สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเฮกเซน

T 049281

นายนรศิษฎ์ จันทรกูล รหัส 42050086
นายศรัณ แร่จั่น รหัส 42050119

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 49281
วัน, เดือน, ปี 18 ก.พ. 2547

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

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Chemical Constitutes of *Zizyphus attopoensis* Pierre in Hexane Extract

Mr. Norasit Chantharakul

Mr. Saran Reajun

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) ในชั้นเฮกเซน
นักศึกษา	นายนรศิษฏ์ จันทรกูล รหัส 42050086
	นายศรัณ แร่จั่น รหัส 42050119
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2545
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ , ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร. ตะวัน สุขน้อย	.....
กรรมการ ดร.ชลลดา ฤตวิรุฬห์	.....
กรรมการ ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์	.....
กรรมการ รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ	.....
กรรมการ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	.....

.....

(รศ.ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเฮกเซน
นักศึกษา	นายนรศิษฏ์ จันทรกูล
	นายศรัณ แร่จั่น
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์
	ดร. พัชนี เจริญยิ่ง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2545

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง ในชั้นเฮกเซน โดยการนำเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งที่แห้ง(5 กก.) มาบดละเอียด ทำการสกัดสาร โดยใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และหลังจากนั้นนำส่วนสกัดชั้น เฮกเซน (25 กรัม) มาแยกและตรวจสอบโดยเทคนิคโครมาโทรกราฟี พบว่าได้ 5 ส่วนย่อย จากการนำส่วนย่อยที่ 2 (4.46 กรัม) มาแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโทรกราฟีสามารถแยกสารประกอบไตรเทอร์พีนหนึ่งชนิด (โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 97% hexane: 3% ethyl acetate + butanol) และจากการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารประกอบไตรเทอร์พีนชนิดนี้แล้วโดยวิธีสเปกโทรสโคปีและโดยการเปรียบเทียบข้อมูลสเปกโทรสโคปีกับที่มีรายงานไว้แล้ว พบว่าสารประกอบไตรเทอร์พีนนี้มีสูตรโครงสร้างคือ Oleanane-3-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	The Chemical Constitutes of *Zizyphus attopoensis* Pierre in Hexane Extract
Name	Mr. Norasit Chuntrakul Mr. Saran Reajun
Special Project Advisor	Asst.Prof.Dr. Theerawat MongKolaussavarat Dr. Patchanee Charoenying
Special Project Co-advisor	Assoc.Prof.Dr.Sunit Suksamrarn
Department	Chemistry
Academic	2002

Abstract

Chemical constituents of the dried stem bark (5.0 kg.) of *z. attopensis*, was successively extracted with hexane at 40^{0}C. The crude extracted (25g.) was subjected to column chromatography to yield 5 fractions. One triterpene ,Oleanane -3-one ,was obtained after repeated column chromatography of fraction 2 (eluted with 97 : 3 ,hexane-ethylacetate (v/v) parts in additional 3 drops of butanol). The structure of pure compound was determined by spectroscopic data and by comparing with those reported in the literatures.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงงานพิเศษฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปไม่ได้ หากไม่ได้รับความช่วยเหลือ ความร่วมมือ ตลอดจนคำแนะนำต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์แก่คณะผู้จัดทำ จากบุคคลหลายๆ ท่าน

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์ รศ.ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ และ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน และคณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ช่วยกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจทาน แก้ไข โครงงานพิเศษฉบับนี้ให้เรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ขอกราบขอพระคุณคุณพระบิดามารดา อาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำ และขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่ให้กำลังใจมาโดยตลอด จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

นอกจากนี้ยังมีบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลืออีกมากซึ่งมิได้กล่าวถึง ทางคณะผู้จัดทำจึงขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

นายนรศิษฏ์ จันทรกูล
นายศรัณ แร่จั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
อักษรย่อ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	1
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 ความหมายของพืชสมุนไพร	3
2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง	7
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	18
3.2 ขั้นตอนการวิจัย	19
3.3 วิธีการทดลอง	19
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	
4.1 ผลการสกัดตัวอย่างพืชด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	22
4.2 ผลการศึกษาการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบทางเคมีจากสารสกัดชั้น hexane ด้วยเทคนิค TLC เพื่อนำไปใช้แยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการแยกสารสกัดชั้นตัวทำละลาย hexane ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยแยกเป็นคอลัมน์ต่างๆ 23

4.4 การทำสารให้บริสุทธิ์ (Purification) 27

4.5 การตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ 31

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะจากผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย 43

5.2 ข้อเสนอแนะ 44

เอกสารอ้างอิง 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid	10
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid ขนาด 13 อะตอม	11
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทั่วไปของ zizyphine-F or *O*-desmethyl- zizyphine-A	12
รูปที่ 2.4 โครงสร้างทั่วไปของ zizyphine-I	12
รูปที่ 2.5 โครงสร้างทั่วไปของ zizyphine-K	13
รูปที่ 2.6 โครงสร้างทั่วไปของ amphibine-B	13
รูปที่ 2.7 โครงสร้างทั่วไปของ frangufoline	14
รูปที่ 2.8 โครงสร้างทั่วไปของ mauritine-D	14
รูปที่ 2.9 โครงสร้างทั่วไปของ zizyphine-G	15
รูปที่ 2.10 โครงสร้างทั่วไปของ abyssinine-A	15
รูปที่ 2.11โครงสร้างทั่วไปของ zizyphine-D	16
รูปที่ 2.12 โครงสร้างทั่วไปของ betulinic acid	16
รูปที่ 2.13 โครงสร้างทั่วไปของ zizyotin	17
รูปที่ 4.1 การแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น hexane ด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm	28
รูปที่ 4.2 การแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น hexane ด้วย TLC โดยการทดสอบกับ Developing Solvent	29
รูปที่ 4.3 การแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น Hexane ด้วย TLC แผ่นเดียวกันโดยการทดสอบกับ Developing Solvent	30
รูปที่ 4.4 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Oleanane-3-one	34
รูปที่ 4.5 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Ursane-3-one	35
รูปที่ 4.6 ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)	36
รูปที่ 4.7 ^{13}C-NMR Spectra ก่อนขยายสัญญาณของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.8 ^{13}C-NMR Spectra หลังขยายสัญญาณของ
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) 38
รูปที่ 4.9 ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90 ของ
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) 39
รูปที่ 4.10 IR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) 40
รูปที่ 4.11 ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) 42
รูปที่ 5.1 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Oleanane-3-one 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อักษรย่อ

Phe	=	phenylalanine
lle	=	isoleucine
i-butyl	=	*iso*butyl
s-butyl	=	secondary butyl
EtOAc	=	ethyl acetate
TLC	=	Thin Layer Chromatography
nm	=	Naometer
UV	=	Ultraviolet
ppm	=	part per million
IR	=	Infared Spectrophotometer
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

สารที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในปัจจุบันที่มีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคได้ซึ่งเรียกกันว่า "สมุนไพร" นับว่ามีประโยชน์มากมาย ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยและนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชกรรมและการแพทย์ตลอดจนในอุตสาหกรรมอาหารอย่างมาก แต่ทั้งนี้ยังมีสมุนไพรอีกจำนวนมากที่ยังไม่ได้มีการศึกษาวิจัย จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรตัวอื่นเพื่อหาส่วนประกอบที่มีอยู่ในสมุนไพรนั้นๆ เพื่อเป็นการวิเคราะห์หาสารตัวใหม่ที่อาจมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมากกว่าหรือเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารที่มีสมบัติเดิมจากสมุนไพรชนิดใหม่

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาในส่วนเปลือกลำต้นของต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre) เนื่องจากพืชในสกุลนี้หลายชนิดใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน แต่ยังไม่พบงานวิจัยที่ศึกษาถึงส่วนประกอบทางเคมีของต้นกำลังเสือโคร่ง ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงได้เลือกทำการศึกษาเพื่อหาส่วนประกอบทางเคมีของต้นกำลังเสือโคร่ง ซึ่งคาดว่าน่าจะมีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกับพืชในสกุลเดียวกัน หรือมีองค์ประกอบอื่นที่แตกต่างออกไปนอกเหนือจากงานวิจัยที่ผ่านมา

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีการแยกสารประกอบทางเคมีจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเฮกเซน
2. หาโครงสร้างของสารที่แยกได้จากสารสกัดของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. สกัดสารจากเปลือกลำต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเฮกเซน
2. นำส่วนสกัดชั้นเฮกเซนมาแยกและนำส่วนที่เป็นองค์ประกอบหลักมาทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatography techniques)
3. ศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

งานวิจัยนี้จะศึกษาถึงการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเฮกเซนและการแยกสารที่สกัดได้ เพื่อนำไปสู่การแยกสารที่บริสุทธิ์ประกอบกับการวิเคราะห์หาโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่แยกได้โดยมีขอบเขตดังนี้

1. ศึกษาการเตรียมสารสกัดหยาบ โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย สกัดสารออกจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง
2. ศึกษาการหาระบบของตัวทำละลายละลาย (Solvent system) ที่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ออกมาจากสารสกัดหยาบได้
3. ศึกษาวิธีการแยกสารออกจากสารตัวอย่างโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column chromatography) รวมทั้งการเก็บรักษาสารที่แยกออกมาได้
4. ตรวจสอบและวิเคราะห์สารที่แยกได้โดยใช้วิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ อินฟาเรดสเปกโทรสโกปี (Infared spectroscopy) และนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear magetic resonance spectroscopy)

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีของสารบริสุทธิ์ว่ามีโครงสร้างประเภทใดและจะนำสารที่ได้นี้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านโรคเขตร้อนต่างๆเป็นต้น ซึ่งจะได้ทราบผลเป็นลำดับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ความหมายของพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพร (Herbs) หมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา ซึ่งหาได้ตามพื้นเมือง ไม่ใช่เครื่องเทศ

ส่วนคำว่า **ยาสมุนไพร** หมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์หรือแร่ซึ่งยังมิได้ผสม ปรุง หรือแปรสภาพ

ยาสมุนไพรนั้นมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในทุกครัวเรือนเป็นเวลาช้านานมาแล้ว จนถึงปัจจุบันสมุนไพรก็ยังเป็นพืชที่มีคุณค่าทั้งทางยาและทางเศรษฐกิจที่คนไทยยังให้ความนิยมอยู่ และใช้ในการปรุงยาแผนโบราณอย่างกว้างขวางแม้ว่าความนิยมของยาสมุนไพรอาจลดลงไปบ้าง เนื่องจากวิทยาการทางการแพทย์ ในการผลิตยาให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจ การเก็บรักษายาง่ายและรูปแบบของยาสะดวกต่อการใช้

อย่างไรก็ดี ปัจจุบันสมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศมีความต้องการสูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และประเทศต่าง ๆ ในทวีปยุโรป ซึ่งสมุนไพรส่วนมากไม่สามารถทำการผลิตได้ในประเทศเหล่านี้ อีกทั้งคนส่วนใหญ่นิยมนิยมใช้สมุนไพรกันมากในลักษณะของการผลิตเป็นอาหารเสริม จึงมีการสนับสนุนส่งเสริมให้มีการปลูกสมุนไพรทั้งชนิดที่มีการรับรองจากทางวิทยาศาสตร์ และชนิดที่ยังไม่ได้ผ่านการทดลองแต่เคยใช้ได้ผลกันมาแต่โบราณ

