมค่อนข้างยุ่งยาก กล่าวคือ อาจต้องใช้สมุนไพรหลายชนิดในการเตรียมยาต่อครั้ง หรืออาจจะต้องใช้สารอื่นหรือองค์ประกอบอื่นอีกหลายอย่าง ทำให้ยุ่งยากในการเตรียมยา
4. เห็นผลในการรักษาช้า
5. พืชสมุนไพรบางชนิดอาจจะก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ ฉะนั้นจึงมีข้อจำกัดในการใช้สมุนไพรบางประการ
   (1) ควรจะเข้าใจถึงสาเหตุ และอาการของโรคให้แน่ชัดเสียก่อน เพื่อป้องกันการใช้สมุนไพรผิดโรค ซึ่งอาจเกิดอาการกำเริบได้
   (2) ต้องรู้ถึงอาการที่ไม่ควรใช้สมุนไพรรักษา โรคบางโรคต้องรีบไปพบแพทย์รักษา
   (3) อาจจะเกิดอาการแพ้หลังจากรับประทานยาสมุนไพร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน
   (4) ผู้เตรียมยาต้องมีความรู้ทางด้านพฤกษศาสตร์ หรือรู้จักต้นไม้เป็นอย่างดี
   (5) ผู้ใช้ต้องใช้ให้ถูกขนาด ถูกวิธี ถูกคน
   (6) ต้องเตรียมยาที่สะอาด ใช้สมุนไพรที่สะอาด
   (7) หากไม่เคยใช้ยาสมุนไพรต้องใช้ยาสมุนไพรในปริมาณความเข้มข้นต่ำ
   (8) การรักษาโรคด้วยยาสมุนไพรครั้งหนึ่ง ๆ ไม่ควรใช้ยาติดต่อกันนาน ๆ

2.1.7 ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร

1. อย่าใช้ยาที่ขึ้นราและมีสภาพเก่าจนเสื่อมคุณภาพ
2. ใช้ยาให้ตรงกับโรคและให้ใช้ในปริมาณเพียงพอกับอาการของโรค
3. ระวังอย่าให้มีพืชชนิดอื่นหรือวัตถุชนิดอื่นปะปน
4. การใช้ยาสมุนไพรบางชนิดควรงดอาหารที่มันจัดและมีรสจัดทุกชนิด ยาจึงจะมีประสิทธิภาพดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง

ในการนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช (Plant material preparation)

นำสมุนไพรที่มาแยกเอาส่วนประกอบที่ต้องการสกัดออกมา จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เพื่อนำไปทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

2.2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช (Extraction)

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ แต่ละวิธีมีทั้งข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน การสกัดที่ใช้ในการวิจัยคือ การสกัดร้อน เป็นกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดรูปชมพู่ หรือขวดปากกว้าง แช่ไว้ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 2 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ จากนั้นจึงกรองเอาสารละลายที่ได้ แล้วนำกาก (marc) ที่เหลือจากการกรองไปแช่สารละลายชนิดเดิม ทำเช่นเดียวกันนี้อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการกรองทั้งหมดเก็บไว้ เพื่อทำการสกัดเข้มข้นในขั้นตอนต่อไป

การเลือกตัวทำละลาย

ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ควรมีสมบัติ

(1) เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดสารได้ดีพอ
(2) ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป
(3) ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด
(4) ไม่เป็นพิษ
(5) ราคาพอสมควร

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน วิธีที่ใช้ในการวิจัยคือ Distillation in vacuum เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ Vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ distillation flask condenser receiving flask และ distillation flask จะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำ เพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 การแยกส่วนผสม (Separation)

ในพืชแต่ละชนิดจะมีสารเคมีหลายชนิด ดังนั้นสารสกัดที่ได้ในเบื้องต้นจึงเป็นส่วนผสมของสารเคมีเพื่อให้ได้สารสำคัญที่บริสุทธิ์ จึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคและอุปกรณ์ต่าง ๆ

ทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin-layer Chromatrophy : TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งแผ่เป็นแผ่นเคลือบบน support ซึ่งอาจเป็นแก้ว อะลูมิเนียม เมื่อหยดสารผสมลงบนเฟสอยู่กับที่ แล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ได้ไปใส่แท็งก์ซึ่งบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการที่ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านไปบนเฟสอยู่กับที่ ซึ่งเรียกว่า development ขณะที่เกิดการ development สารก็จะแยกออกจากกัน

การประยุกต์ใช้ TLC ในการศึกษาสารเคมีจากสมุนไพร

(1) ใช้วิเคราะห์หาสารเบื้องต้นว่ามีกี่ชนิด และอาจบอกได้ว่าเป็นสารประเภทใด

(2) ใช้เป็นวิธีเบื้องต้นเพื่อหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) สำหรับเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

(3) ใช้ตรวจสอบส่วนย่อย (fraction) ที่ได้มาจากเทคนิคคอลัมน์ โครมาโทกราฟีเพื่อรวมส่วนย่อย ที่เหมือนกัน

(4) แยกสารบางชนิดที่มีปริมาณน้อย

(5) ใช้แยกสารปริมาณมากซึ่งแยกได้โดยเทคนิคคอลัมน์ โครมาโทกราฟีไม่ได้ผล

(6) ใช้หาปริมาณสารในสารผสม

Column chloromatrophy

เป็นวิธีแยกสารโดยให้สารเคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ซึ่งบรรจุในหลอดแก้วกลวง

- คอลัมน์ (column) เป็นหลอดแก้วกลวง โดยมากจะต้องมีอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวของหลอดแก้วเท่ากับ 1: 10 การจะใช้คอลัมน์ยาวเท่าไรขึ้นอยู่กับความยากง่ายในการแยก ถ้าหากคอลัมน์ยาวจะทำให้การแยกมีประสิทธิภาพดีขึ้น เหมาะสำหรับแยกสารที่มีจำนวนมาก

- ตัวดูดซับ (Adsorbent) ชนิดของตัวดูดซับที่ใช้ ก็เช่นเดียวกับตัวดูดซับของ TLC โดยอัตราส่วนของตัวดูดซับที่ใช้ และปริมาณสารที่จะแยกขึ้นกับกระบวนการแยก

2.2.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

ใช้เทคนิคทาง spectroscopy เช่น IR , NMR และ MS เป็นต้น ในการวิเคราะห์สารที่แยกออกมาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre)

ชื่อพันธุ์ไม้ กำลังเสือโคร่ง

ชื่ออื่น กำลังพญาเสือโคร่ง, กำลังเสือโคร่ง (เชียงใหม่)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zizyphus attopoensis* Pierre

วงศ์ Rhamnaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ **ไม้พุ่ม** สูงประมาณ 7 ม. กิ่งเรียวเล็ก ค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีหนามแหลมโค้ง ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก กว้าง 1.4-2.4 ซม. **ยาว** 5-6 ซม. ปลายเรียวแหลม โคนเบี้ยว ขอบจักฟันเลื่อยเล็กๆ ปลายจักมีต่อม เส้นใบออกจากโคน**ใบ** 3 เส้น เห็นชัดทางด้านล่าง เส้นใบย่อยขนานกันตามขวางของใบและสานกันเป็นร่างแหถี่ๆ **แผ่นใบ** หนา เกลี้ยง ยกเว้นตามเส้นใบมีขน ก้านใบยาวประมาณ 6 มม. ด้านบนเป็นร่อง **ช่อดอกออกตาม**ง่ามใบ ยาว 3-5 ซม. มีขนสั้น ก้านดอกยาวประมาณ 6 มม. มีขน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ รูป**สามเหลี่ยม**ปลายมน ยาวประมาณ 2 มม. ด้านนอกมีขน ด้านในเกลี้ยง กลีบดอก 5 กลีบ รูปไข่กลับ ยาวประมาณ 2 มม. โคนกลีบสอบแคบ ขอบเรียบ กลีบโค้ง เกสรเพศผู้ 5 อัน สั้นกว่ากลีบดอก **อับเรณู**รูปไข่ ยาวประมาณ 1 มม. จานฐานดอกโค้ง รังไข่อยู่ลึก มี 2 ช่อง มีออวุลช่องละ 1 เม็ด ปลายแยกเป็นก้านเกสรเพศเมียงอๆ 2 อัน ผลกลม มีเนื้อ กว้าง 0.9-1.4 ซม. ยาวประมาณ 1.6 ซม. มีขนสีแดง มีเมล็ดแข็ง 1 เมล็ด รูปขอบขนาน กว้างประมาณ 5 มม. ยาว 1-1.2 ซม.

การกระจายพันธุ์ ลาว

การกระจายพันธุ์ในประเทศไทย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

สภาพนิเวศน์ ขึ้นตามริมห้วยในป่าดิบ

ประโยชน์ทางยา เปลือก

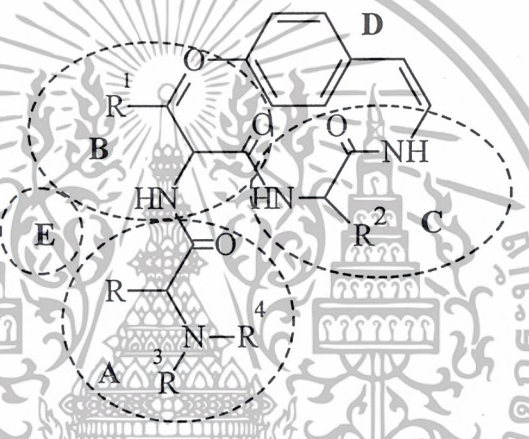
มีกลิ่นหอมคล้ายการบูร ใช้ต้มกับน้ำเป็นยาบำรุงธาตุ บำรุงกำลัง เจริญอาหาร ขับลม**ในลำ**ไส้ บำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย เป็นยาอายุวัฒนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cyclopeptide alkaloid เป็นอัลคาลอยด์ชนิดเป็นวงมีสายเปปไทด์ (peptide) ขนาด 10 หรือ 12 อะตอม เชื่อมกับวงเบนซีน (benzene) ที่ตำแหน่ง 1,3 หรือ 1,4 เกิดเป็นวงขนาด 13,14 และ 15 atomcyclopeptide alkaloid พบได้ในพืชวงศ์ Rhamnaceae และพืชวงศ์อื่นๆ โดยพบได้ในส่วนใบ เปลือกต้น เปลือกรากและเมล็ด ปกติจะพบเพียงเล็กน้อยในลักษณะของผสมที่เชิงซ้อนปริมาณของ Cyclopeptide alkaloid ที่พบ อยู่ระหว่าง 0.01-1% ของน้ำหนักพืชที่แห้งซึ่งขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ท้องถิ่นที่พืชเจริญเติบโต ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ความอ่อน-แก่ของพืชที่ใช้ รวมถึงวิธีการแยกสาร

โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid (รูปที่ 2.1) ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid

1. Basic terminal (end) amino acid (ส่วนย่อย A)
2. β-hydroxy-amino acid (ส่วนย่อย B)
3. Ring-bound amino acid (ส่วนย่อย C)
4. Hydroxy-styrylamine unit (ส่วนย่อย D)

ในบางชนิดมี amino acid เพิ่มขึ้น (ส่วนย่อย E) ระหว่างส่วนย่อย A และ B

สารประกอบ Cyclopeptide alkaloid สามารถจำแนกตามขนาดของวงเป็นประเภท 13,14 – และ 15 –membered ring system และยังอาจจำแนกตามจำนวนของหน่วยย่อยที่มีคือ4 หรือ 5 หน่วยย่อย เช่น 4 (15) cyclopeptide alkaloid คือ Cyclopeptide alkaloid ที่มีวงขนาด 15 อะตอม และประกอบด้วย 4 ส่วนย่อย คือส่วนย่อย A B C และ D

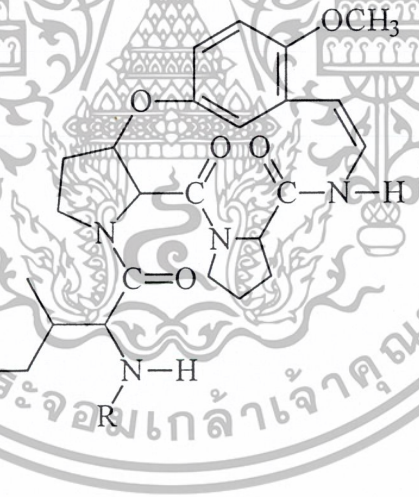
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเภทของ Cyclopeptide alkaloid ที่พบใน *Zizyphus oenoplia* สามารถจำแนกได้ดังนี้