สำหรับในประเทศไทยนั้นมีสมุนไพรที่สำคัญหลายชนิดที่ตลาดต่างประเทศต้องการ แต่ว่าการผลิตสมุนไพรไทยส่วนใหญ่ใช้วิธีเก็บหามาจากธรรมชาติ มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่เพาะปลูก และเป็นที่รู้จักกันดีในทางการค้าเนื่องจากการที่จะควบคุมคุณภาพเพื่อส่งออกต่างประเทศทำได้ยาก ดังนั้น การส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้น จะต้องใช้เวลาอีกนานพอสมควร เพื่อให้มีข้อมูลเพียงพอทางด้านวิทยาศาสตร์ พฤกษศาสตร์ สารเคมีในสมุนไพร แต่ละชนิด สรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยา ตลอดจนต้องมีการคัดเลือกสมุนไพรที่ถูกต้องตามความต้องการของตลาดด้วย

องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์ หรือในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาของพืชสมุนไพรเป็นสารเคมีที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์ หรือในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาของพืชสมุนไพรเป็นสารเคมีที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย มีดังนี้

1. Alkaloid

เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มีคุณสมบัติเป็นด่างเมื่ออยู่ในรูปของเกลือแต่ถ้าอยู่ในรูปของด่างจะละลายในตัวทำละลายซึ่งละลายไขมันได้ดีเช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เป็นต้น ตัวอย่างของอัลคาลอยด์ ได้แก่ Atropine จากต้นลำโพงมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง

2. Glycoside

เป็นสารประกอบซึ่งมีสองส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลการมีน้ำตาลมาเกาะทำให้สารนั้นละลายน้ำได้ดีขึ้น ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสารจำพวกอินทรีย์เคมีซึ่งมีสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป เช่น หากว่าเป็น Anthraquinone จะมีฤทธิ์เป็นยาถ่าย ถ้าเป็น steroid หรือ triterpene จะมีฤทธิ์ลดการอักเสบหรือการขยายของหลอดลม เป็นต้น

3. Essential oil

เป็นสารที่มีอยู่ในพืช โดยทั่วไปมีกลิ่นหอม เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด ถ้าเป็นประเภท terpene มักมีฤทธิ์ขับลม สารเหล่านี้หลายชนิดใช้ปรุงแต่งกลิ่นยา ใช้แต่งกลิ่นอาหาร บางชนิดมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

4. Tannin

เป็นสารประกอบที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนเมื่อถูกกับเกลือคลอไรด์ของเหล็กจะให้สีเขียว น้ำเงินหรือดำ เนื่องจากมีฤทธิ์ฝาดจึงใช้บรรเทาอาการท้องร่วง และยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วย

5. Gum

เป็นของเหนียวที่พบในพืชบางชนิด จะพบเมื่อเรากรีด หรือทำให้พืชนั้นเป็นแผล ซึ่งบางชนิดใช้เป็นยา

6. Latex

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Steroid

เป็นสารประกอบในพืชที่ละลายได้ดีในไขมันสารในกลุ่มนี้บางตัวใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบ

8. Saponin

เป็นสารประเภทไกล์โคไซด์ (Glycoside) อาจเป็น steroid หรือ triterpene ซึ่ง saponin มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตก เป็นพิษต่อสัตว์เลือดเย็น

9. Flavonoid

เป็นสารประกอบของคาร์บอนและออกซิเจน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ กัน เช่น ลดการอักเสบ ขยายหลอดลม มดลูกคลายตัว ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

10. Cyanogenic glycoside

เป็นสารเคมีที่มีอยู่ในพืช เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เกิดปฏิกิริยาทางเคมีจะให้ไซยาไนด์ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เนื่องจากไปแย่งจับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจน สารพวกนี้ถูกทำลายได้โดยใช้ความร้อน มีอยู่ในพืชบางชนิด เช่น มันสำปะหลัง จึงไม่ควรรับประทานสด ๆ

ความสำคัญของพืชสมุนไพร

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

ข้อดีของสมุนไพร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสียของสมุนไพร

1. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกชนิด เนื่องจากมีพืชอยู่มากมาย และบางชนิดก็มีลักษณะคล้ายคลึงกันมากดังนั้นก่อนที่จะใช้สมุนไพรต้องมีความมั่นใจว่าเป็นพืชที่ต้องการจริงจึงจะเกิดประโยชน์ในการบำบัดโรคภัยไข้เจ็บ

2. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกขนาด ถูกสัดส่วน

3. การเตรียมค่อนข้างยุ่งยากกล่าวคือ อาจต้องใช้สมุนไพรหลายชนิดในการเตรียมยาต่อครั้ง หรืออาจจะต้องใช้สารอื่นหรือองค์ประกอบอื่นอีกหลายอย่าง ทำให้ยุ่งยากในการเตรียมยา

4. เห็นผลในการรักษาช้า

5. พืชสมุนไพรบางชนิดอาจจะก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ ฉะนั้นจึงมีข้อจำกัดในการใช้สมุนไพรบางประการ

5.1 ควรจะเข้าใจถึงสาเหตุ และอาการของโรคให้แน่ชัดเสียก่อน เพื่อป้องกันการใช้สมุนไพรผิดโรค ซึ่งอาจเกิดอาการกำเริบได้

5.2 ต้องรู้ถึงอาการที่ไม่ควรใช้สมุนไพรรักษา โรคบางโรคต้องรีบไปพบแพทย์รักษา

5.3 อาจจะเกิดอาการแพ้หลังจากรับประทานยาสมุนไพร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน

5.4 ผู้เตรียมยาต้องมีความรู้ทางด้านพฤกษาศาสตร์ หรือรู้จักต้นไม้เป็นอย่างดี

5.5 ผู้ใช้ต้องใช้ให้ถูกขนาด ถูกวิธี ถูกคน

5.6 ต้องเตรียมยาที่สะอาด ใช้สมุนไพรที่สะอาด

5.7 หากไม่เคยใช้ยาสมุนไพรต้องใช้ยาสมุนไพรในปริมาณความเข้มข้นต่ำ

5.8 การรักษาโรคด้วยยาสมุนไพรครั้งหนึ่ง ๆ ไม่ควรใช้ยาติดต่อกันนาน ๆ

ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง

ในการนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่างๆดังนี้

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช (Plant material preparation)

นำสมุนไพรที่มาแยกเอาส่วนประกอบที่ต้องการสกัดออกมา จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเพื่อนำไปทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

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 จากนั้นจึงกรองเอาสารละลายที่ได้เก็บไว้ 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 เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ เครื่องมือนี้เรียกว่าเครื่องระเหยสุญญากาศประกอบด้วย 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

Thin-layer Chromatrophy (TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้ stationary phase ซึ่งแผ่เป็นแผ่นเคลือบบน support ซึ่งอาจเป็นแก้ว อะลูมิเนียม เมื่อหยดสารผสมลงบน stationary phase แล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ได้ไปใส่ chamber ซึ่งบรรจุ mobile phase ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการที่ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านไปบน stationary phase ซึ่งเรียกว่า development ขณะที่เกิดการ development สารก็จะแยกออกจากกัน

การประยุกต์ใช้ TLC ในการศึกษาสารเคมีจากสมุนไพร

(1) ใช้วิเคราะห์หาสารเบื้องต้นว่ามีกี่ชนิด และอาจบอกได้ว่าเป็นสารประเภทใด

(2) ใช้เป็นวิธีเบื้องต้นเพื่อหาระบบตัวทำละลาย สำหรับ คอลัมน์โครมาโทรกราฟี

(3) ใช้ตรวจสอบ fraction ที่ได้มาจาก คอลัมน์โครมาโทรกราฟี เพื่อรวม fraction ที่เหมือนกัน

(4) แยกสารบางชนิดที่มีปริมาณน้อย

(5) ใช้แยกสารปริมาณมากซึ่งแยกได้โดยวิธี คอลัมน์โครมาโทรกราฟี ไม่ได้ผล

(6) ใช้หาปริมาณสารในสารผสม

Column chloromatrophy

เป็นวิธีแยกสาร โดยให้สารเคลื่อนที่ไปบน stationary phase ซึ่งบรรจุในหลอดแก้วกลวง

- column เป็นหลอดแก้วกลวง โดยมากจะต้องมีอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวของหลอดแก้วเท่ากับ 1: 10 การจะใช้คอลัมน์ยาวเท่าไรขึ้นอยู่กับความยากง่ายในการแยก ถ้าหากคอลัมน์ยาวจะทำให้การแยกมีประสิทธิภาพดีขึ้น เหมาะสำหรับแยกสารที่มีจำนวนมาก

- Adsorbent ชนิดของ adsorbent ที่ใช้ก็เช่นเดียวกับ adsorbent ของ TLC โดยอัตราส่วนของ adsorbent ที่ใช้ และปริมาณสารที่จะแยก ขึ้นกับกระบวนการแยก

2.2.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

ใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่น IR , NMR เป็นต้นในการวิเคราะห์สารที่แยกออกมาได้ เนื่องจากงานวิจัยใช้ต้นกำลังเสือโคร่ง ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับต้นพุทราจีน ต้นเล็บเหยี่ยว ที่เคยมีผู้ทำวิจัยมาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopensis* Pierre ST)

มีลักษณะเป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 7 เมตร กิ่งเรียวเล็ก ค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีหนามแหลมโค้ง ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก กว้าง 1.4 - 2.4 เซนติเมตร ยาว 5 — 6 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนเบี้ยว ขอบจักฟันเลื่อยเล็ก ๆ ปลายจักมีต่อม เส้นใบออกจากโคน 3 ใบ เส้นเห็นชัดทางด้านล่าง เส้นใบย่อยขนานกันตามขวางของใบ และสานกันเป็นร่างแหถี่ ๆ แผ่นใบหนา เกลี้ยง ยกเว้นตามเส้นใบมีขน ก้านใบยาวประมาณ 6 มิลลิเมตร มีขน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ รูปสามเหลี่ยมปลายมน ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร โคนกลีบสอบแคบ ขอบเรียบ กลีบโค้ง เกสรตัวผู้ 5 อัน สั้นกว่ากลีบดอก อับเรณูรูปไข่ ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร จานฐานดอกโค้ง รังไข่อยู่ลึก มี 2 ช่อง มีออวุลช่องละ 1 เม็ด ปลายแยกเป็นก้านเกสรตัวเมียงอ ๆ 2 อัน ผลกลม มีเนื้อกว้าง 0.9 — 1.4 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1.6 เซนติเมตร มีขนสีแดง มีเม็ดแข็ง 1 เม็ด รูปขอบขนาน กว้างประมาณ 5 มิลลิเมตร ยาว 1 — 1.2 เซนติเมตร

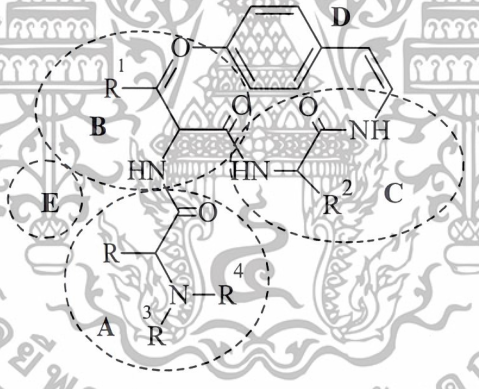
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการค้นคว้างานวิจัยย้อนหลัง 10 ปี ไม่พบว่ามีงานวิจัยใดที่ศึกษาถึงส่วนประกอบทางเคมีของต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis* Pierre ST) พบเพียงงานวิจัยของต้นเล็บเหยี่ยว (*Zizyphus oenoplia* Mill.var brunoriana Tardieu) ซึ่งเป็นพืชในตระกูลเดียวกับต้นกำลังเสือโคร่ง ผู้วิจัยจึงขอกล่าวถึงส่วนประกอบทางเคมีของต้นเล็บเหยี่ยวซึ่งคาดว่าน่าจะมีส่วนประกอบคล้ายคลึงหรืออาจจะนอกเหนือจากต้นกำลังเสือโคร่ง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

Cyclopeptide alkaloid เป็น alkaloid ชนิดเป็นวง มีสาย เปปไทด์ ขนาด 10 หรือ 12 อะตอม เชื่อมกับวงเบนซีน ที่ตำแหน่ง 1, 3 หรือ 1, 4 เกิดเป็นวงขนาด 13, 14 และ 15 atomcyclopeptide alkaloid พบได้ในพืชวงศ์ Rhamnaceae และพืชวงศ์อื่นๆ โดยพบได้ในส่วนใบ เปลือกต้น เปลือกราก และเมล็ด ปกติจะพบเพียงเล็กน้อยในลักษณะของผสมที่เชิงซ้อนปริมาณของ cyclopeptide alkaloid ที่พบ อยู่ระหว่าง 0.01-1% ของน้ำหนักพืชที่แห้งซึ่งขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ท้องถิ่นที่พืชเจริญเติบโต ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ความอ่อน-แก่ของพืชที่ใช้ รวมถึงวิธีการแยกสาร

โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid (รูปที่2. 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)

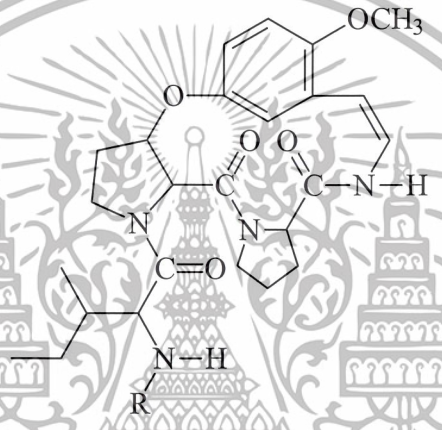
ในบางชนิดมี amino acid เพิ่มขึ้น (ส่วนย่อย E) ระหว่างส่วนย่อย A และ B ซึ่งสารประกอบ cyclopeptide alkaloid สามารถจำแนกตามขนาดของวงเป็นประเภท 13, 14 —และ15 —membered

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ring system และยังอาจจำแนกตามจำนวนของหน่วยย่อยที่มีคือ 4 หรือ 5 หน่วยย่อย เช่น 4 (15) cyclopeptide alkaloid คือ cyclopeptide alkaloid ที่มีวงขนาด 15 อะตอม และประกอบด้วย 4 ส่วนย่อย คือส่วนย่อย A B C และ Dประเภทของ cyclopeptide alkaloid ที่พบใน *Zizyphus oenoplia* สามารถจำแนกได้ 3 ประเภท คือ 13-membered ring , 14-membered ring และ 15-membered ring

13-membered ring

5(13) cyclopeptide alkaloid(1) 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)



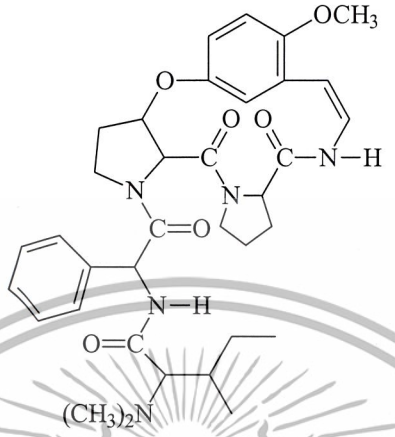
รูปที่ 2.2 cyclopeptide alkaloid ที่เป็นวงขนาด 13 อะตอม

หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

zizyphine-A or zizyphine(1a)	มีหมู่ R เป็น *N,N*-**dimethyl-lle**	จากส่วนเปลือกราก
zizyphine-B or zizyphine)	มีหมู่ R เป็น *N*-methyl-lle	จากส่วนเปลือกราก
or N-desmthyl-zizyphine-A(1b)		จากส่วนของเปลือกต้น
zizyphine-C	มีหมู่ R เป็น N,N-dimethyl-phe	จากส่วนของเปลือกต้น

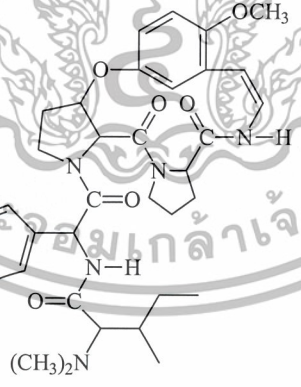
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

zizyphine-F or *O*-desmethyl- zizyphine-A (2) จากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.3 zizyphine-F or *O*-desmethyl- zizyphine-A

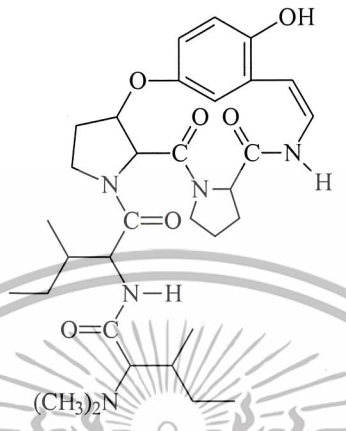
zizyphine-I (3) จากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.4 zizyphine-I

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

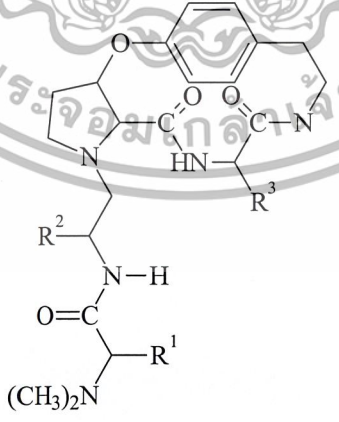
zizyphine-K (4) จากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.5 zizyphine-K

14-membered ring

4(14) cyclopeptide alkaloid คือ cyclopeptide alkaloid ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวง ขนาด 14 อะตอม และประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย ได้แก่ abyssinine –A (9a), abyssinine-B (9b) zizyphine-D (10a) และ zizyphine-E (10b)



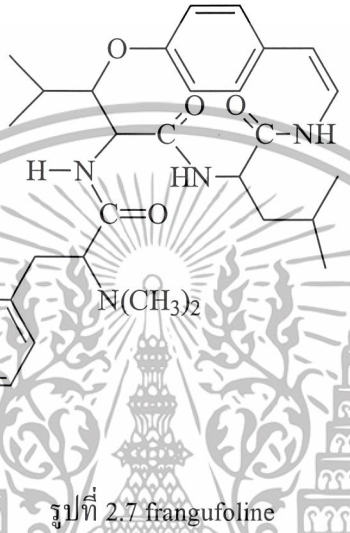
รูปที่ 2.6 amphibine-B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

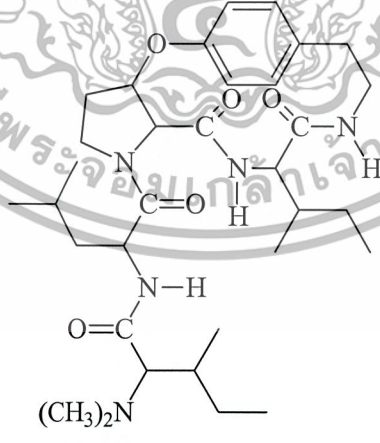
amphibine-B (5) มีหมู่ R เป็น $R^1 = R^3$ CH_2Ph, $R^2 = CH_2Ph$ จากส่วนเปลือกราก

frangufoline (6) จากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.7 frangufoline

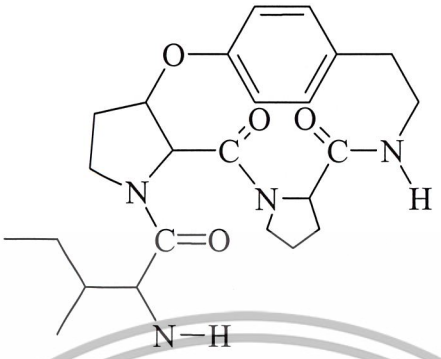
mauritine-D (7) จากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.8 mauritine-D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zizyphine-G (8) จากส่วนเปลือกราก

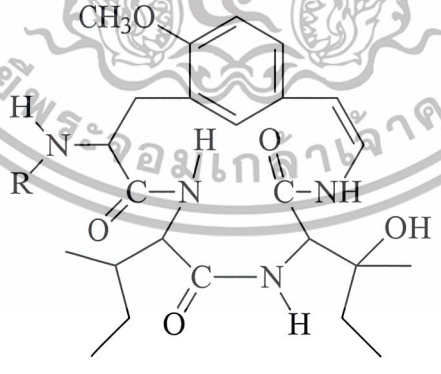


รูปที่ 2.9 Zizyphine-G

15-membered ring

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*

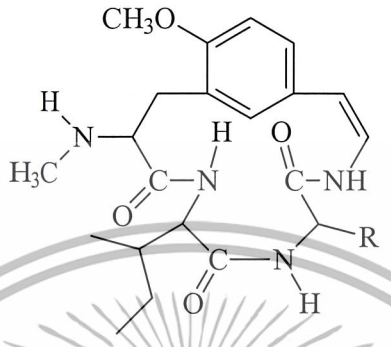


รูปที่ 2.10 abyssinine-A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

zizyphine-D (9b)

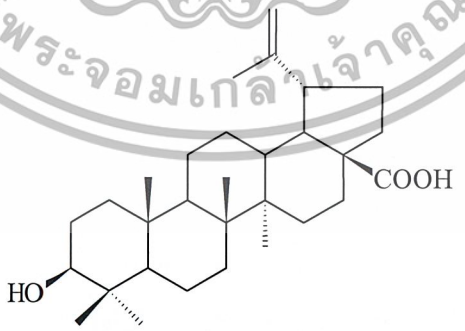


รูปที่ 2.11 zizyphine-D

abyssinine-A or *N*-desmethyl-mucronine-C (10a)มีหมู่ R เป็น R=*s*-buthylมาจากส่วนเปลือกราก

abyssinine-B(10b) มีหมู่ R เป็น R=*i*-buthylมาจากส่วนเปลือกราก

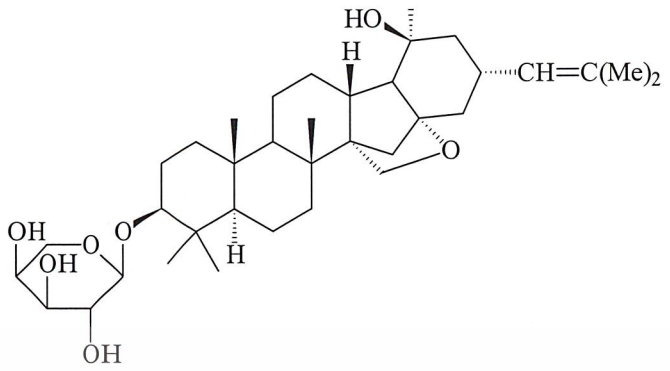
สารประกอบ triterpene ที่พบในพืชชนิดนี้คือ betulinic acid (11) โดยพบในส่วนเปลือกรากของ *Zizyphus oenoplia* และ triterpenoid saponin คือ zizyotin (12) จาก ส่วนเปลือกต้นของ *Zizyphus oenoplia*



รูปที่ 2.12 betulinic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 2.13 zizyotin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

49281

บทที่3
วิธีดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในงานวิจัย

ใช้ส่วนเปลือกของต้นกำลังเสือโคร่ง จากร้านเจ้ากรมเป๋อ กรุงเทพมหานคร

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

1. ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด
   - เฮกเซน
   - เอทิลอะซีเตต
   - ไดคลอโรมีเทน
   - เมทานอล
   - บิวทานอล
2. Silica gel สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี
   - Silica gel (Merk 1.07729.1000)
   - Silica gel (Carlo Erba Reagenti 453337)
3. Pre-Coated TLC aluminium sheets of silica gel $60GF_{254}$ (Merck 1.05554)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. คอลัมน์แก้วขนาดต่างๆ
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. อ่างน้ำร้อน (Water bath)
4. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
5. เครื่องปั่นกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic Stirrer/Heat)
6. ขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. กระบอกตวงขนาด 100 , 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. Fourier Transform Infrared Spectrophotometer
9. Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer

3.2 ขั้นตอนการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างของพืชที่สนใจวิเคราะห์ในที่นี้คือ เปลือกต้นกำลังเสือโคร่งนำมาผึ่งแดดให้แห้งบดจนละเอียด
2. นำส่วนที่ตากแห้งและบดจนละเอียดแล้วมาแช่ในตัวทำละลายเฮกเซน ทำการสกัดร้อนโดยแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่งโมง กรองแยกสารละลายเก็บไว้ แล้วนำกากไปทำการสกัดร้อนอีก 2 ครั้ง
3. นำสารละลายที่ได้จากการกรองทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จะเรียกส่วนนี้ว่าสารสกัดหยาบ
4. นำสารสกัดหยาบ มาแยกสารบริสุทธิ์โดยวิธี คอลัมน์โครมาโทกราฟี
5. การหาระบบของสารละลาย ที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ในชั้นตัวทำละลายต่างๆ ด้วย Thin Layer Chromatography (TLC)
6. การแยกสารให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี
7. การวิเคราะห์หาโครงสร้างของสาร ตรวจสอบได้โดยใช้ FTIR , FTNMR , MS

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

3.3.1.1 นำเปลือกของต้นกำลังเสือโคร่งบดละเอียดหนัก 5 กิโลกรัม แช่ในตัวทำละลายเฮกเซนที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมากรองเอาสารละลายที่ได้ (ทำ 3 ครั้ง)

3.3.1.2 ระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ วิธีนี้จะเป็นการระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันจนเกือบเป็นสุญญากาศ

3.3.1.3 ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบของชั้นเฮกเซนหาระบบสารละลายที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ในชั้นเฮกเซน เพื่อนำไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

3.3.2.1 นำสารสกัดหยาบ จากชั้นเฮกเซนมาใส่ขวดเก็บสารตัวอย่างขนาดเล็ก แล้วละลายด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

3.3.2.2 เนื่องจากสารที่แยกมาจากชั้นเฮกเซน สารที่ละลายในชั้นนี้ส่วนใหญ่จะไม่มีขั้ว หรือมีขั้วน้อยมาก ดังนั้นตัวทำละลายที่เลือกใช้จึงค่อนข้างจะมีขั้วน้อย ซึ่งในที่นี้จะใช้เฮกเซนกับเอทิลอะซีเตตมาเทียบอัตราส่วนกันเพื่อหาระบบสารละลายที่เหมาะสม

3.3.2.3 ตัดแผ่น TLC Plate ขนาด 2 × 5 เซนติเมตร ทำการจุดสารสกัดหยาบที่ละลายแล้ว ลงบนแผ่น TLC 2 จุด โดยแต่ละจุดมีความเข้มต่างกัน

3.3.2.4 เตรียม TLC chamber โดยมีกระดาษกรองวางด้านใน chamber และเตรียมกระจกไว้ปิด

3.3.2.5 ทดสอบอัตราส่วนของสารละลายที่ค่าต่างๆ โดยเริ่มจากสารละลายในอัตราส่วน 50 : 50 แล้วจึงลดหรือเพิ่มสารละลายชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับการแยกสารในสารสกัดหยาบบนแผ่น TLC

3.3.2.6 จุ่มแผ่น TLC ที่เตรียมได้ลง chamber ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ไปถึงระดับ Solvent front ที่กำหนดไว้

3.3.2.7 ในกรณีที่สารเป็นทางยาวจะใช้บิวทานอล 2-3 หยด ผสมในสารละลาย เพื่อช่วยในการแยกสารจากกันดียิ่งขึ้น

3.3.2.8 ผลการทดลองที่เกิดขึ้นจะแสดงว่าสารที่แยกได้เป็นอย่างไร ถ้าสารสามารถแยกเห็นเป็นจุดอย่างชัดเจนแสดงว่าอัตราส่วนที่ผสมใน TLC chamber เป็นระบบสารละลายที่เหมาะสม แต่ถ้ายังไม่พบต้องทำการเพิ่มหรือลดอัตราส่วนของสารละลายเพื่อให้ได้ระบบสารละลายที่เหมาะสม

3.3.2.9 นำแผ่น TLC ไปทดลองการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร

3.3.2.10 นำแผ่น TLC ที่ได้ไปย้อมด้วย developing solvent โดยวางแผ่น TLC ไว้บนกระจกนำสำลีชุบ developing solvent ป้ายให้ทั่วแผ่น จากนั้นนำไปอุ่นบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) ที่อุณหภูมิ ประมาณ 50 องศาเซลเซียส จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของจุดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดขึ้น

3.3.2.11 นำระบบสารละลายที่หาได้ไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

3.3.3 การแยกสารที่อยู่ในชั้นเฮกเซน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทรกราฟี

3.3.3.1 เตรียมคอลัมน์โดยใช้ขาตั้ง และ ที่จับยึดคอลัมน์ ให้ตั้งฉากกับพื้น

3.3.3.2 ทำการบรรจุคอลัมน์ โดยใช้ silica gel เบอร์ 1.07729.1000

3.3.3.3 บรรจุ silica gel โดยเทียบจากน้ำหนักของสารสกัดในอัตราส่วน 1 : 40 [น้ำหนักสารสกัด (กรัม) : น้ำหนักซิลิกาเจล (กรัม)] ลงขวดรูปชมพู่ แล้วใช้สารละลายที่มีขั้วต่ำสุดในระบบตัวทำละลาย ผสมกับ silica gel ให้เข้ากัน

3.3.3.4 ใช้สำลีอุดคอลัมน์ โดยหยดสารละลายให้ชุ่มสำลี

3.3.3.5 เท silica gel ที่ผสมสารละลายแล้วลงคอลัมน์ เบาๆ โดยไม่ให้มีรอยแตกหรือฟองอากาศอยู่

3.3.3.6 ปรับผิวหน้าของ silica gel ให้เรียบ โดยการใส่แมกนีเซียมซัลเฟตลงคอลัมน์

3.3.3.7 เตรียมสารสกัดหยาบ ในขวดก้นกลม ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลายเล็กน้อยแล้วผสม silica gel เบอร์ 453337 คนให้เข้ากัน แล้วระเหยสารละลายออกไป จากนั้นใส่สารสกัดหยาบ ที่ผสมกับ silica gel ลงคอลัมน์ โดยไม่ต้องทำการกลั้วขวดก้นกลม

3.3.3.8 ล้างข้างคอลัมน์ให้สะอาด โดยให้เหลือสารละลายอยู่เหนือสารสกัดหยาบ ให้น้อยที่สุด

3.3.3.9 ใช้สารละลายที่มีขั้วน้อยที่สุด ประมาณ 100 มิลลิเมตร เป็นตัวชะก่อนแล้วค่อยๆเพิ่มขั้วของสารละลายที่ออกจากคอลัมน์ ด้วยหลอดประมาณครึ่งหลอดพร้อมจดมายเลขทำการตรวจสอบสารในแต่ละหลอดที่ออกจากคอลัมน์ด้วยThin layer Chromatography (TLC) โดยเทียบกับสารสกัดหยาบ ถ้าสารที่ต้องการยังไม่ออกมา อาจต้องทำการเพิ่มขั้วสารละลายที่เป็นตัวชะ และทำการตรวจสอบทุกหลอดด้วยรังสี UV และ developing solvent

3.3.10 เมื่อพบว่ามีสารที่ต้องการแยกออกมาแล้ว ทำการจดบันทึกว่าเริ่มแยกออกจากหลอดจากหลอดที่เท่าใดและจำนวนเท่าใด

3.3.11 รวมสารที่มีอยู่ในหลอดลงขวดก้นกลม แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออก เมื่อได้สารบริสุทธิ์ที่อยู่ในขวดก้นกลมชั่งน้ำหนักสารที่ได้ออกมา และเก็บในตู้เย็นเพื่อทำการตรวจสอบและวิเคราะห์โครงสร้างสารในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1 ผลการสกัดตัวอย่างพืชด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

จากการทดลองได้นำเอาเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งที่มีน้ำหนัก 5 กิโลกรัม มาแช่ในอินทรีย์ในเฮกเซนชั้น หลังจากนั้นนำมากรองแล้วระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ พบว่ามีน้ำหนักของสารสกัดหยาบและเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (Crude Extract) ในชั้นเฮกเซน

ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ conversion
hexane	5.000	82.47	1.6494

4.2 ผลการศึกษาการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบทางเคมีจากสารสกัดชั้นเฮกเซน ด้วยเทคนิค ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) เพื่อนำไปใช้แยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

4.2.1 ผลการหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของสารสกัดในชั้นเฮกเซน ในแต่ละคอลัมน์

เมื่อนำสารสกัดจากชั้นเฮกเซน มาทำการทดสอบด้วย TLC โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่าง ๆ พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารสกัดชั้น เฮกเซนในแต่ละคอลัมน์แสดงได้ดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบของสารสกัดในชั้นเฮกเซนในคอลัมน์ต่างๆ

คอลัมน์	ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม
1	90% เฮกเซน : 10% เอทิลอะซีเตต (10 ml)
2	97%เฮกเซน : 3% เอทิลอะซีเตต (10 ml) + 2-บิวทานอล 3 หยด
3	95% เฮกเซน : 5% เอทิลอะซีเตต (10 ml)
4	95% เฮกเซน : 5% เอทิลอะซีเตต (10 ml)

4.2.2 ผลของการแยกสารสกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยแยกเป็นคอลัมน์ต่างๆ

ทำการแยกพิจารณาการแยกส่วนประกอบในสารสกัดในชั้น เฮกเซน ด้วย TLC โดยสังเกตจากตาเปล่า ทดสอบกับรังสี UV และ Developing Solvent ได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการแยกสารสกัดในชั้น เฮกเซน ด้วย TLC โดยสังเกตด้วยตาเปล่า, ทดสอบด้วยรังสี UV และ Developing Solvent

คอลัมน์ที่	สังเกตด้วยตาเปล่า (จุด)	สังเกตจาก UV 254 nm (จุด)	สังเกตจาก UV 366 nm (จุด)	Developing Solvent (จุด)
1	-	6	-	10
2	-	4	-	10
3	-	2	-	2
4	-	5	-	5

4.3 ผลการแยกสารสกัดชั้นตัวทำละลายเฮกเซนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยแยกเป็นคอลัมน์ต่างๆ

นำสารสกัดที่สกัดได้จากตัวทำละลายชั้นเฮกเซน มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีและทำการเก็บส่วนย่อย โดยเริ่มแรกใช้ 100% ของตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยกว่าเป็น เฟสเคลื่อนที่หลังจากนั้นเพิ่มขั้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้นไปจนถึง 100% ซึ่งคู่ของระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในคอลัมน์ต่างๆ ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งได้จำนวนส่วนย่อยที่แยกได้ตามคอลัมน์ต่างๆดังนี้

4.3.1 ผลของการแยกส่วนประกอบชั้น hexane ในคอลัมน์ที่ 1

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-Hexane-Crude 25 g.

Stationary Phase : Silica gel เบอร์ 1.07729.1000

Solvent system : 1. ใช้ เฮกเซนเป็นเฟสเคลื่อนที่

2. เฮกเซนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซีเตต

3. ปริมาณที่เก็บขวดละ 20 ml.