1) 5(13) cyclopeptide alkaloid คือ Cyclopeptide alkaloid ที่เป็นวงขนาด 13 อะตอม และมี 5 ส่วนย่อย ได้แก่ Zizyphine-A (1a) , Zizyphine-B (1b), Zizyphine-c (1c), Zizyphine-F (2), Zizphine-l (3) และ Zizphine-K (4)
2) 4(14) cyclopeptide alkaloid คือ Cyclopeptide alkaloid ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงขนาด 14 อะตอม และประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย ได้แก่ Abyssinine –A (9a), Abyssinine-B (9b) และ Zizyphine-D (10a) และ Zizyphine-E (10b)
3) 4(15) cyclopeptide alkaloid ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงขนาด 15 อะตอม และประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย ได้แก่ Abyssinine-A (9a),Abyssinine-B (9b) และ Zizyphine-D (10a) และ Zizyphine-E (10b)

Cyclopeptide alkaloids ที่พบใน Zizyphus ในต่างสปีชีส์ อาทิเช่น *Zizyphus oenoplia*

13-membered ring



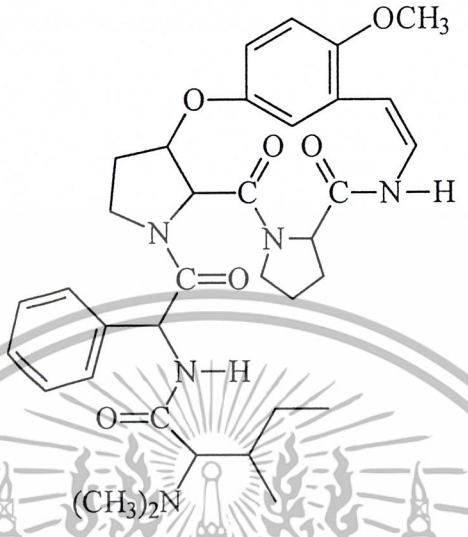
รูปที่ 2.2 โครงสร้างหลักของ13-membered ring

หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

Zizyphine-A or Zizyphine(1a)	มีหมู่ R เป็น N,N-dimethyl-lle	มาจากส่วนเปลือกราก
Zizyphine-B or Zizyphine	มีหมู่ R เป็น N-methyl-lle	มาจากส่วนเปลือกราก
or N-desmthyl-zizyphine-A(1b)		มาจากส่วนของเปลือกต้น
Zizyphine-C	มีหมู่ R เป็น N,N-dimethyl-phe	มาจากส่วนของเปลือกต้น

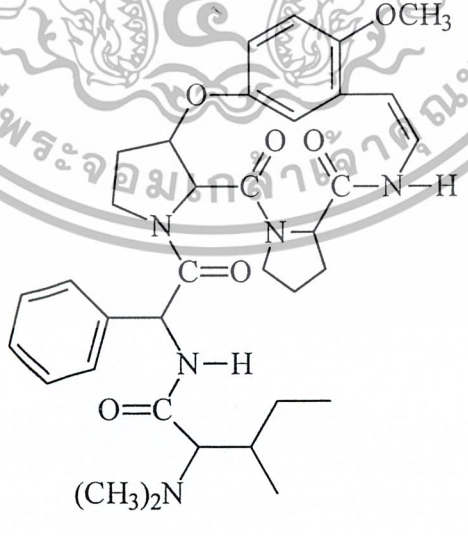
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zizyphine-F or *O*-desmethyl- zizyphine-A (2) มาจากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-F or *O*-desmethyl- zizyphine-A (2)

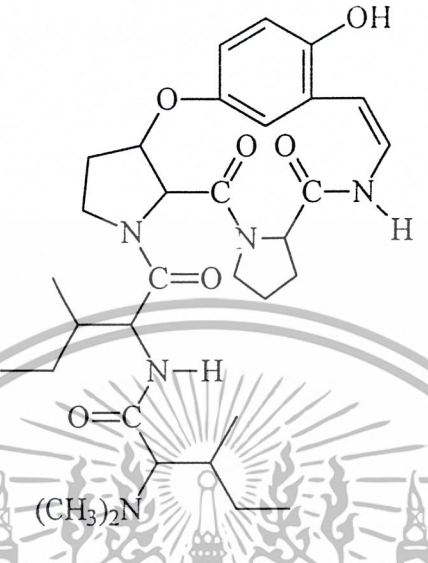
zizyphine-I (3) มาจากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-I (3)

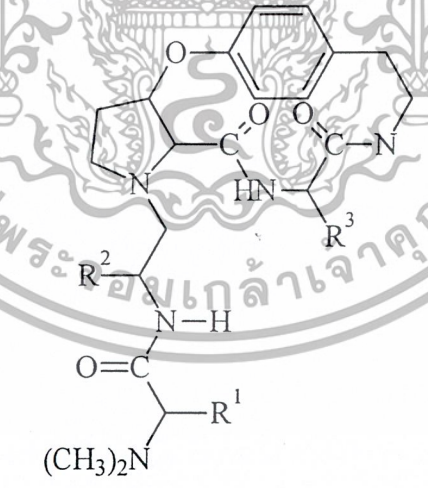
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

zizyphine-K (4) มาจากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.5 สูตร โครงสร้างของ Zizyphine-K (4)

14-membered ring



รูปที่ 2.6 โครงสร้างหลัก 14-membered ring

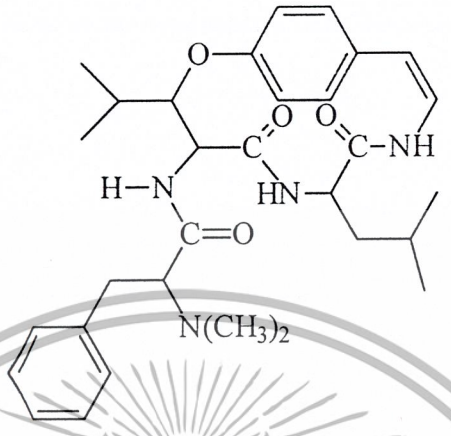
หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

Amphibine-B (5) มีหมู่ R เป็น R^1=R^3 CH_2Ph, R^2=CH2Ph มาจากส่วนเปลือกราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

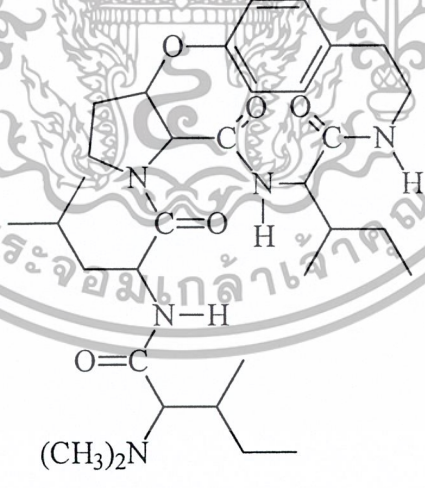
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Frangufoline (6) มาจากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของ Frangufoline (6)

Mauritine-D (7) มาจากส่วนเปลือกราก

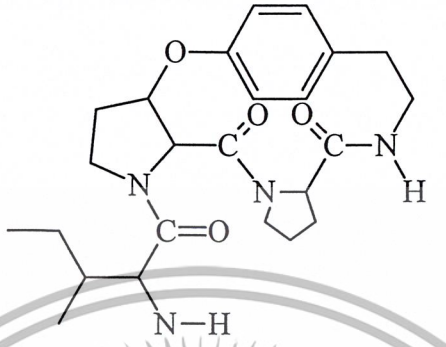


รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของ Mauritine-D (7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

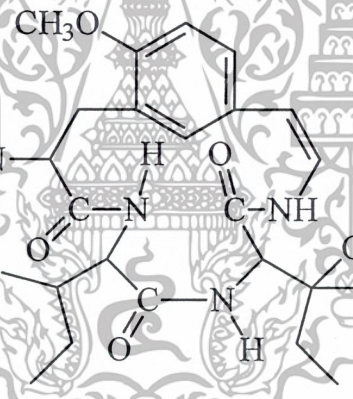
49282

Zizyphine-G มาจากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.9 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-G

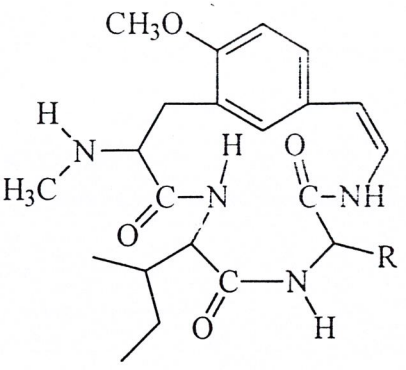
15-membered ring



รูปที่ 2.10 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Zizyphine-D

Zizyphine-D (9a)	มีหมู่ R เป็น CH_3	จากส่วนเปลือกราก
Zizyphine-E or *N*-desmethyl-zizyphine-D Zizyphine-D (9b)	มีหมู่ R เป็น H	จากส่วนเปลือกราก

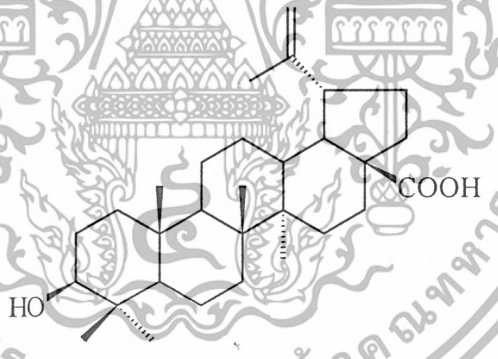
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



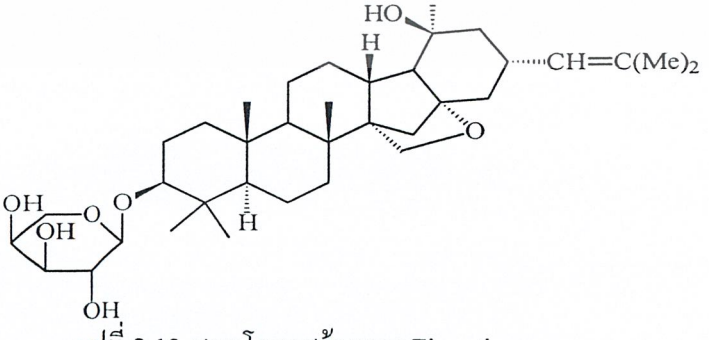
รูปที่ 2.11 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Abyssinine

Abyssinine-A or *N*-desmethyl-mucronine-C (10a)มีหมู่ R เป็น R=*s*-buthyl มาจากส่วนเปลือกราก
Abyssinine-B(10b) มีหมู่ R เป็น R=*i*-buthyl มาจากส่วนเปลือกราก

สารประกอบ Triterpene ที่พบในพืชชนิดนี้คือ Betulinic acid (รูปที่ 2.12) โดยพบในส่วนเปลือกรากของ *Zizyphus oenoplia* และ Triterpenoid saponin คือ Zizyotin (รูปที่ 2.13) จาก ส่วนเปลือกต้นของ *Zizyphus oenoplia*



รูปที่ 2.12 สูตรโครงสร้างของ Betulinic acid



รูปที่ 2.13 สูตรโครงสร้างของ Zizyotin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

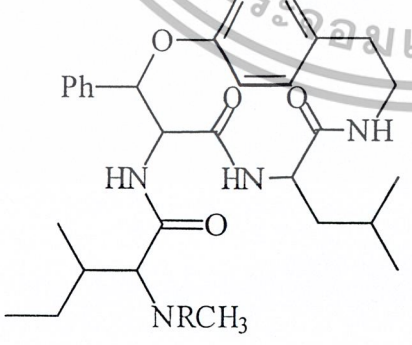
ผลงานวิจัยของ R. Tscchesche, M. Elgamal, G. A. Miana และ G. Eckhardt

อัลคาลอยด์ที่ได้จากจากต้นไม้วงศ์ Rhamnaceae-XXVI

นัมมูลารีนดี (Nummularine –D), นัมมูลารีนอี (Nummularine-E) และ นัมมูลารีนเอฟ (Nummularine-F) อัลคาลอยด์ตัวใหม่ที่เป็นวงเปปไทด์