ตารางที่ 4.4 การเก็บส่วนย่อย ในการแยกสารสกัดชั้นเฮกเซน ในคอลัมน์ที่ 1

Eluent	Fraction No.
100% เฮกเซน	1-19
95% เฮกเซน : 5% เอทิลอะซีเตต	20-51
90% เฮกเซน : 10% เอทิลอะซีเตต	52-145
85% เฮกเซน : 15%เอทิลอะซีเตต	146-204
100% เอทิลอะซีเตต	205-233

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บจากคอลัมน์ด้วย TLC แล้วรวมส่วนย่อยที่ให้ผลเหมือนกันได้ดังตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การรวมส่วนประกอบที่แยกได้ของสารสกัดชั้น เฮกเซนในคอลัมน์ที่ 1

No.	Fraction ขวดที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)	*ลักษณะสีหลังจากทดสอบกับ Developing Solvent
1	1-45	ของเหลว	131.4276	สีม่วง
2	46-75	ผลึกรูปเข็ม/ทรงกลม	4.46	สีม่วง เขียว ชมพู
3	76-144	ของเหลวหนืดสีเหลือง	54.4581	สีน้ำเงิน น้ำตาล
4	145-204	ของเหลวหนืดสีเหลือง/ผลึกทรงกลม	15.0348	สีเขียว
5	205-233	ของเหลวสีดำ	22.9398	สีเขียว เทา

*สีที่อธิบายอยู่ในตารางจะเรียงตามลำดับจากบนลงล่างของแผ่น TLC

4.3.2 ผลของการแยกส่วนประกอบชั้น เฮกเซน ในคอลัมน์ที่ 2

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-Hexane-P.14/F(46-75) / น้ำหนัก 4.46 กรัม

Stationary Phase : Silica gel เบอร์ 453337

Solvent system : 1. ใช้ เฮกเซน เป็น เฟสเคลื่อนที่

2. เฮกเซน เพิ่มความเป็นขั้วด้วย เอทิลอะซีเตต

3. 2-บิวทานอล

4. ปริมาณที่เก็บขวดละ 10 ml.

ตารางที่ 4.6 การเก็บ fraction ในการแยกสารสกัดชั้น hexane ในคอลัมน์ที่ 2

Eluent	Fraction No.
100% เฮกเซน	1-55
99% เฮกเซน : 1% เอทิลอะซีเตต	56-276

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บจากคอลัมน์ด้วย TLC แล้วรวมส่วนย่อยที่ให้ผลเหมือนกันได้ดังตารางที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงการรวมส่วนประกอบที่แยกได้ของสารสกัดชั้น เฮกเซน ในคอลัมน์ที่ 2

No.	Fraction ขวดที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)	*ลักษณะสีหลังจากทดสอบกับ Developing Solvent
1	2-36	คราบสีขาว	0.0021	สีม่วง
2	37-107	ของเหลวสีเหลืองอ่อน	13.1532	สีม่วง
3	108-116	ผลึกสีเหลือง	9.9127	สีม่วง
4	117-122	ผลึกสีขาวผสมอยู่ในของเหลวสีเหลือง	0.7712	สีเขียว น้ำเงิน
5	123-174	ของเหลวสีเหลือง	128.2323	สีเขียว ม่วง
6	175-181	ของเหลวใส	71.0111	สีเขียว ม่วง เทา
7	182-246	ของเหลวใส	5.3517	สีม่วง
8	247-276	ของเหลวใส	168.4742	สีม่วง

*สีที่อธิบายอยู่ในตารางจะเรียงตามลำดับจากบนลงล่างของแผ่น TLC

4.3.3 ผลของการแยกส่วนประกอบชั้น เฮกเซนในคอลัมน์ที่ 3

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (L)

Stationary Phase : Silica gel เบอร์ 453337

Solvent system : 1. ใช้ เฮกเซน เป็น เฟสเคลื่อนที่

2. เฮกเซน เพิ่มความเป็นขั้วด้วย เอทิลอะซีเตต

3. ปริมาณที่เก็บขวดละ 10 ml.

ตารางที่ 4.8 แสดงการเก็บ ส่วนย่อยในการแยกสารสกัดชั้น เฮกเซน ในคอลัมน์ที่ 3

Eluent	Fraction No.
100% เฮกเซน	1-76
98% เฮกเซน : 2% เอทิลอะซีเตต	77-106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการตรวจสอบสารที่เก็บจากคอลัมน์ด้วย TLC แล้วรวม ส่วนย่อยที่ให้ผลเหมือนกันได้ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงการรวมส่วนประกอบที่แยกได้ของสารสกัดชั้นเฮกเซน ในคอลัมน์ที่ 3

No.	Fraction ขวดที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)	*ลักษณะสีหลังจากทดสอบกับ Developing Solvent
1	1-34	ผลึกสีขาวในของเหลวสีเหลือง	12.3132	สีเหลือง
2	35-42	ผลึกสีขาว	0.0055	สีส้ม
3	43-106	ของเหลวหนืดสีเหลือง	14.1957	-

*สีที่อธิบายอยู่ในตารางจะเรียงตามลำดับจากบนลงล่างของแผ่น TLC

4.4 การทำสารให้บริสุทธิ์ (Purification)

ในการแยกสารให้บริสุทธิ์นั้นเราจะเลือกนำส่วนประกอบที่น่าสนใจมาทำการวิเคราะห์โดยดูการแยกของสารจากแผ่น TLC หรือดูลักษณะสารที่น่าสนใจกล่าวคือ อาจมีการตกผลึกหรือแยกได้ง่าย

4.4.1 ผลการทดสอบด้วย TLC ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) และ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) โดย ระบบสารละลายที่ใช้คือ 97% hexane : 3% ethyl acetate

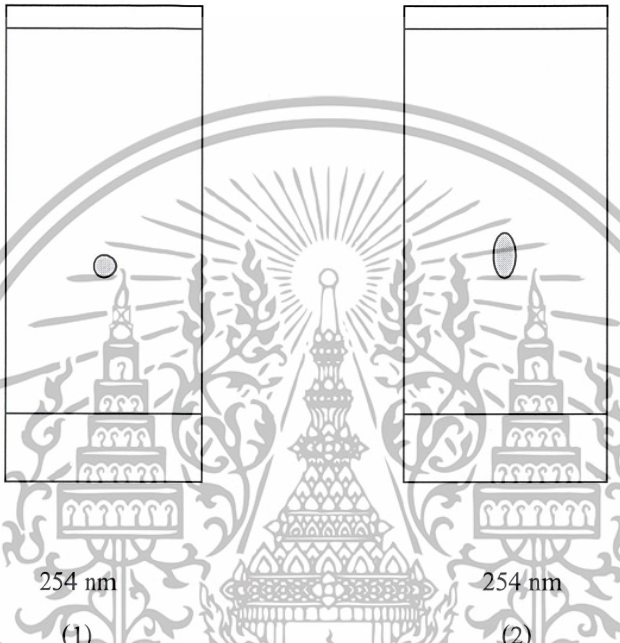
ตารางที่ 4.10 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้นเฮกเซน ด้วย TLC โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า

สาร	ผลการสังเกต
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)	ไม่พบจุดของสาร
ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)	ไม่พบจุดของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น เฮกเซน ด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV

สาร	UV 254 nm	UV 366 nm
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)	1 จุด	-
ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)	1 จุด	-



รูปที่ 4.1 แสดงการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น เฮกเซนด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm โดย

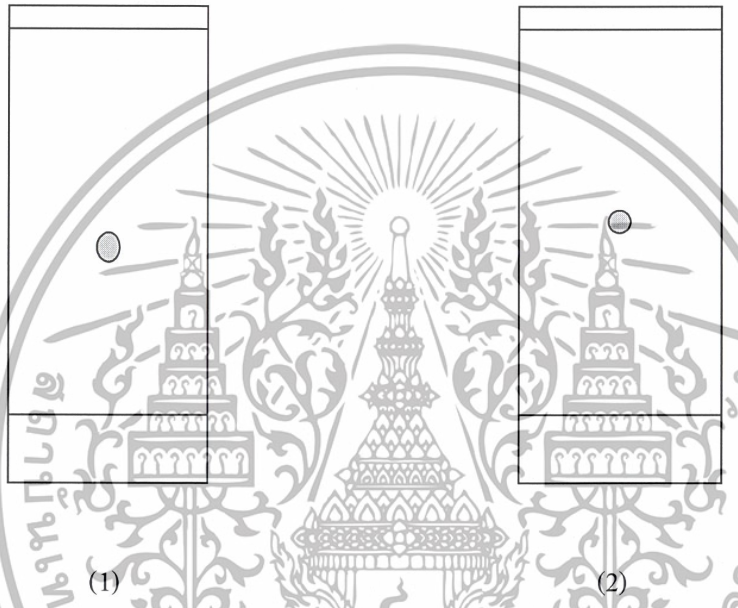
(1) ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)

(2) ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้นเฮกเซนด้วย TLC โดยการทดสอบกับ Developing Solvent

สาร	ผลการทดสอบ
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)	1 จุด
ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)	1 จุด



(1) (2)

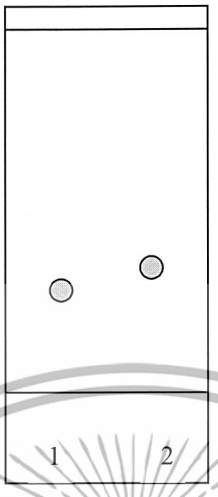
รูปที่ 4.2 แสดงการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้น เฮกเซน ด้วย TLC โดยการทดสอบกับ Developing Solvent โดย

(1) ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)

(2) ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)

4.4.2 ผลการทดสอบด้วย TLC แผ่นเดียวกันระหว่าง ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) กับ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) โดยการทดสอบกับ Developing Solvent ซึ่ง Solvent System ที่ใช้คือ 95% Hexane : 5% ethyl acetate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงการแยกส่วนประกอบทางเคมีที่น่าสนใจในชั้นเฮกเซน ด้วย TLC แผ่นเดียวกัน โดยการทดสอบกับ Developing Solvent โดย

(1) ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)

(2) ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)

จากแผ่น TLC จะเห็นจุดของสารทั้งสองชนิดขึ้นใกล้เคียงกัน และมีสีที่เหมือนกันคือ สีม่วงชมพู ซึ่งอาจจะเป็นสารตัวเดียวกันก็ได้ แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ต้องยืนยันจากผลของ NMR อีกครั้งหนึ่ง

4.4.3 ผลการแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

สามารถแยกสารที่น่าสนใจในสารสกัดจากชั้นเฮกเซน ได้ 2 ตัวจาก ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) ทั้งจากส่วนที่เป็นผลึกและของเหลวดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงน้ำหนักและ R_f ของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์จาก	น้ำหนัก (กรัม)	% weight เทียบกับ Crude*	% weight เทียบกับ ตัวอย่าง สมุนไพร	รหัส	R_f**
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)	0.0580	0.2320	1.16×10^{-3}	ZA(SB)-Hexane-P.27/F (117-122) (S)	0.1591
ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (L)	0.0055	0.0220	1.1×10^{-4}	ZA(SB)-Hexane-P.35/F (35-42)	0.2045

*น้ำหนัก crude ที่แยกด้วยคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว

**Solvent System : 95% hexane : 5% ethyl acetate

4.5 การตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

- ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) มีปริมาณมากพอ สามารถทดสอบหาจุดหลอมเหลว และตรวจสอบหาโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR IR DEPT

- ZA(SB)-Hexane-P.27/F(35-42) มีปริมาณน้อยมากจึงสามารถทำการตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR เท่านั้น

4.5.1 ผลการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

1. การตรวจสอบโครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S)

ข้อมูลจากเทคนิค ^{1}H-NMR (รูปที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) จาก ^{1}H-NMR Spectra