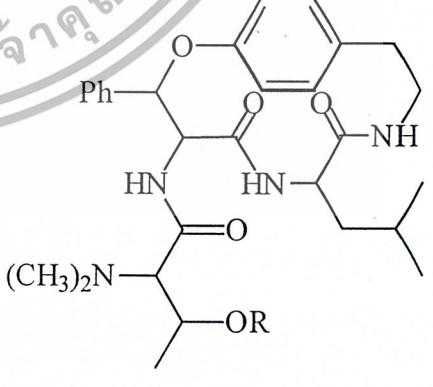
ที่สกัดได้จาก Genus : Zizyphus, Species : Nummularia

กลุ่มนักวิจัยได้มีการอธิบายถึงการแยกอัลคาลอยด์และลักษณะของอัลคาลอยด์ 5 ชนิด ซึ่งแต่ละตัวมี 13 เหลี่ยม (นัมมูลาเรียเอ บี ซี : Nummularia-A, B, C แอมพิบีนเอช : Amphibine-H และ มูโครนีนดี : Mucronine-D) จากเปลือกรวกของ *Zizyphus Nummularia* จากการแยกโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ในตอนสุดท้ายได้องค์ประกอบที่เหมือนกันมากกว่า 9 องค์ประกอบ องค์ประกอบหลักๆ 7 องค์ประกอบ ได้ตรวจสอบและพบว่าประกอบไปด้วยอัลคาลอยด์ 14 เหลี่ยม ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ที่มีพันธะเปปไทด์ สารประกอบสี่ชนิดได้ถูกพิสูจน์ว่าเป็นฟรานกูโฟลีน (Frangufoline) แอมพิบีนเอ (Amphibine-A) อินทีเกอเรนีน (Integerrenine) และมายูริทีน (Mauritine-F) สารประกอบอีกสามชนิดที่เหลือเป็นสารอัลคาลอยด์ ที่ยังไม่เคยถูกค้นพบมาก่อน ได้แก่ อัลคาลอยด์ 1, 3 และ 5 ดังแสดงโครงสร้างดังรูป



1 : R = H
2 : R = $COCH_3$

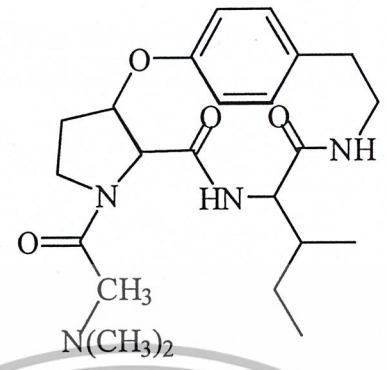
Nummularine –D



3 : R = H
4 : R = $COCH_3$

Nummularine –E

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



5

Nummularine –F

รูปที่ 2.14 สูตรโครงสร้างของ Nummularine –D, Nummularine –E และ Nummularine –F

จากการวิเคราะห์โครงสร้างพบว่าสาร 1, 3 และ 5 คือ นัมมูลารีนดี (Nummularine-D หรือ N-desmethyl-integerrenine) นัมมูลารีนอี (Nummularine-E) และนัมมูลารีนเอฟ (Nummularine-F) ตามลำดับ ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางเภสัชวิทยาพบว่าอัลคาลอยด์ทั้งสามตัวมีสมบัติในการเป็นสารต่อต้านเชื้อมาลาเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี

1. เมทานอล (Methanol)
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
3. อะซิโตน (Acetone)
4. เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate)
5. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)
6. น้ำกลั่น
7. ซิลิกาเจล CARLO ERBA (No. 483337)
8. แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องบดสาร (Grinding Machine)
2. ขวดรูปชมพู่
3. แท่งแก้วคน
4. กระบอกตวง
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
6. บีกเกอร์
7. ขวดก้นกลม
8. หลอดทดลอง
9. ขวดเก็บสาร (Vial)
10. หลอดหยด
11. ช้อนตักสาร
12. กรวยกรอง
13. กระดาษกรอง
14. คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 cm. ยาว 62 cm.
15. คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm. ยาว 62 cm.
16. Aluminium Foil
17. ขาตั้ง (Stand) และตัวจับ (Clamp)
18. Magnetic Stirror/Heat
19. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
20. ชุดปั๊ม
21. TLC Tank
22. TLC Plate
23. แผ่นกระจก
24. UV Lamp
25. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance ความถี่ 300 Hz รุ่น Advance DPX ยี่ห้อ BRUKER

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนการวิจัย

1. นำตัวอย่างของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (จากร้านเจ้ากรมเป๋อ) มาบดให้ละเอียดและตากให้แห้ง
2. นำนำส่วนที่ได้จากข้อ 1 มาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลเป็นเวลา 2 วัน โดยควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 45 องศาเซลเซียส
3. กรองแยกส่วนที่เป็นกากและชั้นตัวทำละลาย โดยทำการกรองสองครั้ง
4. นำชั้นตัวทำละลายมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศจะเรียกส่วนนี้ว่าสารสกัดหยาบ
5. นำกากที่ได้มากสัดอีกสองครั้งโดยทำตามข้อ 2-3 เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบทั้งหมดมา
6. ทำการหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) ที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ในชั้นตัวทำละลาย ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography)
8. แยกสารให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography)
9. วิเคราะห์หาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง

<u>การเตรียม Crude Extract ในชั้นตัวทำละลายเมทานอล</u>

1. นำเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งแห้งมาบดให้ละเอียดแช่ในเมทานอลที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน
2. ค่อยๆรินกรองเอาสารสกัดออก โดยรินผ่านกระดาษกรอง ทำการกรอง 2 ครั้ง
3. ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศวิธีนี้จะเป็นการระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันจนเกือบเป็นสุญญากาศ
4. ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1-3 อีกสองครั้ง เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบทั้งหมดออกมา

<u>การระเหยตัวทำละลาย</u>

1. นำสารสกัดที่ต้องการระเหยตัวทำละลายใส่ลงใน Pear Shape ประมาณ 1/3 ของขวด
2. นำไปติดตั้งกับเครื่องระเหยสุญญากาศโดยตั้งอุณหภูมิที่ 30-40 องศาเซลเซียส
3. เมื่อระเหยตัวทำละลายออกไปแล้วใน Pear Shape จะเหลือแต่สารที่สกัดที่เราต้องการเท่านั้น ถ้าสารสกัดที่เราต้องการระเหยยังเหลือให้ทำเหมือนเดิมโดยใส่ใน Pear Shape ใบเดิม และเมื่อหมดแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณ%ผลผลิตสารที่ได้ออกมา และทำการเก็บสารที่ได้

<u>การหาระบบตัวทำละลาย (Solvent System) ที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ชั้นต่างๆเพื่อนำไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)</u>

1. นำ crude extract จากชั้นเมทานอลมาใส่ขวดเก็บสาร (vial) แล้วละลายด้วยเมทานอล
2. สารส่วนใหญ่ที่ละลายอยู่ในชั้นนี้จะเป็นพวกที่มีขั้ว ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วมากกว่า ในที่นี้จะเลือกเมทานอล (มีขั้ว) กับเอททิลอะซีเตต (มีขั้วต่ำกว่า) เทียบอัตราส่วนเพื่อหาระบบของตัวทำละลายที่เหมาะสม
3. ตัดแผ่น TLC ขนาด 2 x 5 cm ทำการจุดสารสกัดที่ทำการละลายแล้ว ลงบนแผ่น 2 จุด โดยแต่ละจุดมีความเข้มต่างกัน
4. เตรียม TLC tank โดยมีกระดาษกรองวางข้างใน TLC tank และเตรียมแผ่นกระจกไว้ปิด
5. ทดสอบอัตราส่วนของสารละลายที่ค่าต่างๆ โดยเริ่มจากสารละลายในอัตราส่วน 1:1 แล้วจึงลดหรือเพิ่มสารละลายชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับการแยกสารในสารสกัดบนแผ่น TLC
6. จุ่มแผ่น TLC ที่เตรียมได้ลงแทงก์ (tank) ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ไปถึงระดับ solvent front ที่กำหนดไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ดูผลการทดลองที่เกิดขึ้นว่าสารที่แยกได้เป็นอย่างไร ถ้าสามารถแยกได้เป็นจุดๆชัดเจน แสดงว่าอัตราส่วนที่ผสมใน TLC tank เป็นระบบตัวทำละลายที่เราต้องการ แต่ถ้ายังไม่แยกเป็นจุดๆชัดเจน ให้ทำการเพิ่มหรือลดปริมาณตัวทำละลายนั้นๆ
8. นำแผ่น TLC ไปทดสอบการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
9. นำแผ่น TLC ไปย้อมด้วย developing solvent โดยวางแผ่น TLC ลงบนกระจก นำสำลีชุบ developing solvent ป้ายให้ทั่วแผ่น จากนั้นนำไปอุ่นบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของจุดที่เกิดขึ้น
10. ใช้ระบบตัวทำละลายที่หาได้ไปใช้ในการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

<u>การแยกสารที่อยู่ในชั้นต่างๆ โดยเทคนิค คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column chromatography)</u>

1. เตรียมคอลัมน์ (column) ใช้ ขาตั้ง (stand) และตัวจับ (clamp) จับคอลัมน์ให้ตั้งฉากกับพื้น
8. ทำการบรรจุคอลัมน์โดยใช้ ซิลิกาเจล Carlo ERBA (No. 483337)
2. ชั่งซิลิกาเจล 60 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ แล้วใช้ระบบตัวทำละลายผสมซิลิกาเจลคนให้เข้ากัน
3. ใช้สำลีอุดคอลัมน์โดยหยดสารละลายให้ชุ่มสำลี
4. เทซิลิกาเจลที่ผสมสารละลายแล้วลงคอลัมน์แล้วปรับผิวหน้าของซิลิกาเจลให้เรียบโดยเคาะข้างๆคอลัมน์เบาๆ โดยไม่ให้มีรอยแตกหรือฟองอากาศอยู่
5. ป้องกันผิวซิลิกาเจลให้เรียบอยู่เสมอ โดยการใส่ anhydrous $MgSO_4$ ลงในคอลัมน์
6. เตรียมสารสกัดหยาบในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลายเล็กน้อยแล้วผสมกับซิลิกาเจลคนให้เข้ากัน แล้วระเหยสารละลายออกไป จากนั้นใส่สารสกัดหยาบที่ผสมกับซิลิกาเจลลงคอลัมน์โดยไม่ต้องทำการกลั้วขวดก้นกลม
7. ล้างข้างคอลัมน์ให้สะอาด โดยให้เหลือสารละลายอยู่เหนือสารสกัดหยาบให้น้อยที่สุด
8. จากนั้นใส่สารละลายเข้าไป เพื่อให้ได้สารที่ต้องการออกจากคอลัมน์แล้วเก็บสารละลายที่ออกจากคอลัมน์ด้วยขวดแก้วประมาณครึ่งขวดพร้อมจดหมายเลขที่ใช้ตามลำดับ
9. ทำการตรวจสอบสารในแต่ละขวดที่ออกจากคอลัมน์ด้วย TLC โดยเทียบกับสารสกัดหยาบถ้าสารที่เราต้องการยังไม่ออกมา อาจจะต้องเพิ่มความมีขั้วของสารละลาย
10. เมื่อพบว่าสารที่ต้องการแยกออกมาแล้ว ทำการจดบันทึกว่าเริ่มแยกออกจากขวดที่เท่าไหร่และจำนวนเท่าใด
11. รวมสารที่มีอยู่ในขวดเทลงในขวดก้นกลม แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออก
12. เมื่อได้สารบริสุทธิ์อยู่ในขวดก้นกลม ทำการชั่งแล้วจดน้ำหนักสารที่ได้ออกมาและเก็บในตู้เย็นเพื่อทำการตรวจสอบและวิเคราะห์หาโครงสร้างสารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์โครงสร้างสารที่แยกได้

การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ จะทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี ใช้ ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy เพื่อหาโครงสร้างของสารนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลการสกัดเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบ (Crude Extract)ในชั้นตัวทำละลายเมทานอล

ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัด	% Conversion
เมทานอล	5.0 kg	215.75 g	4.315

4.2 ผลการศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการแยกส่วนย่อยทางเคมีจากชั้นตัวทำละลายเมทานอลด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีเพื่อนำไปใช้แยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

4.2.1 ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของสารสกัดชั้นเมทานอล

เมื่อนำสารสกัดจากชั้นเมทานอลมาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของสารสกัดชั้นเมทานอลแสดงได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยของสารสกัดชั้นตัวทำละลายเมทานอล

สารสกัดชั้นตัวทำละลาย	ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม
เมทานอล	5 % MeOH : 95 % EtOAc (10 ml)

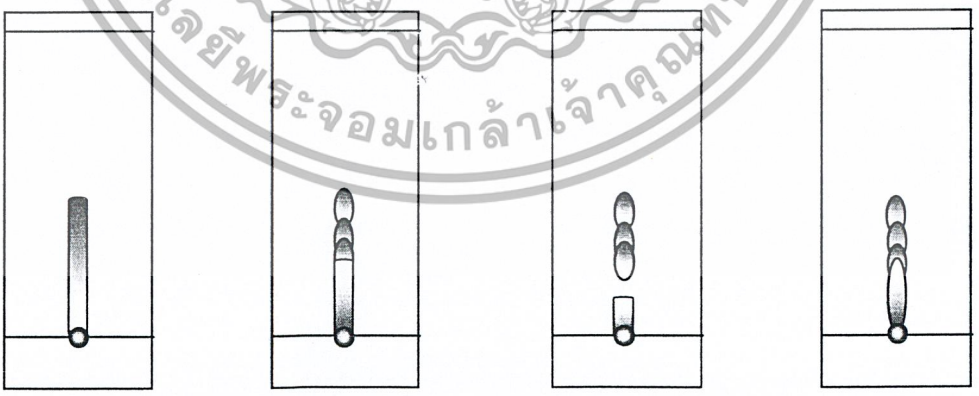
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการแยกด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจาราณาการแยกของส่วนย่อยในสารสกัดด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยสังเกตจากตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการแยกสารสกัดด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารสกัดชั้นตัวทำละลายเมทานอล	
การทดสอบ	ผลการสังเกต
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็นแถบสีน้ำตาลจางๆ
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	เห็นจุดตรงปลายขึ้น 3 จุด และปรากฏเป็น tail
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	จุดสีน้ำตาลตรงด้านบน แต่ไม่ปรากฏเป็น tail
ทดสอบด้วย Developing reagent	เห็นจุดสีน้ำตาลตรงด้านบนขึ้น 3 จุด และปรากฏเป็น tail



1) 2) 3) 4)

ภาพที่ 4.1 แสดงการแยกของส่วนย่อยของสารสกัดด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี

1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า **2)** ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร **4)** ทดสอบด้วย Developing reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการแยกส่วนย่อยจากสารสกัดในชั้นเมทานอล (Crude MeOH Extract) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Crude MeOH Extract : น้ำหนัก 20.01 g

Column : เส้นผ่าศูนย์กลาง 4 cm., ยาว 65 cm.

Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 800 g

Eluent system : เอทิลอะซิเตท (EtOAc) เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล(MeOH)

ตารางที่ 4.4 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยกสารสกัดชั้นเมทานอล

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 20 ml)
100 % EtOAc	1-37
1 % MeOH : 99 % EtOAc	38-83
3 % MeOH : 97 % EtOAc	84-98
5 % MeOH : 95 % EtOAc	99-115
10 % MeOH : 90 % EtOAc	116-126
20 % MeOH : 80 % EtOAc	127-135
30 % MeOH : 70 % EtOAc	136-145
40 % MeOH : 60 % EtOAc	146-156
50 % MeOH : 50 % EtOAc	157-169

หมายเหตุ หลังจากนี้เกิดการแห้งของตัวดูดซับคอลัมน์ เนื่องจากก๊อกปิดเปิดรั่วจึงมิได้เก็บต่อ

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี แล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีเหมือนกันและสีของสารเหมือนกันได้ 12 fraction ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

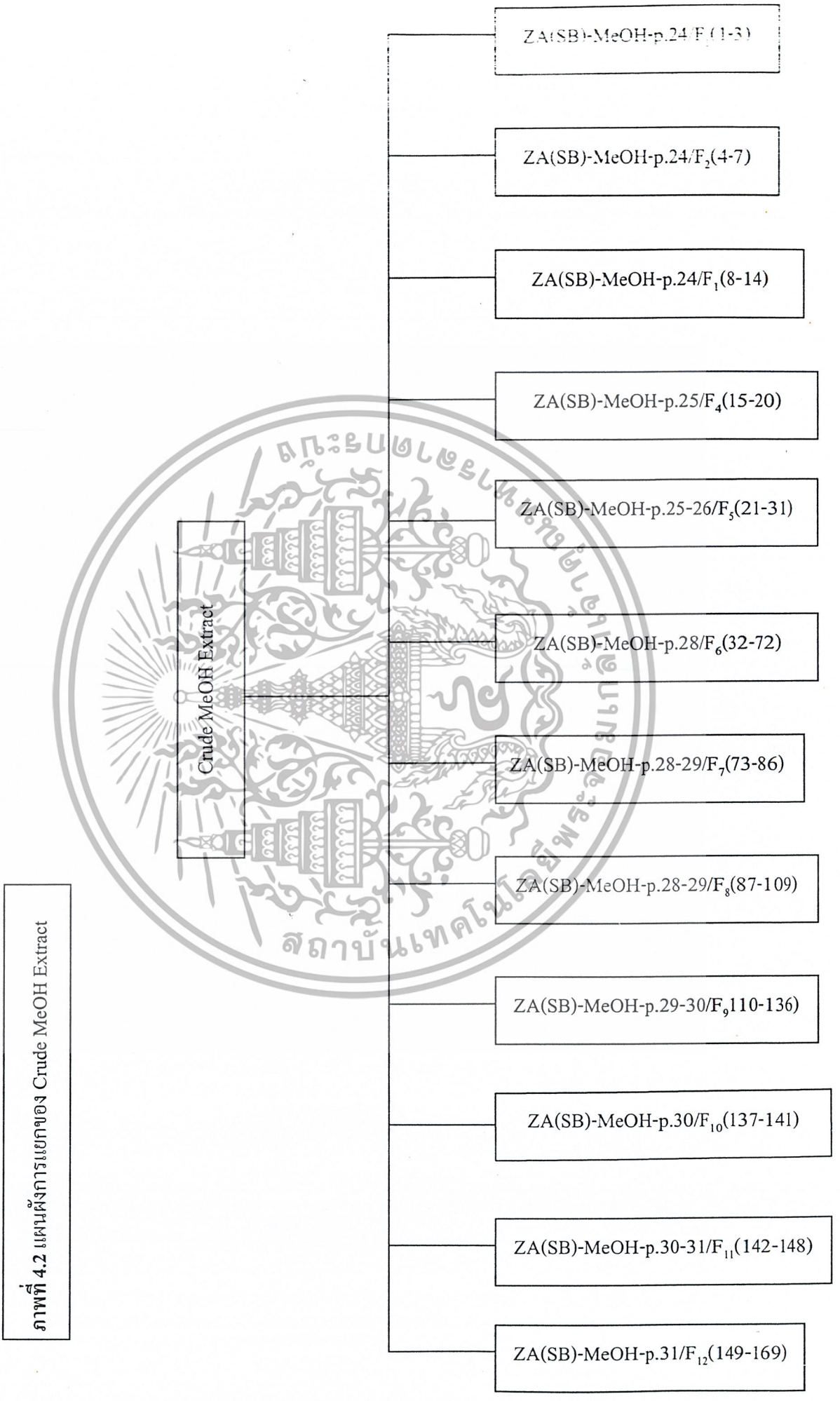
ตารางที่ 4.5 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของสารสกัด(Crude Extract)ในชั้นเมทานอล

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	1-3	ZA(SB)-MeOH-p.24/F_1(1-3)	12.4 mg	ของแข็งสีเหลืองส้ม
2	4-7	ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)	0.34	ของแข็งสีเหลือง
3	8-14	ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14)	0.99	ของแข็งสีน้ำตาลส้ม
4	15-20	ZA(SB)-MeOH-p.25/F_4(15-20)	0.14	ของแข็งสีน้ำตาล
5	21-31	ZA(SB)-MeOH-p.25-26/F_5(21-31)	97.7 mg	ของแข็งสีน้ำตาลออกแดง
6*	32-72	ZA(SB)-MeOH-p.26-27/F_6(32-72)	0.28	สารละลายสีน้ำตาลและมีตะกอนนอนก้น
7*	73-86	ZA(SB)-MeOH-p.28/F_7(73-86)	75.8 mg	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
8*	87-109	ZA(SB)-MeOH-p.28-29/F_8(87-109)	72.6 mg	ของแข็งสีน้ำตาล
9*	110-136	ZA(SB)-MeOH-p.29-30/F_9(110-136)	2.1 mg	ของแข็งสีส้ม
10*	137-141	ZA(SB)-MeOH-p.30/F_{10}(137-141)	58.9 mg	ของแข็งสีน้ำตาลเหลือง
11*	142-148	ZA(SB)-MeOH-p.30-31/F_{11}(142-148)	0.93	ของแข็งสีน้ำตาลเข้มออกแดง
12*	149-169	ZA(SB)-MeOH-p.31/F_{12}(149-169)	20.42	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

<u>หมายเหตุ</u> * เป็นการแยกส่วนย่อยตามลักษณะของสี effluent ที่เหมือนกัน

จากนั้นนำส่วนย่อยที่สนใจมาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ ในการแยกสารบริสุทธ์เราจะเลือกนำส่วนย่อยที่น่าสนใจมาทำการแยกต่อ กล่าวคือมีการตกผลึก หรือดูจากทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วสามารถแยกได้ง่าย และมีปริมาณสารอยู่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แผนผังการแยกของ Crude MeOH Extract

4.4 การทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification)

ในที่นี้จะนำ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) และ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) มาแยกต่อเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ เนื่องจากดูผลจากทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้ว

4.4.1 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจากZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์ โครมาโทกราฟี

ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)

เมื่อนำ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) มาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) แสดงได้ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)

สารสกัดขั้นเมทานอล	
รหัสสาร	ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม
ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)	5 % MeOH : 95 % EtOAc (10 ml)

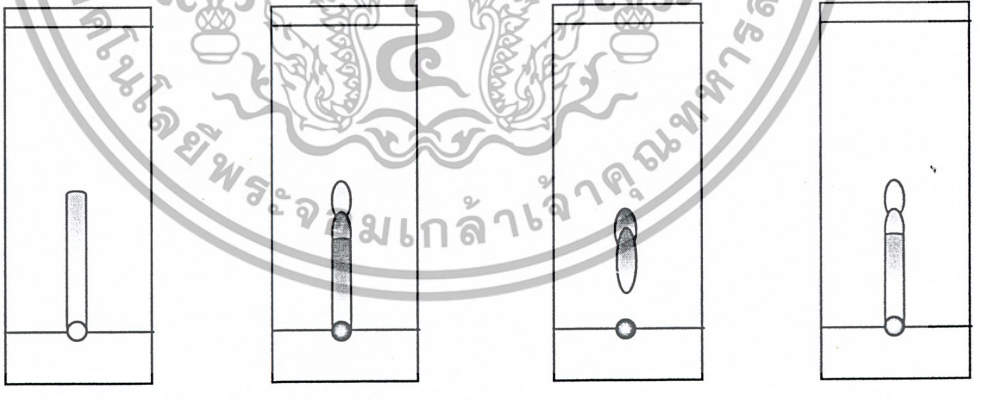
ผลการแยกด้วยตัวระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)

ทำการพิจาราณาการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยสังเกตจากตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารรหัส ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)	
การทดสอบ	**ผลการสังเกต**
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็น tail สีเหลือง
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	เป็น tail แต่สามารถมองเห็นตรงปลายแยกเป็น 3 จุดจางๆ
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	เห็นแถบตรงปลาย 2 จุดอย่างเดียว
ทดสอบด้วย Developing reagent	เป็น tail แต่สามารถมองเห็นตรงปลายแยกเป็น 3 จุด



1) **2)** **3)** **4)**

ภาพที่ 4.3 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี
1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า **2)** ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร **4)** ทดสอบด้วย Developing reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการแยกส่วนย่อย ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) : น้ำหนัก 0.34 g

Column : เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 cm., ยาว 62 cm.

Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 13.6 g

Eluent system : เอทิลอะซิเตท (EtOAc) เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล(MeOH)

ตารางที่ **4.8** แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
100% EtOAc	1-25
1% MeOH : 99% EtOAc	26-31
2% MeOH : 98% EtOAc	32-37
3% MeOH : 97% EtOAc	38-43
4% MeOH : 96% EtOAc	44-49
5% MeOH : 95% EtOAc	50-55

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีที่เหมือนกันได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	1-2	ZA(SB)-MeOH-p.36/F_1(1-2)	-	เป็นตัวทำละลายระเหยออกไปหมด
2	3-10	ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)	0.22	ของแข็งสีเหลืองเข้ม
3	11-18	ZA(SB)-MeOH-p.36/F_3(11-18)	15.9 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง

หมายเหตุ Effluent ขวดที่ 19-55 จากการตรวจสอบผลด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วไม่พบว่ามีสารออกมาซึ่งเป็นเพียงตัวทำละลายแล้วจึงไม่ได้ทำการรวม Effluent ดังกล่าวไว้

เมื่อทำการรวมส่วนย่อยที่แยกจาก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) ได้แล้ว จากนั้นนำส่วนย่อยที่สนใจมาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ โดยนำ ZA (SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) มาทำการแยกต่อ เนื่องจากดูจากทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วสามารถทำการแยกได้ง่าย

4.4.2 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)

เมื่อนำ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) มาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) แสดงได้ดังตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)

สารสกัดชั้นเมทานอล	
รหัสสาร	**ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม**
ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)	20 % CH_2Cl_2 : 80 % EtOAc (10 ml)

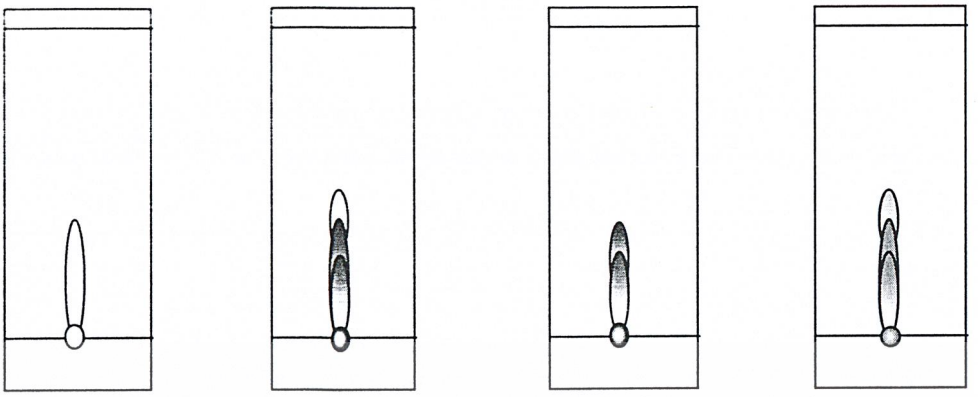
ผลการแยกด้วยระบบตัวละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจาราณาการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารรหัส ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)	
การทดสอบ	**ผลการสังเกต**
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็น tail สีเหลืองอ่อน
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	ยังเป็น tail อยู่ แต่ปรากฏจุดตรงปลาย 3 จุดชัดขึ้น
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	ปรากฏจุดตรงปลาย 2 จุดเท่านั้น
ทดสอบด้วย Developing reagent	เห็น tail และปรากฏจุด 3 จุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1) 2) 3) 4)

ภาพที่ 4.4 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี

1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า 2) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร 4) ทดสอบด้วย Developing reagent

ผลการแยกส่วนย่อย ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10) : น้ำหนัก 0.22 g

Column : เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm., ยาว 62 cm.

Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 8.8 g

Eluent system : ไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซีเตท (EtOAc)

ตารางที่ 4.12 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
50% EtOAc : 50% CH_2Cl_2	1-6
55% EtOAc : 45% CH_2Cl_2	7-11
60% EtOAc : 40% CH_2Cl_2	12-17
65% EtOAc : 35% CH_2Cl_2	18-22
70% EtOAc : 30% CH_2Cl_2	23-27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12(ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
75% EtOAc : 25% CH_2Cl_2	28-33
80% EtOAc : 20% CH_2Cl_2	34-38
85% EtOAc : 15% CH_2Cl_2	39-44
90% EtOAc : 10% CH_2Cl_2	45-49
95% EtOAc : 5% CH_2Cl_2	50-55

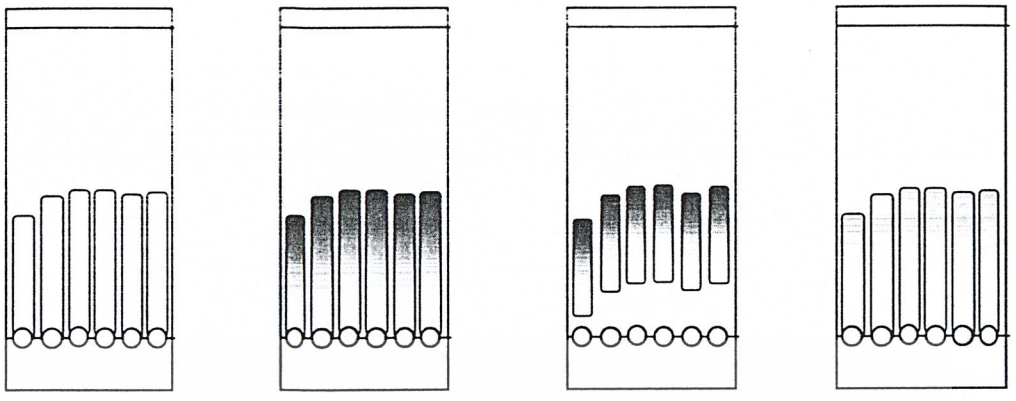
ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วย เทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีที่เหมือนกันได้ดังนี้

ตารางที่ 4.13 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(3-10)

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	1-10	ZA(SB)-MeOH-p.43/F_1(1-10)	22.0 mg	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
2	11-16	ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16)	0.06	ของแข็งสีเหลือง
3	17-22	ZA(SB)-MeOH-p.42-43/F_3(17-22)	22.8 mg	ของแข็งสีน้ำตาล
4	23-55	ZA(SB)-MeOH-p.43-44/F_4(23-55)	9.2 mg	ของแข็งสีน้ำตาลส้ม

เมื่อดูจากเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) แล้วค่อนข้างที่จะบริสุทธิ์จึงนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างด้วย เทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR ซึ่งทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี ของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) แสดงดังภาพที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1) 2) 3) 4)

ภาพที่ 4.5 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า 2) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร 4) ทดสอบด้วย Developing reagent

ตารางที่ 4.14 แสดงน้ำหนัก และ R_f ของสารบริสุทธิ์

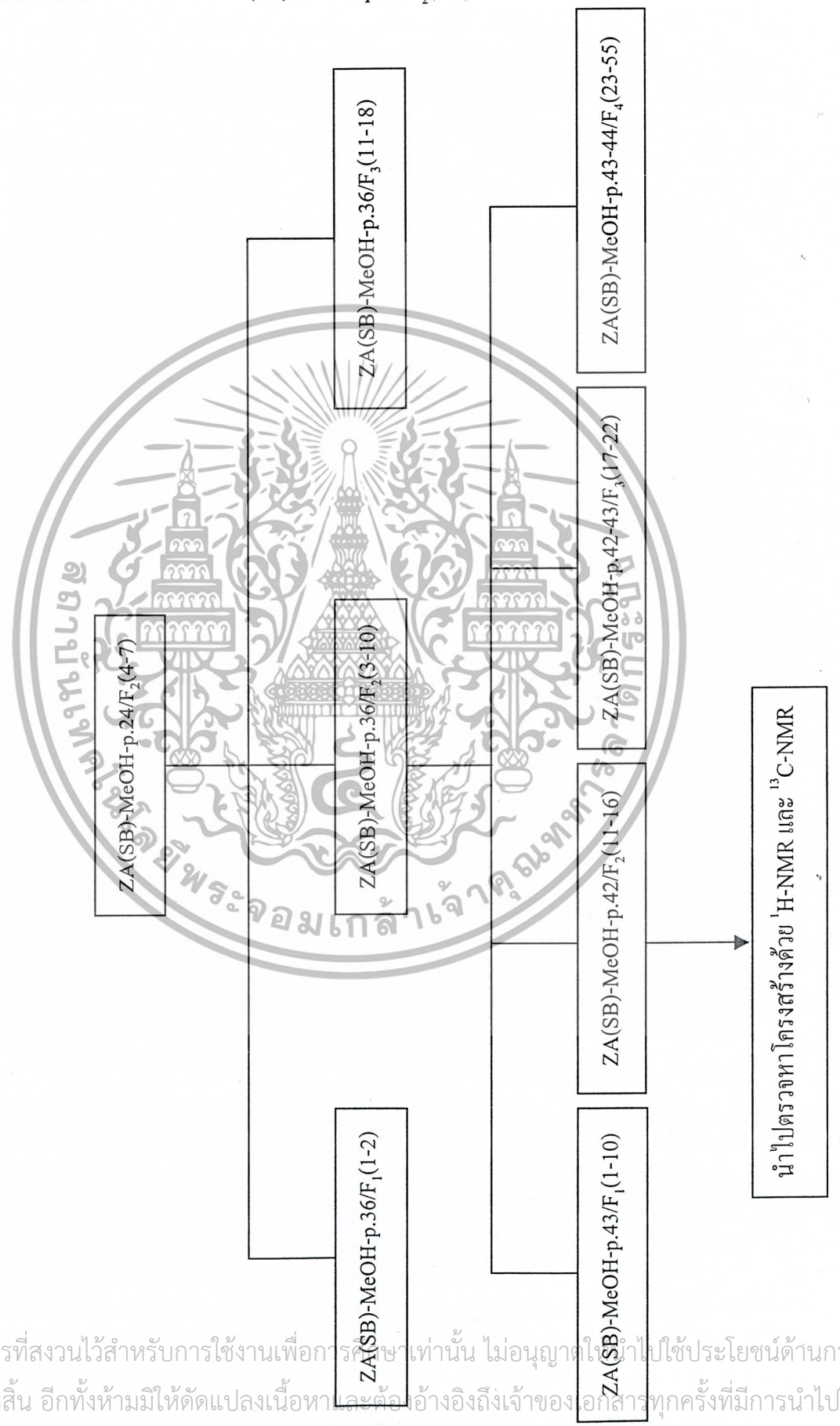
รหัสสาร	น้ำหนัก (g)	%Conversion เทียบกับสาร*สกัดหยาบ	%Conversion เทียบกับตัวอย่างพืช	R_f**
ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16)	0.06	0.2998 %	0.0278 %	0.3529

* สารสกัดหยาบ หนัก 20.01 g

** ระบบตัวทำละลายคือ 95 % EtOAc : 5 % CH_2Cl_2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.6 แผนผังการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 ผลการแยกส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี และการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(8-14)

เมื่อนำ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) มาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) แสดงได้ดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14)

สารสกัดชั้นเมทานอล	
รหัสสาร	**ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม**
ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14)	5 % MeOH : 95 % EtOAc (10 ml)

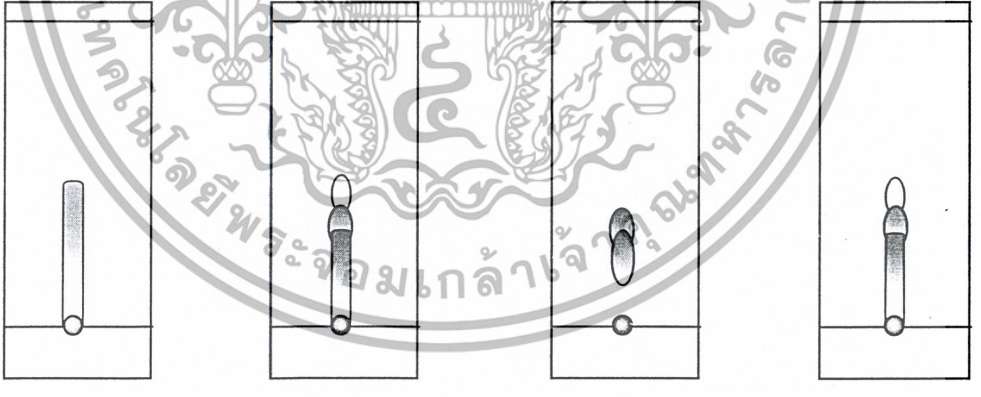
ผลการแยกด้วยตัวระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจารณาการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยสังเกตจากตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารรหัส ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14)	
การทดสอบ	**ผลการสังเกต**
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็น tail สีน้ำตาลจางๆ
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	เป็น tail และเห็นตรงปลาย 3 จุด
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	เห็นตรงปลาย 2 จุด ไม่ปรากฏ tail
ทดสอบด้วย Developing reagent	เห็นสีของจุด 3 จุด และเป็น tail



1) **2)** **3)** **4)**

ภาพที่ 4.7 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี
1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า **2)** ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร **4)** ทดสอบด้วย Developing reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการแยกส่วนย่อย ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ZA(SB)-MeOH-p.36/F_2(8-14) : น้ำหนัก 0.99 g

Column : เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm., ยาว 6.2 cm.

Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 40 g

Eluent system : เอธิลอะซีเตท (EtOAc)เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล (MeOH)

ตารางที่ 4.17 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ในชั้นเมทานอล

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
100% EtOAc	1-18
1% MeOH : 99% EtOAc	19-28
2% MeOH : 98% EtOAc	29-40
3% MeOH : 97% EtOAc	41-51
5% MeOH : 95% EtOAc	52-62
10% MeOH : 90% EtOAc	63-73
20% MeOH : 80% EtOAc	74-84
25% MeOH : 75% EtOAc	85-129
30% MeOH : 70% EtOAc	130-140
40% MeOH : 60% EtOAc	141-151
50% MeOH : 50% EtOAc	152-170

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี แล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีที่เหมือนกันได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14)

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	1-12	ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)	0.50	ของแข็งสีน้ำตาล
2	13-73	ZA(SB)-MeOH-p.53-57/F_2(13-73)	95.8 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
3	74-170	ZA(SB)-MeOH-p.57-60/F_3(74-170)	1.82	ของแข็งสีน้ำตาล

เมื่อทำการรวมส่วนย่อยที่แยกจาก ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ได้แล้ว จากนั้นนำส่วนย่อยที่สนใจมาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ โดยนำ ZA (SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) มาทำการแยกต่อ

4.4.4 ผลการส่วนย่อยทางเคมีจาก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

เลือกนำส่วนย่อยที่สนใจคือ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) มาทำการแยกต่อเพราะดูผลจากทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี มีสารที่ใกล้จะบริสุทธิ์แล้ว

<u>ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)</u>

เมื่อนำ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) มาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) แสดงได้ดังตารางที่ 4.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)

สารสกัดชั้นเมทานอล	
รหัสสาร	**ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม**
ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)	4 % MeOH : 96% EtOAc (10 ml)

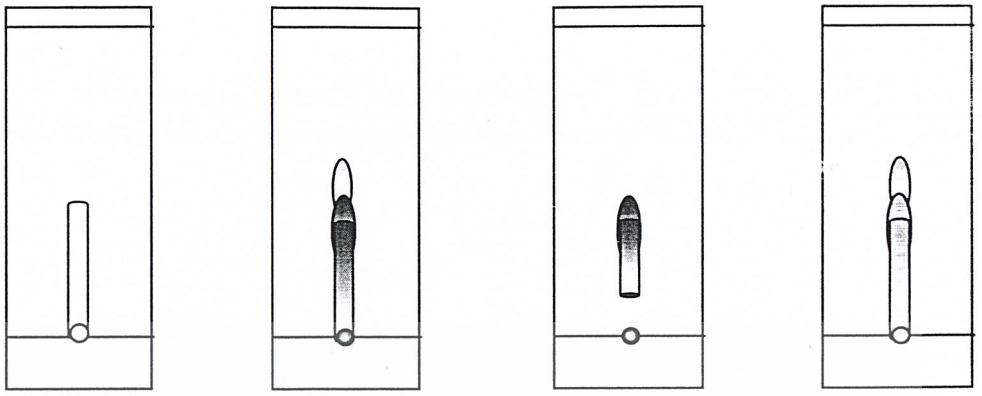
ผลการแยกด้วยระบบตัวละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจาราณาการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยสังเกตจากตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.20 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารรหัส ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)	
การทดสอบ	**ผลการสังเกต**
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็น tail สีเหลืองจางๆ
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	เป็น tail และปรากฏจุดตรงปลาย 3 จุด
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	เป็น tail และปรากฏจุดตรงปลาย 2 จุด
ทดสอบด้วย Developing reagent	เป็น tail และปรากฏจุดตรงปลาย 2 จุดสีน้ำตาล อีกจุดสีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี
1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า 2) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร 4) ทดสอบด้วย Developing reagent

ผลการแยกส่วนย่อย ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) : น้ำหนัก 0.50 g
Column : เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm., ยาว 62 cm.
Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 20 g
Eluent system : เอธิลอะซีเตท (EtOAc)เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล (MeOH)

ตารางที่ 4.21 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
100% EtOAc	1-25
1% MeOH : 99% EtOAc	26-36
2% MeOH : 98% EtOAc	37-42
4% MeOH : 96% EtOAc	43-47
6% MeOH : 94% EtOAc	48-53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.21(ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
8% MeOH : 92% EtOAc	54-75
10% MeOH : 90% EtOAc	76-80
12% MeOH : 88% EtOAc	81-86
15% MeOH : 85% EtOAc	87-97

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี แล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีที่เหมือนกันได้ดังนี้

ตารางที่ 4.22 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12)

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	2-8	ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)	0.35	ของแข็งสีน้ำตาล
2	9-16	ZA(SB)-MeOH-p.72/F_2(9-16)	99.1 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
3	17-30	ZA(SB)-MeOH-p.72/F_3(17-30)	40.0 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
4	31-60	ZA(SB)-MeOH-p.74-75/F_4(31-60)	25.2 mg	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
5	61-97	ZA(SB)-MeOH-p.77-78/F_5(61-97)	40.4 mg	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

เมื่อทำการรวมส่วนย่อยที่แยกจาก ZA(SB)-MeOH-p.53/F_1(1-12) ได้แล้ว จากนั้นนำส่วนย่อยที่สนใจมาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ โดยนำ ZA (SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) มาทำการแยกต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.5 ผลการส่วนย่อยทางเคมีจากZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)ด้วยการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยเทคนิคเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีและการแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)

เมื่อนำ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) มาทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนย่อยทางเคมีของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) แสดงได้ดังตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)

สารสกัดชั้นเมทานอล	
รหัสสาร	ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม
ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)	5 % CH_2Cl_2 : 95 % EtOAc (10 ml)

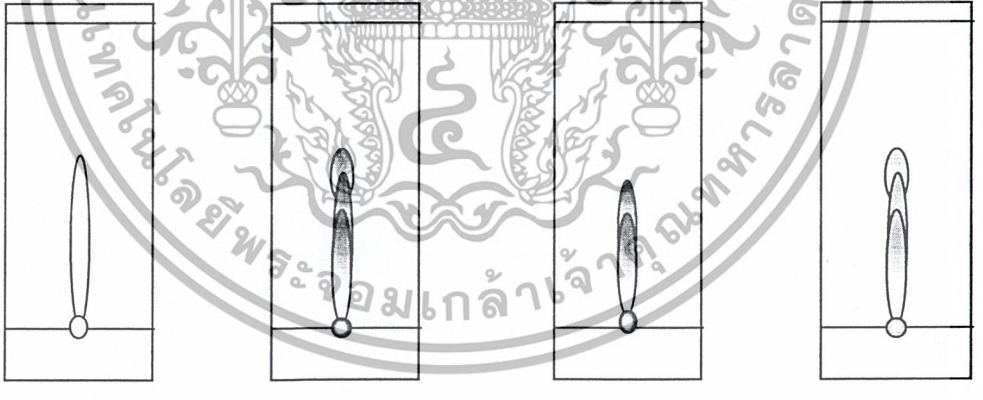
ผลการแยกด้วยตัวระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจาราณาการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วย โดยสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing reagent ได้ผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 แสดงผลการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย Developing reagent

สารรหัส ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)	
การทดสอบ	**ผลการสังเกต**
สังเกตด้วยตาเปล่า	เป็น tail เหลืองจางๆ
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	เป็น tail แต่สามารถสังเกตเห็นจุดตรงปลาย 3 จุด
ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร	เป็น tail และปรากฏจุดตรงปลาย 2 จุด
ทดสอบด้วย Developing reagent	เห็นสีของจุด 3 จุด และเป็น tail



1) 2) 3) 4)

ภาพที่ 4.9 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี
1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า **2)** ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร **4)** ทดสอบด้วย Developing reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการแยกส่วนย่อย ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8) : น้ำหนัก 0.35 g

Column : เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm., ยาว 62 cm.

Stationary Phase : Silica gel ของ CARLO ERBA (NO. 453337), 14 g

Eluent system : ไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอธิลอะซีเตท (EtOAc)

ตารางที่ 4.25 แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
100% CH_2Cl_2	1-3
10% EtOAc : 90% CH_2Cl_2	4-14
12% EtOAc : 88% CH_2Cl_2	15-20
15% EtOAc : 85% CH_2Cl_2	21-25
20% EtOAc : 80% CH_2Cl_2	26-31
30% EtOAc : 70% CH_2Cl_2	32-37
40% EtOAc : 60% CH_2Cl_2	38-43
50% EtOAc : 50% CH_2Cl_2	44-49
55% EtOAc : 45% CH_2Cl_2	50-54
60% EtOAc : 40% CH_2Cl_2	55-60
65% EtOAc : 35% CH_2Cl_2	61-65
70% EtOAc : 30% CH_2Cl_2	66-71
75% EtOAc : 25% CH_2Cl_2	72-76
80% EtOAc : 20% CH_2Cl_2	77-82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.25 (ต่อ) แสดงการเก็บ Effluent ในการแยก ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)

Eluent	Effluent ขวดที่ (เก็บขวดละ 9.2 ml)
85% EtOAc : 15% CH_2Cl_2	83-87
90% EtOAc : 10% CH_2Cl_2	88-110
95 % EtOAc : 5 % CH_2Cl_2	111-115
100 % EtOAc	116-131

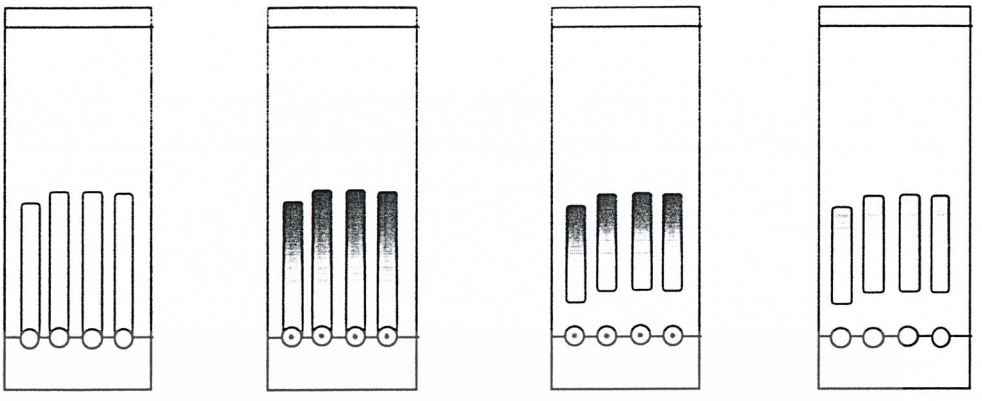
ทำการตรวจสอบสารที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีแล้วรวมส่วนย่อยที่มีผลของทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีที่เหมือนกันได้ดังนี้

ตารางที่ 4.26 แสดงการรวมส่วนย่อยที่แยกได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.78-79/F_1(2-8)

Fraction No.	Effluent ขวดที่	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	1-55	ZA(SB)-MeOH-p.82/F_1(1-55)	7.7 mg	ของแข็งสีส้ม
2	56-62	ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	51.5 mg	ของแข็งสีเหลือง
3	63-74	ZA(SB)-MeOH-p.82-83/F_3(63-74)	28.8 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
4	75-89	ZA(SB)-MeOH-p.83/F_4(75-89)	47.8 mg	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
5	90-131	ZA(SB)-MeOH-p.83-84/F_5(90-131)	73.1 mg	ของแข็งสีน้ำตาล

เมื่อดูจากเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟีของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) แล้วค่อนข้างที่จะบริสุทธิ์จึงนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างด้วย เทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR ซึ่งทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี ของ ZA(SB)-MeOH- p.82/F_2(56-62) แสดงดังภาพที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1) 2) 3) 4)

ภาพที่ 4.10 แสดงการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) ด้วย เทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยแสดงเฉพาะ 56, 58, 60, 62

1) สังเกตโดยการมองด้วยตาเปล่า 2) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

3) ทดสอบด้วยรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร 4) ทดสอบด้วย Developing reagent