δ(ppm)	Type of peak	Integration of peak	Available functional group
0.72	Singlet	3H	$-CH_3$
0.87	Singlet	6H	$-CH_3$ 2group
0.95	Singlet	3H	$-CH_3$
1.00	Singlet	6H	$-CH_3$ 2group
1.05	Singlet	3H	$-CH_3$
1.18	Singlet	3H	$-CH_3$
1.20-1.80	Multiplet	28H	$-CH_2$, -CH
1.91-2.01	Multiplet	1H	-CH
2.18-2.45	Multiplet	3H	$-CH_2$, -CH

ข้อมูลจากเทคนิค ^{13}C-NMR เมื่อเทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90(รูปที่ 4.7, 4.8, 4.9)

ตารางที่ 4.15 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) จาก ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT

δ(ppm)	Available functional group
213.1	-C-(ketone)
59.5	-CH
58.2	-CH
53.1	-CH
42.8	-CH
42.1	-C-
41.5	$-CH_2$
41.3	$-CH_2$
39.7	-C-
39.2	$-CH_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 (ต่อ) แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) จาก ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT

δ(ppm)	Available functional group
38.3	-C-
37.44	-C-
36.0	$-CH_2$
35.6	$-CH_2$
35.3	$-CH_2$
35.0	$-CH_3$
32.8	$-CH_2$
32.4	$-CH_2$
32.1	$-CH_3$
31.8	$-CH_3$
30.5	$-CH_2$
30.0	-C-
28.2	-C-
22.7	$-CH_2$
20.2	$-CH_3$
10.7	$-CH_3$
18.2	$-CH_2$
17.9	$-CH_3$
14.64	$-CH_3$
6.8	$-CH_3$

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลของ ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT แล้วจึงสรุปได้ว่าสาร ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) มี methyl carbon ($-CH_3$) 8 ตัว, methylene carbon ($-CH_2$) 11 ตัว, methine carbon (-CH) 4 ตัว, quaternary carbon (-C-) 6 ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการพิจารณาสเปกตรัมจาก DEPT 135 และ DEPT 90

พิจารณาพีคที่เป็น positive DEPT 135 ที่ตรงกับ DEPT 90 จะแสดงถึง methine carbon (-CH)

พิจารณาพีคที่เป็น positive DEPT 135 ที่ไม่ตรงกับ DEPT 90 จะแสดงถึง methyl carbon ($-CH_3$)

พิจารณาพีคที่เป็น negative DEPT 135 จะแสดงถึง methylene carbon ($-CH_2$)

และพีคในสเปกตรัม ^{13}C-NMR ที่มีตำแหน่งไม่ตรงกับพีคใดๆใน DEPT 135 และ DEPT 90จะแสดงถึง quaternary carbon (-C-)

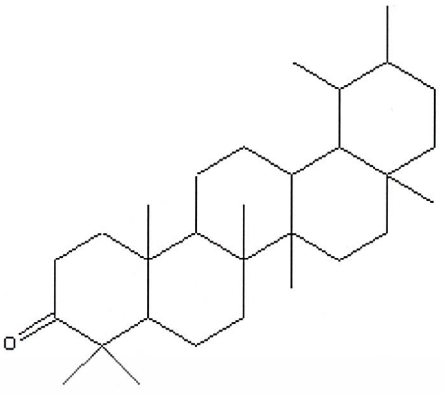
ข้อมูลจากเทคนิค IR (รูปที่ 4.10)

จากข้อมูล IR(KBr) Spectra พบที่ 1,715.28 cm^{-1} บ่งบอกว่ามีหมู่คาร์บอนิลของคีโตน และพบที่ 2,927.67 cm^{-1} บ่งบอกว่ามี C-H stretching ส่วนสัญญาณที่ตั้งแต่ 3,450-4,000 cm^{-1} บ่งบอกว่าเป็น H_2O ใน KBr (Inorganic Salt) ซึ่งใช้เป็นตัวกลางในการบันทึกข้อมูล IR ไม่ใช่หมู่ Hydroxy Group (-OH)

ดังนั้นจากข้อมูลทาง Spectroscopy ทั้งจาก NMR และ IR โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) สามารถคาดเดาได้ว่าน่าจะเป็นสารจำพวก Triterpene ที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ มีคาร์บอนอะตอมประมาณ 30 อะตอม มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือ หมู่คาร์บอนิลของคีโตนในโมเลกุล โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) ที่คาดว่าจะเป็นไปได้คือ

รูปที่ 4.4 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Oleanane-3-one

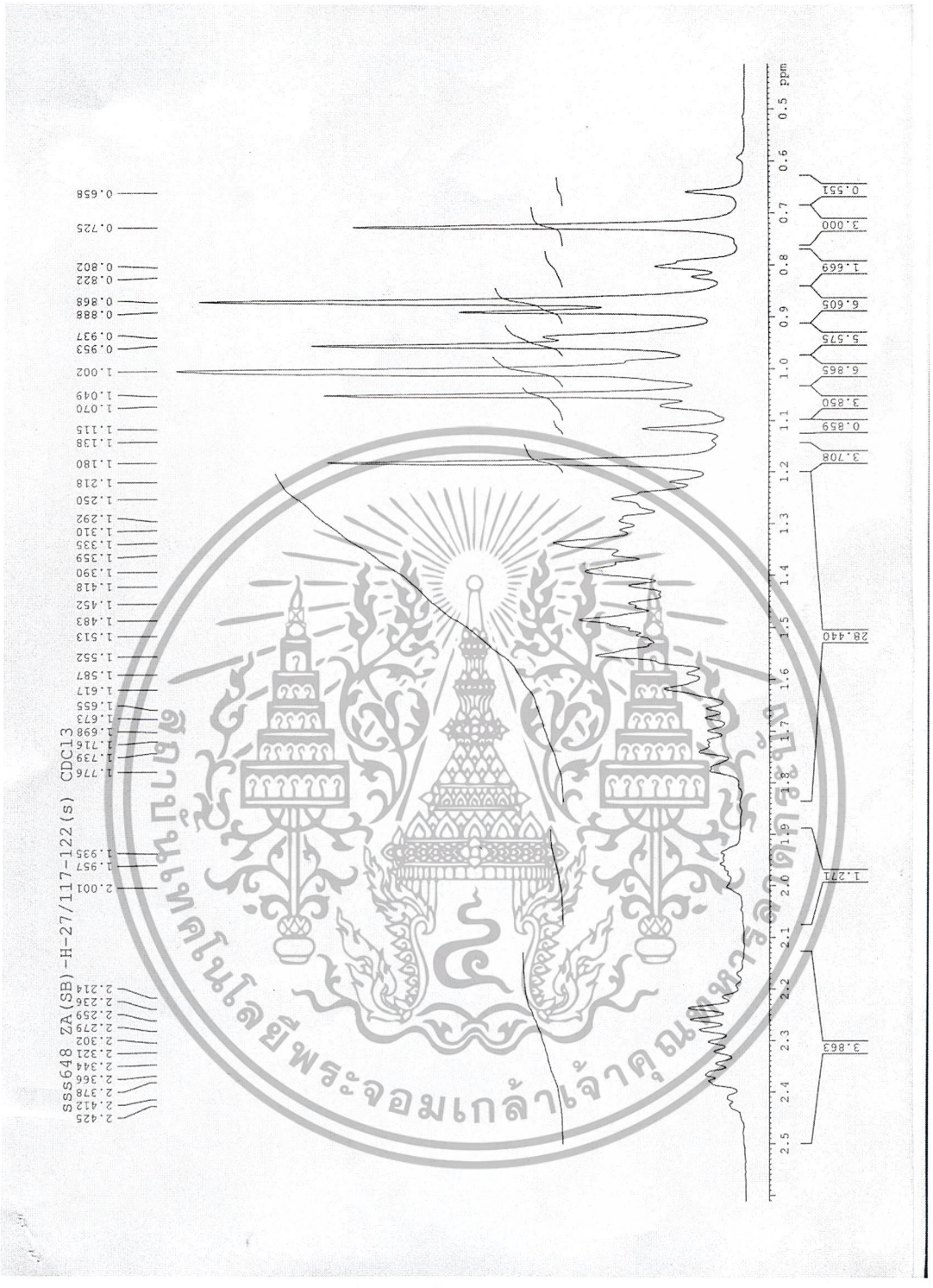
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Ursane-3-one

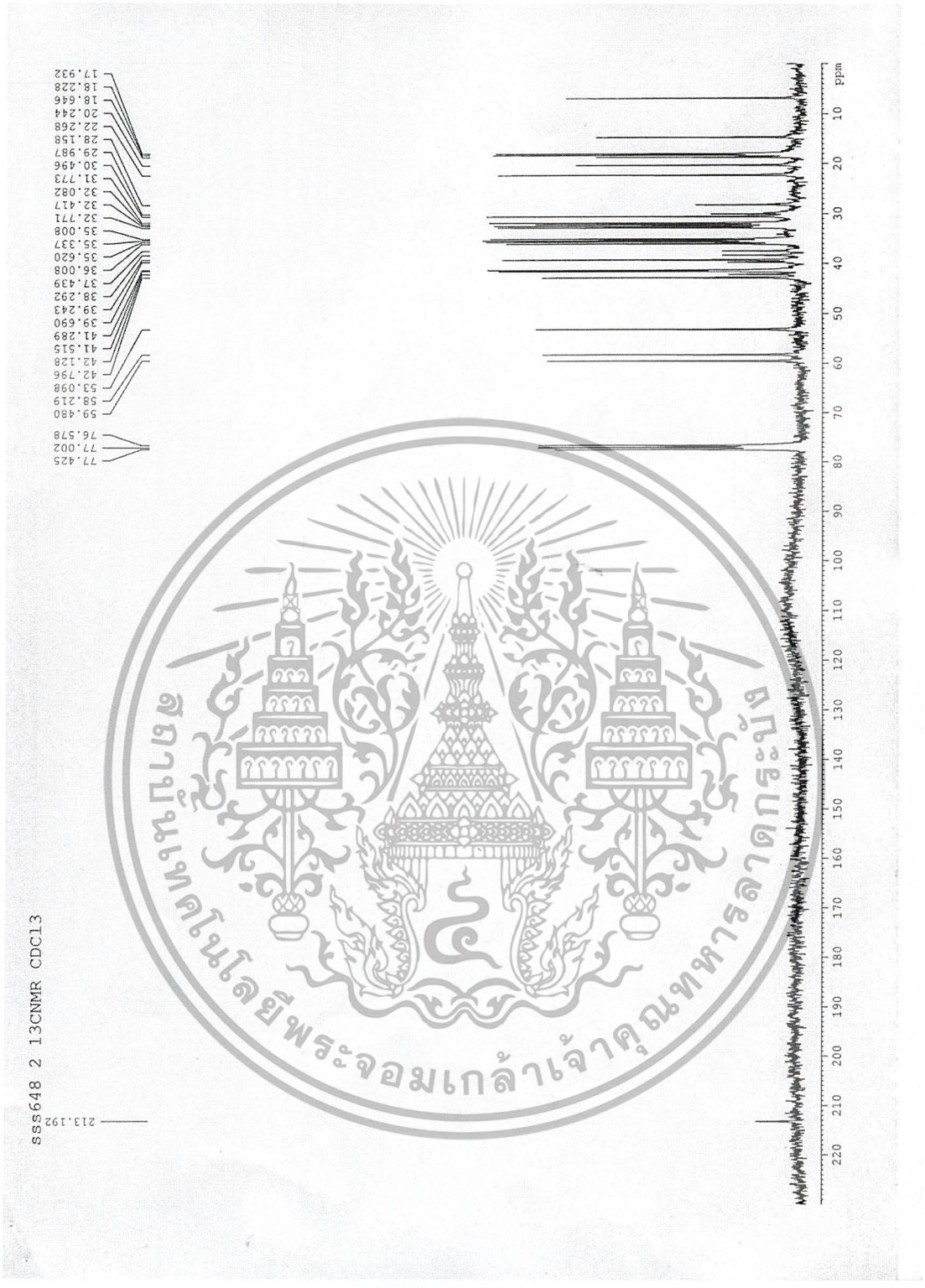
แต่เมื่อพิจารณาจากผลของ ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT จะเห็นว่าโครงสร้างของ Ursane-3-one มี methine carbon (-CH) 6 ตัว ซึ่งขัดกับผลของสัญญาณที่บอกว่ามี 4 ตัวดังนั้นจากข้อมูลสามารถสรุปได้ว่าสาร ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) ซึ่งมีปริมาณ 0.232 กรัมโดยน้ำหนักของสารสกัดเบื้องต้นมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว คาดว่าเป็นสารจำพวก Triterpene ซึ่งน่าจะมีโครงสร้างเป็น คีโตนของ Oleanane หรือ Ursane และจากข้อมูลทาง Biosynthesis pathway พบว่าอาจจะเป็น Oleanane-3-one หรือ Ursane-3-one แต่เมื่อพิจารณาจากข้อมูล ^{13}C-NMRเทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90อย่างถี่ถ้วนแล้วสามารถเป็น Oleanane-3-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