ตารางที่ 4.27 แสดงน้ำหนักและ R_f ของสารบริสุทธิ์

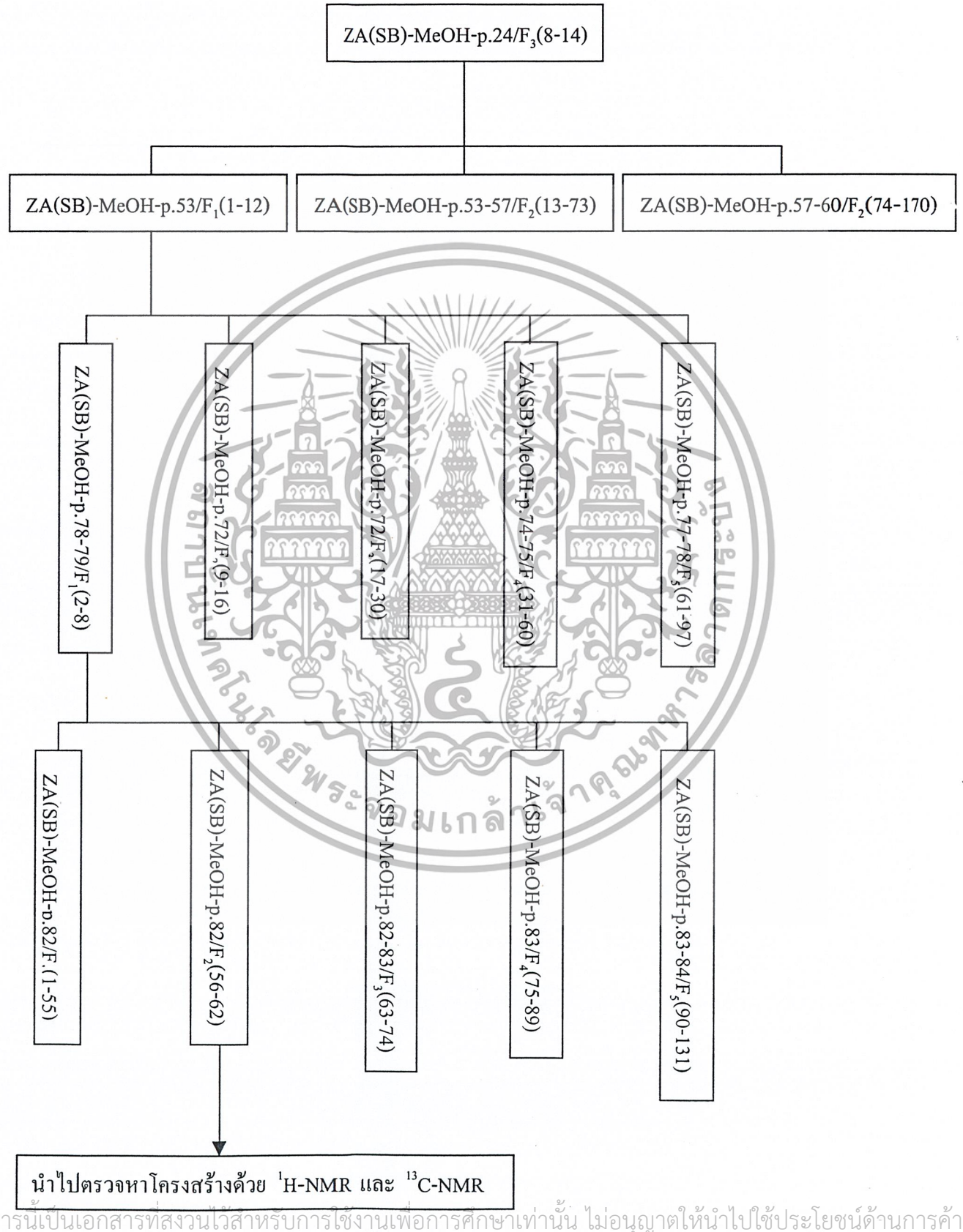
รหัสสาร	น้ำหนัก (g)	%Conversion เทียบกับ*สารสกัดหยาบ	%Conversion เทียบกับตัวอย่างพืช	R_f**
ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)	0.051	0.2549 %	0.0236 %	0.3529

* สารสกัดหยาบ หนัก 20.01 g

** ระบบตัวทำละลายคือ 95 % EtOAc : 5 % CH_2Cl_2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.11 แผนผังการแยกของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

เนื่องจากสารบริสุทธิ์ทั้งสองตัวนั้นมีลักษณะของ NMR spectra นั้นคล้ายคลึงกัน จึงขอเสนอเพียงสารเดียว

4.5.1 ผล ^{1}H-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) (ภาพที่4.13)

ตารางที่ 4.28 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) จาก ^{1}H-NMR Spectra

δ(ppm)	Type of peak	Integration of peak	Available functional group
6.91	Singlet	1	โปรตอนของวงอะโรมาติก
6.7	Singlet	2	โปรตอนของวงอะโรมาติก
5.89	Singlet	2	โปรตอนของวงอะโรมาติก
4.55	Singlet	1	C-C<u>H</u>-O-
4.12	Singlet	1	C-C<u>H</u>-OH
2.55	a,b quartet	2	Y-C<u>H</u>$_2$-Y

4.5.2 ผล ^{13}C-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) (ภาพที่4.14)

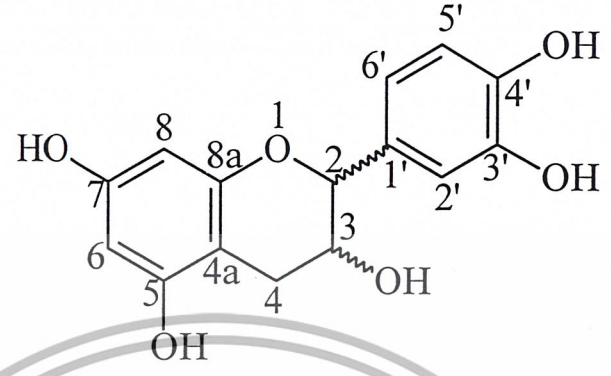
ตารางที่ 4.29 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) จาก ^{13}C-NMR Spectra

δ (ppm)	Available functional group
20-40	คาร์บอน 1 ตัวของ -CH$_2$- ที่อยู่ในcyclicที่มี -O- อยู่ในวง
60-85	คาร์บอน 2 ตัวของ ตัวที่อยู่ใน cyclic ที่มี -O- อยู่ในวง
90-100	คาร์บอน 3 ตัวของวงอะโรมาติกที่ติดกับcyclic
110-145	คาร์บอน 6 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก
150-160	คาร์บอน 3 ตัวของวงอะโรมาติกที่ติดกับcyclicซึ่งตัวมันติดกับ-OH

จากข้อมูลทาง Spectroscopy โครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) ซึ่งสามารถคาดเดาได้จาก ^{1}H-NMR Spectra และ ^{13}C-NMR Spectra พบว่าน่าจะเป็นสารที่มีหมู่โครงสร้างของหมู่ไฮดรอกซี และอะโรมาติกเป็นส่วนใหญ่ จากข้อมูลทาง Spectroscopy ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F$_2$(56-62) นั้นมีลักษณะที่เหมือนกับของ Epicatechin (ภาคผนวก ก) ซึ่งได้มีผู้ทำการวิจัยและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค้นพบก่อนหน้านี้แล้ว ดังนั้นโครงสร้างของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) จึงมีโครงสร้างเหมือนกับ Epicatechin ดังนี้



ภาพที่ 4.12 โครงสร้างที่เป็นไปได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)

ตารางที่ 4.30 แสดงโปรตอนที่เกาะอยู่บนคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ

δ(ppm)	ตำแหน่งของคาร์บอนที่มีโปรตอนมาเกาะ
6.91	2′
6.7	5′,6′
5.89	6,8
4.55	2
4.12	3
2.55	4

ตารางที่ 4.31 แสดงตำแหน่งของคาร์บอน

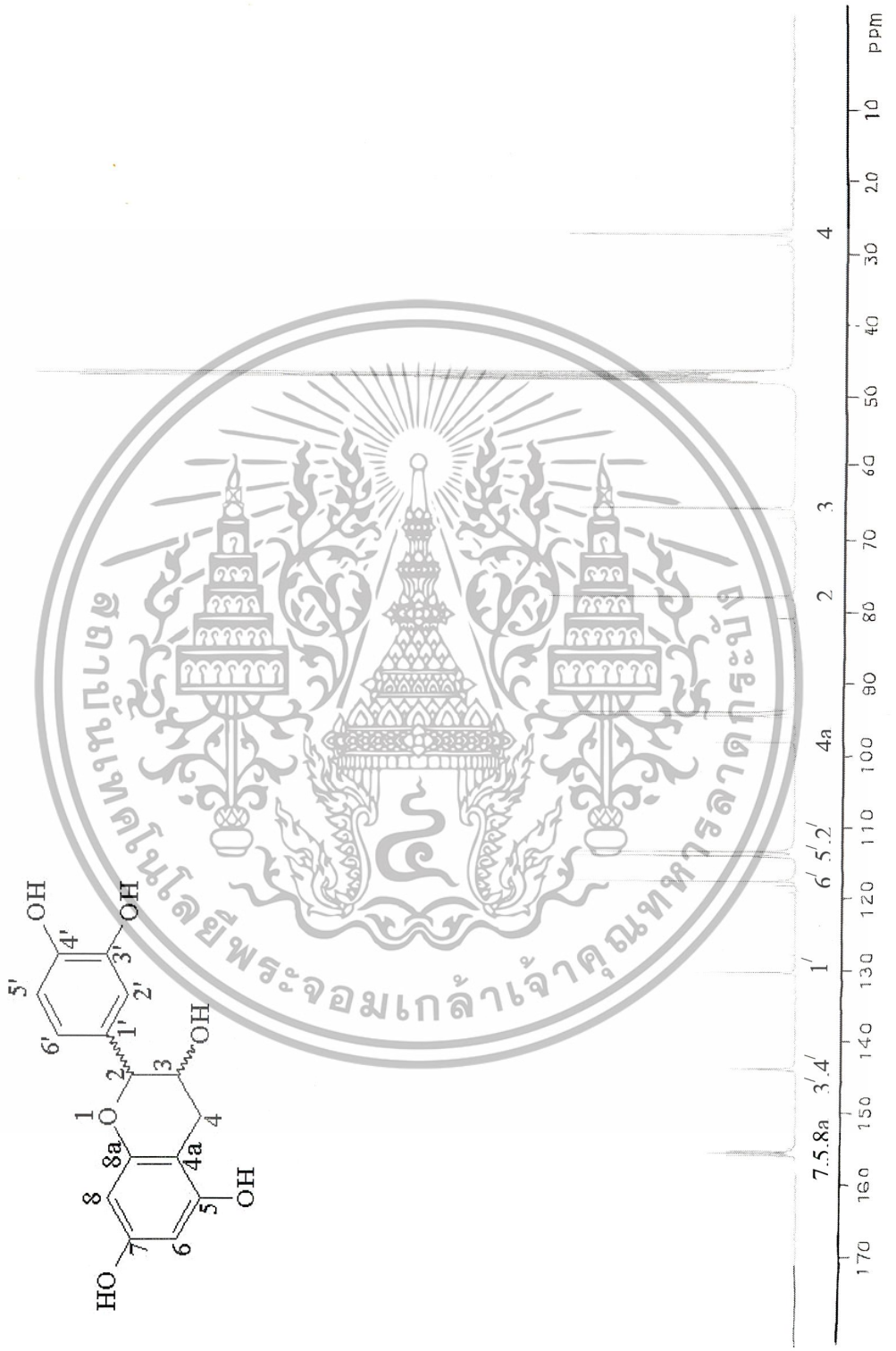
δ (ppm)	ตำแหน่งของคาร์บอน
20-40	4
60-85	2,3
90-100	4a,6,8
110-145	1′,2′,3′,4′,5′,6′
150-160	5,7,8a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.13 แสดง ^{1}H-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.14 แสดง ^{13}C-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

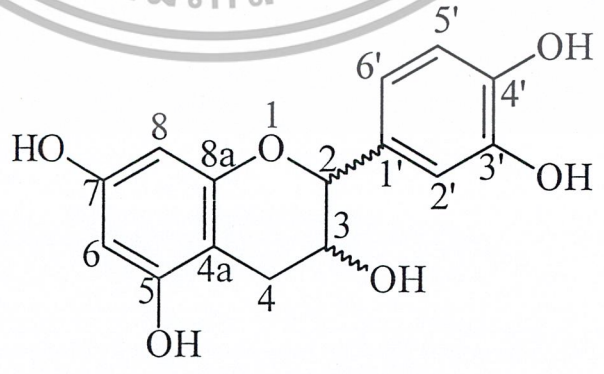
5.1 สรุปผลการวิจัย

1. สามารถสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) ด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเมทานอล ได้สารสกัดหยาบ (Crude Extract) 4.315 %โดยน้ำหนักของพืชตัวอย่าง