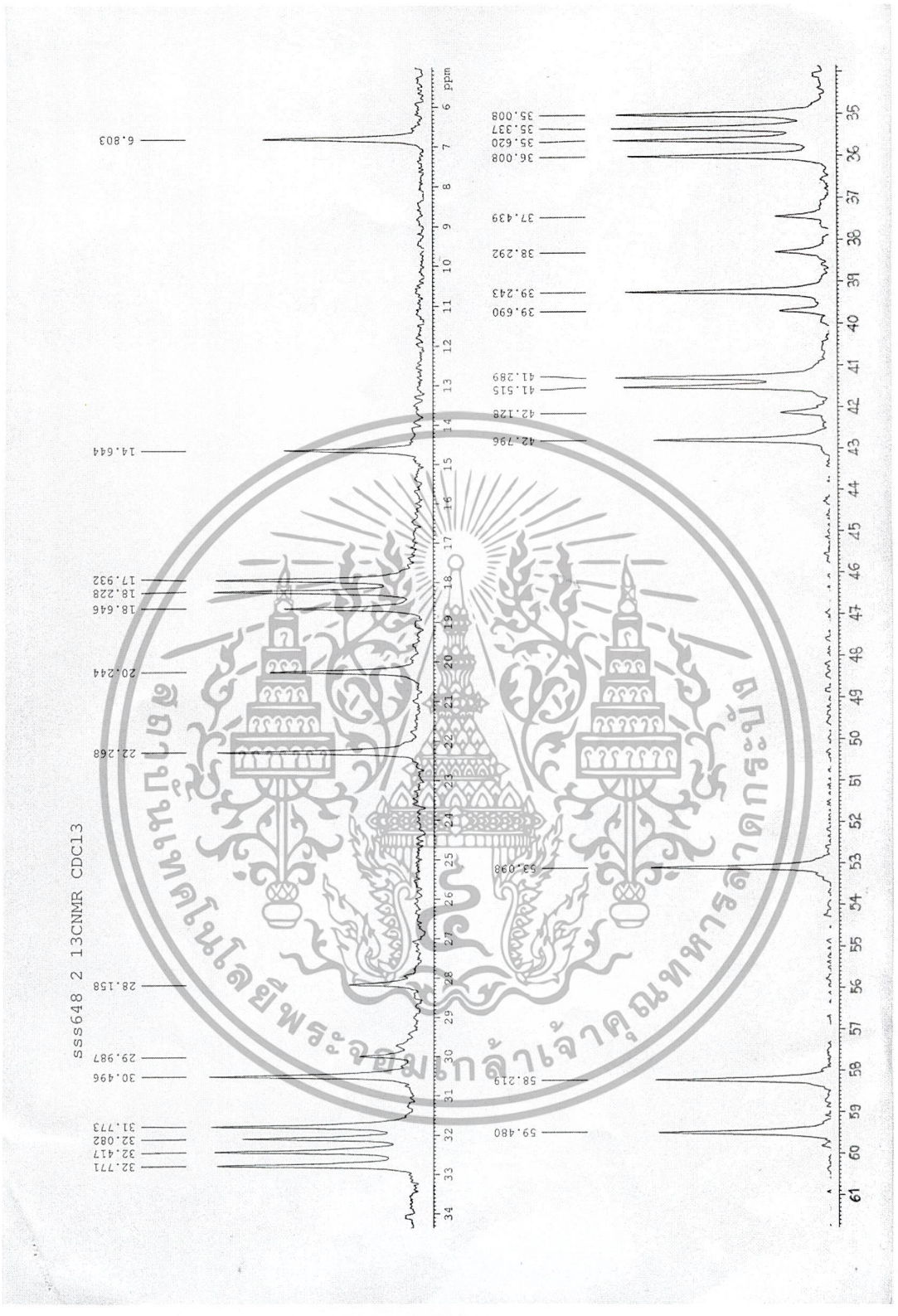
รูปที่ 4.6 แสดง ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



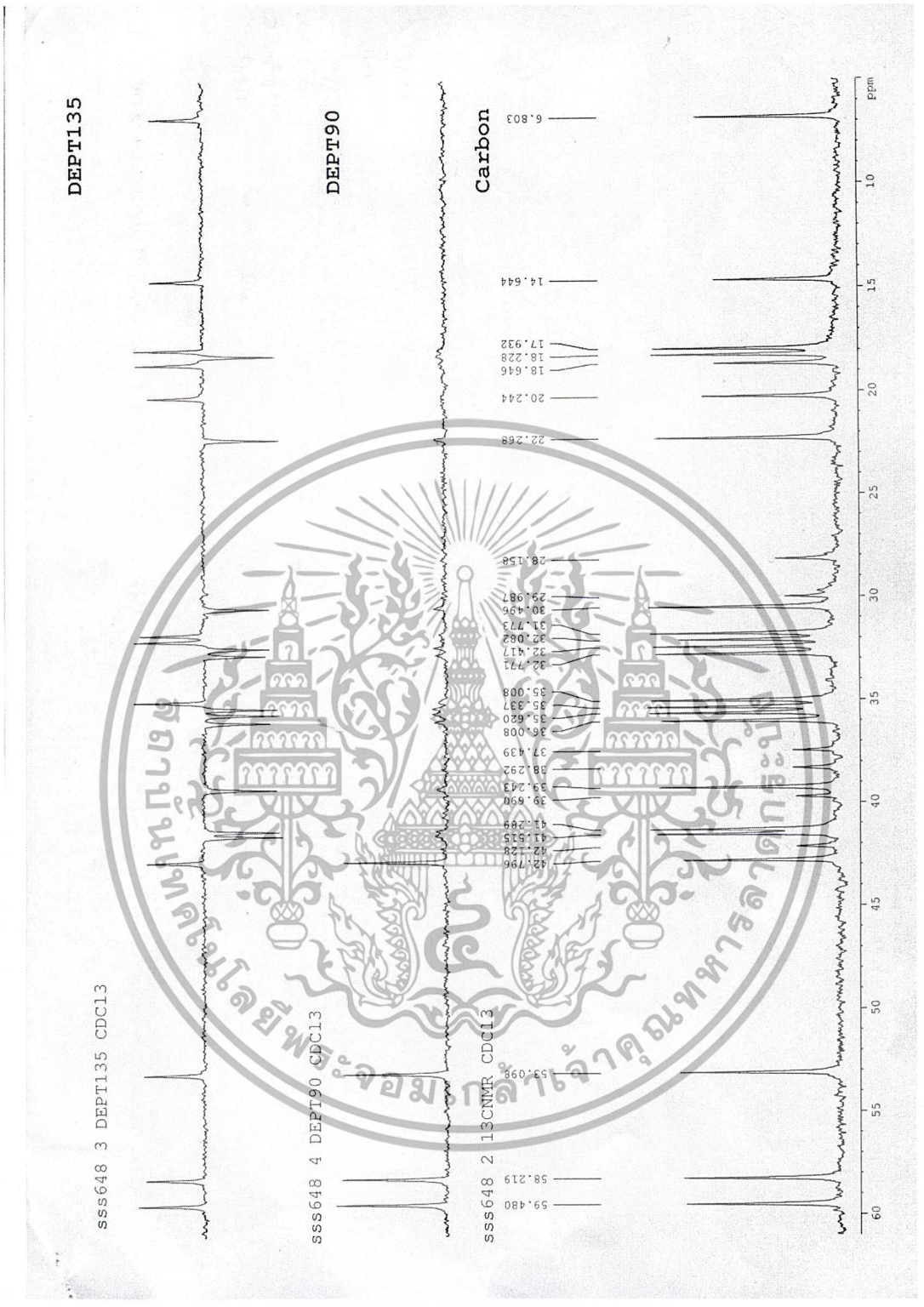
รูปที่ 4.7 แสดง ^{13}C-NMR Spectra ก่อนขยายสัญญาณของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



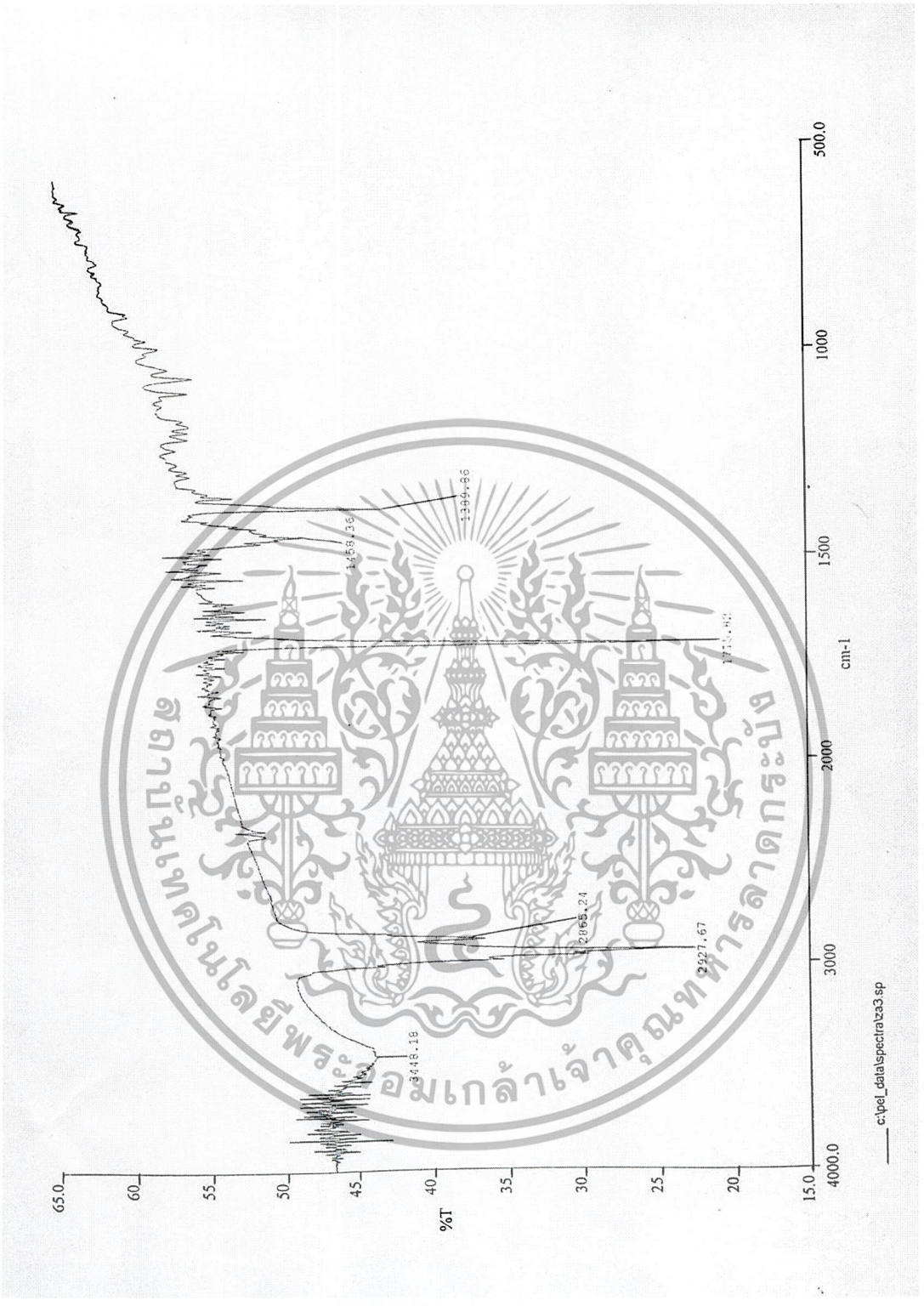
รูปที่ 4.8 แสดง ^{13}C-NMR Spectra หลังขยายสัญญาณของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดง ^{13}C-NMR Spectra เมื่อเทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90 ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดง IR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การตรวจสอบโครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)

ข้อมูลจากเทคนิค ^{1}H-NMR (รูปที่ 4.11)

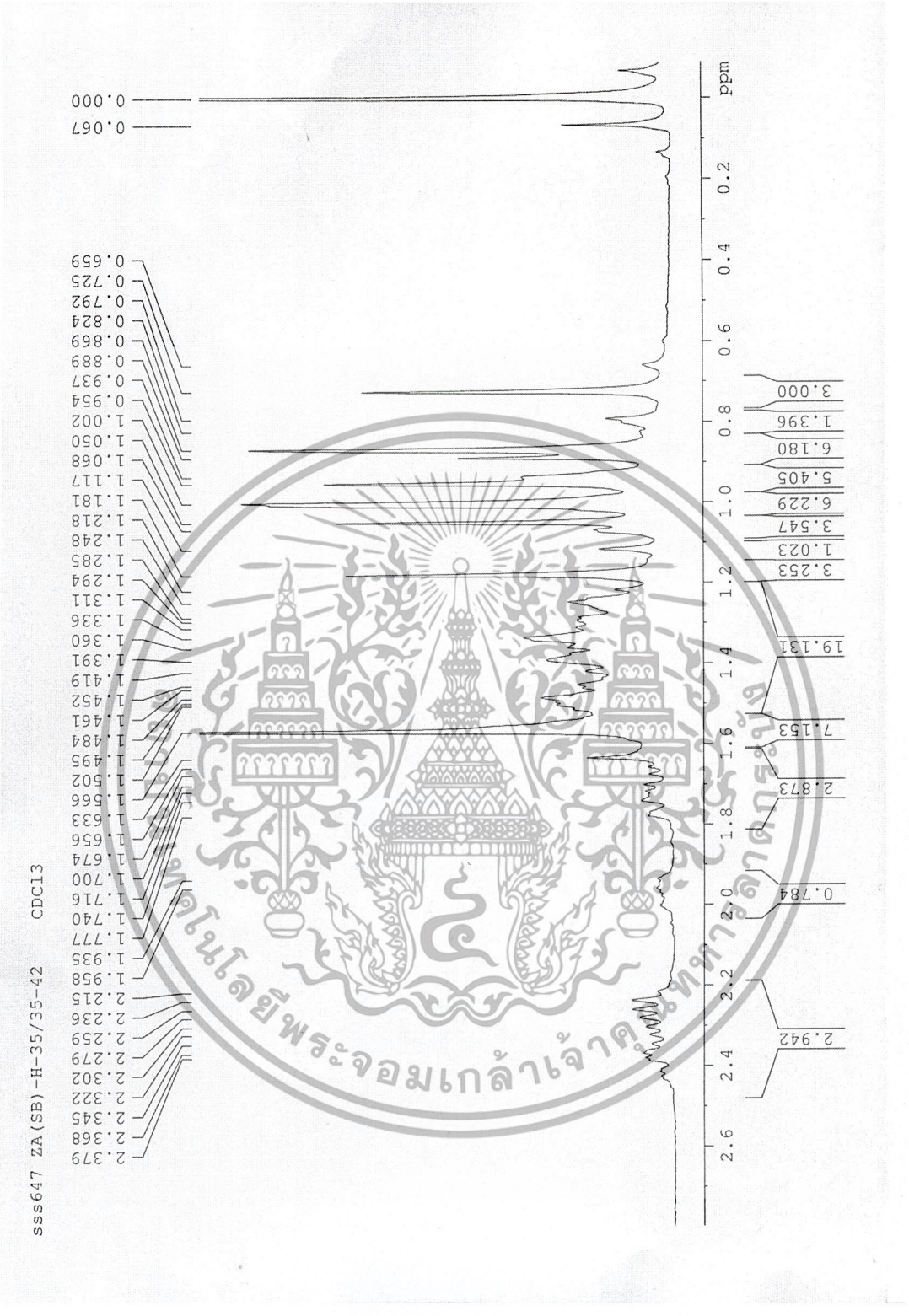
ตารางที่ 4.16 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) จาก ^{1}H-NMR Spectra

δ(ppm)	Type of peak	Integration of peak	Available functional group
0.72	Singlet	3H	$-CH_3$
0.87	Singlet	6H	$-CH_3$ 2group
0.95	Singlet	3H	$-CH_3$
1.00	Singlet	6H	$-CH_3$ 2group
1.05	Singlet	3H	$-CH_3$
1.18	Singlet	3H	$-CH_3$
1.20-1.80	Multiplet	28H	$-CH_2$, -CH
1.91-2.01	Multiplet	1H	-CH
2.18-2.45	Multiplet	3H	$-CH_2$, -CH

หมายเหตุ ส่วนสัญญาณที่ δ (1.566 ppm) คาดว่าเป็นสัญญาณของ H_2O ซึ่งอาจมาจากสารที่มีความชื้นปนอยู่

ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากผล TLC และ ^{1}H-NMR จึงสามารถสรุปได้ว่าสาร ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) เป็นสารชนิดเดียวกันกับ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 แสดง ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะจากผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. สามารถสกัดสารจากตัวอย่างเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ได้สารสกัดหยาบ (Crude Extract) 1.6494% ของน้ำหนักพืชตัวอย่าง

2. สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (Ziziphus attpoensis Pierre ST) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีได้ โดยสามารถแยกสารสกัดจากชั้น เฮกเซน ได้ 15 ส่วนประกอบ ซึ่งสารสกัดในชั้นเฮกเซน ประกอบด้วย ของเหลวหนืด น้ำ แวกซ์ น้ำมันหอมระเหย รวมทั้งมีส่วนที่เป็นของแข็งซึ่งเป็นผลึกสีขาว

3. สามารถแยกสารบริสุทธิ์ จากสารสกัดชั้นเฮกเซน ส่วนประกอบที่ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122) (S) ได้ด้วยเทคนิค NMR, IR ดังต่อไปนี้

- จากข้อมูล ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) พบสัญญาณที่ตั้งแต่ δ (2.5-0.6 ppm)

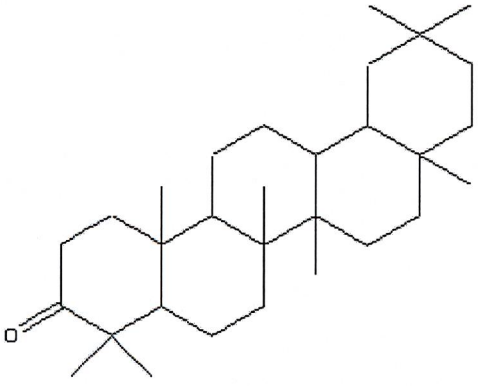
- จากข้อมูล ^{13}C-NMR พบสัญญาณประมาณ 30 คาร์บอน พบหมู่ Cabonyl of Ketone ที่ δ (212.7 ppm) และพบสัญญาณที่ 29 คาร์บอน ช่วง Chemical Shift ตั้งแต่ δ (60-6.49 ppm)

- จากข้อมูล ^{13}C-NMR เทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90 แล้วสรุปได้ว่ามี methyl carbon ($-CH_3$) 8ตัว, methylene carbon ($-CH_2$) 11ตัว, methine carbon (-CH) 4ตัว, quaternary carbon (-C-) 6 ตัว

- จาก TLC พบว่าสารตัวนี้ให้สีม่วงกับ anisaldehyde reagent ซึ่งเป็น developing solvent ที่ใช้ในการทดลอง และให้สี UV ที่ ความยาวคลื่น 254 nm. สีชมพู และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าพืชในสกุลนี้พบ Triterpene ประเภท Oleanane หรือ Ursane เท่านั้น

- จากข้อมูล ^{13}C-NMRเทียบกับ DEPT 135 และ DEPT 90 และจากข้อมูลทาง Biosynthesis pathway พบว่าสามารถเป็น Oleanane-3-one ได้เพียงชนิดเดียวเพราะมีสัญญาณตรงกับข้อมูลทุกตัว ดังนั้นโครงสร้างที่เป็นไปได้คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.1 โครงสร้างของ Triterpene ประเภท Oleanane-3-one

4. จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR และ TLC สามารถบอกได้คร่าวๆว่าสาร ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) น่าจะเป็นสารชนิดเดียวกับ ZA(SB)-Hexane-P.27/F(117-122)(S) คือ Oleasane-3-one เนื่องจากผลของ ^{1}H-NMR spectra มีสัญญาณที่ขึ้นใกล้เคียงกัน แสดงดังตารางที่ 4.14 และ 4.16 และจาก TLC ให้ผลที่คล้ายกันแสดงในหัวข้อ 4.4.2

หมายเหตุ เนื่องจากสาร ZA(SB)-Hexane-P.35/F(35-42) มีปริมาณน้อย จึงสามารถวิเคราะห์ได้เฉพาะเทคนิค ^{1}H-NMR เท่านั้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากมีสารที่น่าสนใจอีกหลาย Fraction เช่น ZA(SB)-Hexane-P.17/F(147-204) เพราะเมื่อดูจากลักษณะสารและผลจาก TLC แล้วมีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถแยกออกมาได้ง่าย จึงควรมีการนำมาศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อหาสารบริสุทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. R.Tscheche, I. Khokhar. 1974. Alkaloide aus Rhamnaceen. **Tetrahedron** 1974 (34) : 2941-2944.
2. R.Tscheche, G.a.Miana and G. Eckhardt. 1974. **Alkaloide aus Rhamnaceen . Chem. Ber.** 1974 (107) : 3180-3185.
3. R.Tscheche, E.U. Kaubmann and G. Eckhardt. 1973. Alkaloide aus Rhamnaceen. **Tetrahedron** 1973 (28) : 2577-2580.
4. R.Tscheche, E.U. Kaubmann and Fehlhaber. 1972. **Alkaloide aus Rhamnaceen . Chem. Ber.** 1972 (105) : 3094-3105.
5. R.Tscheche, David, Uhlendort and Fehlhaber. 1972. **Alkaloide aus Rhamnaceen . Chem. Ber.** 1972 (105) : 3106-3114.
6. ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545. **การศึกษาหาองค์ประกอบจากรากของเล็บเหยี่ยว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
7. สมทบ สันติเบ็ญจกุล. 2540. **การหาองค์ประกอบทางเคมีในสมุนไพรธรรมชาติ.** โครงงานพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้