2.ทำการแยกส่วนย่อยทางเคมีของสารสกัดจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเมทานอลด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ โดยสามารถแยกสารสกัดได้ 12 ส่วนย่อย

3. สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดชั้นเมทานอลในส่วนย่อยที่ 2 และ 3 คือ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_2(4-7) และ ZA(SB)-MeOH-p.24/F_3(8-14) ได้สารบริสุทธิ์ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2 (11-16) และ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) ตามลำดับโดย ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) แยกได้น้ำหนัก 0.06 กรัม ซึ่งคิดเป็น 0.2998 % โดยน้ำหนักของสารสกัดหยาบ และ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) แยกได้น้ำหนัก 0.051 กรัม ซึ่งคิดเป็น 0.2549 % โดยน้ำหนักของสารสกัดหยาบ สารทั้งสองมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว

4. เมื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมโดยโปรแกรม Chem Draw Ultra โดยใช้ ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR Estimation พบว่าสารที่ได้มีลักษณะคล้ายกับอีพิคาเทชิน(Epicatechin) และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของสเปกตรัม ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR ของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) และ ZA (SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) กับ สเปกตรัมของ Epicatechin พบว่าสเปกตรัมทั้งสองเหมือนกันทุกประการกับสเปกตรัมของ Epicatechin (ภาคผนวก ก) ดังนั้นสารที่ได้น่าจะเป็น Epicatechin ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 5.1



รูปที่ 5.1 โครงสร้างที่เป็นไปได้ของ ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) และ ZA(SB)- MeOH-p.82/F_2(56-62)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการค้นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พบว่า พืชในสกุลนี้มีผู้พบสารกลุ่มใหญ่คือ Ttiterprene Cyclopeptide และ Phenolic Compound ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสาร ZA(SB)-MeOH-p.42/F_2(11-16) และ ZA(SB)-MeOH-p.82/F_2(56-62) เป็นสารประกอบจำพวก Phenolic Compound และจากที่ได้มีผู้ค้นพบ Epicatechin พบว่ามีคุณสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์และยังพบว่าเป็นสารที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมของยารักษาโรคเบาหวานได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. สารบริสุทธิ์ที่ได้มีโครงสร้างเป็น Epicatechin แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็น (+) Epicatechin หรือ (-) Epicatechin ดังนั้นจะต้องทำการทดลองเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ทราบว่าเป็น (+) Epicatechin หรือ (-) Epicatechin โดยใช้เครื่องโพลาไรซ์มิเตอร์

2. เนื่องจากสารสกัดชั้นเมาทานอลเป็นสารที่มีขั้วสูงมาก ดังนั้นในการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงทำได้ยากมาก เพราะว่าสารจะเคลื่อนที่เป็นแถบยาวบนแผ่น TLC ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปหากมีการวิจัยต่ออาจจะต้องมีการใช้ซิลิกาที่เป็น Reverse Phase ในการแยกหรืออาจใช้วิธีการแยกด้วย Preparative Chromatography ซึ่งจะเป็นวิธีการแยกที่มีประสิทธิภาพมาก แต่อาจมีค่าใช้จ่ายที่สูงมาก

3. Epicatechin ที่โครงสร้างเป็น (-) Epicatechin มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแด็นท์ (Antioxidant) และสามารถรักษาโรคเบาหวานได้ ดังนั้นในการนำมาประยุกต์ใช้งานอาจใช้ในอุตสาหกรรมยาหรืออุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

วิชัย ริ้วตระกูล และคณะ. 2527. **การประยุกต์สเปกโตรสโคปีในเคมีอินทรีย์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ห้องเรียน. กรุงเทพฯ.

นิจศิริ เรืองรังษี และพะยอม ตันติวัฒน์. 2534. พืชสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

วีณา จิรัจฉริยากุล. 2534. **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

R. Tshchesche and others. 1975. Alkaloids from RHAMNACEAE-XXVI Nummularine –D, -F, And –F, New Cyclopeptide Alkaloids from *ZIZYPHUS NUMMULARIA*. **Tetrahedron**. 31: 2944-2947.

ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ราชบัณฑิตยสถาน. 2538. **อนุกรมวิธานพืช อักษร ก.** กรุงเทพมหานคร: เพื่อนพิมพ์.

http://rspg.thaigov.net/scbotdat/plantdat/rhamnace/zattop_2.htm.

http://www.diabeticbar.com/epicatechin.htm.

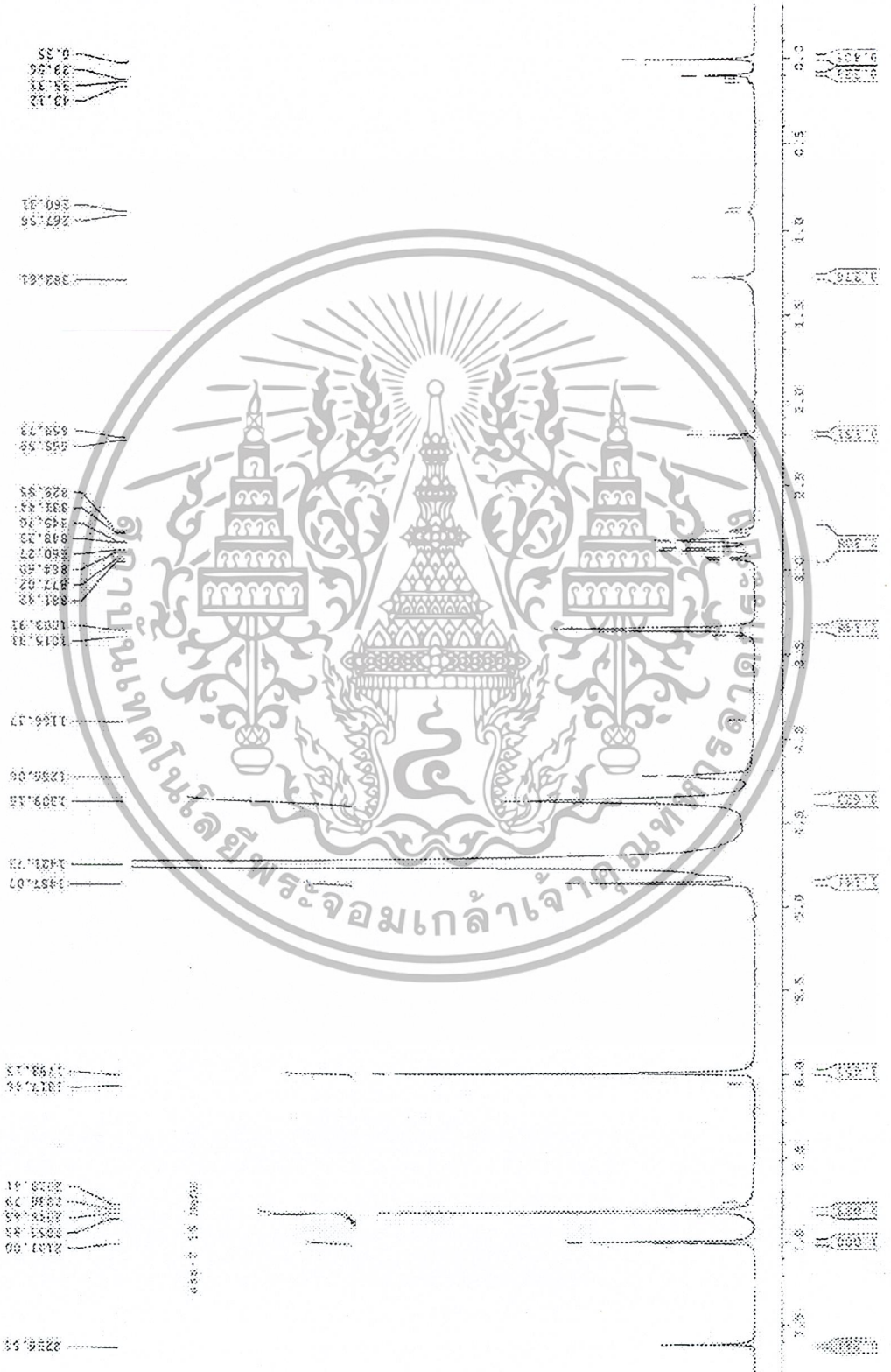
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

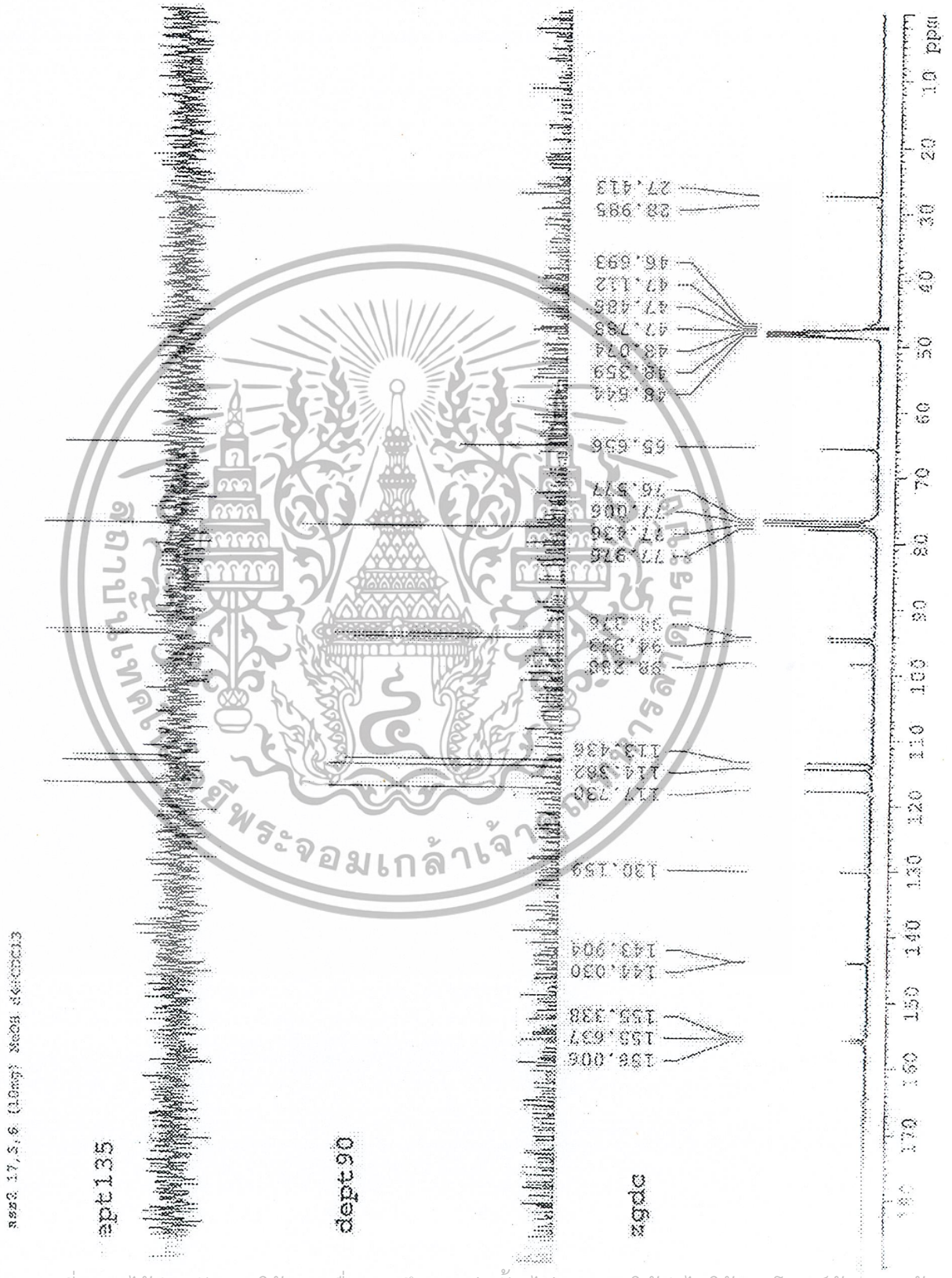
ภาคผนวก ก

รูปที่ ก-1 แสดงสัญญาณ ^{1}H-NMR ของ (-) Epicatechin มาตรฐาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก-2 แสดงสัญญาณ ^{13}C-NMR ของ (-) Epicatechin มาตรฐาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้