สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง ในชั้นเอทิลอะซิเทต

T049430

นางสาวจีนุช ปาทาน รหัส 42050061
นางสาวมณีรัตน์ บริสุทธิ์พานิช รหัส 42050102
นางสาววนันธร กิจวานิชเสถียร รหัส 42050107

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 49430
วัน, เดือน, ปี 23 ก.พ. 2547
.....
.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Chemical Constitutes of *Zizyphus attopoensis* in Ethyl Acetate Extract

Miss.Kageenut Pathan 42050061

Miss.Maneerat Borisootpanit 42050102

Miss.Wananthorn Kitvanichsatain 42050107

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 การหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis*) ในชั้นเอทิลอะซิเตท

นักศึกษา นางสาวขจีนุช ปาทาน
นางสาวมณีรัตน์ บริสุทธิ์พานิช
นางสาววนันธร กิจวานิชเสถียร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์
รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ
ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2545

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis*) ในสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท โดยการนำเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งที่แห้ง (5 กก.) มาบดละเอียดและทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (25กรัม) มาแยกและตรวจสอบโดยวิธีโครมาโทกราฟีพบว่าได้ 10 ส่วนย่อย แล้วนำส่วนย่อยที่ 6 และ 9 มาทำการแยกส่วนย่อยทางเคมีต่อโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี พบว่าได้สารประกอบเกลือจากกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 คือ ZA(SB)-EtOAc -P_{75}/F_{621} โดยใช้ระบบตัวทำละลาย (เฮกเซน:เอทิลอะซิเตท, 1:1) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวปนเหลือง และได้สารบริสุทธิ์จากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 คือ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} (ไดคลอโรมีเทน:เอทิลอะซิเตท, 2:8) มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง จากการตรวจสอบโครงสร้างสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคทางสเปกโทรสโคปี โดยการเปรียบเทียบข้อมูลสเปกโทรสโคปีกับที่มีรายงานไว้แล้ว พบว่าสารที่ได้มีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประกอบจำพวก Phenolic Compound คือ Epicatechin ซึ่งจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง Epicatechin ใช้เป็นสารที่ต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน และใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาหาส่วนประกอบทางเคมีจากส่วนเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis*)ในชั้นเอทิลอะซิเตต	
นักศึกษา	นางสาวขจีนุช ปาทาน	รหัส 42050061
	นางสาวมณีรัตน์ บริสุทธิ์พานิช	รหัส 42050102
	นางสาววนันธร กิจวานิชเสถียร	รหัส 42050107
ภาควิชา	เคมี	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2545	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.พัชนี เจริญยิ่ง, รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ	

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

.....
รศ.ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย
หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	The Chemical Constitutes of *Zizyphus attopoensis* in Ethyl AcetateExtract
Name	MissKageenut Pathan MissManeerat Borisootpanit MissWananthorn Kitvanichsatain
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 can be obtained from the extract of dried stem bark of Z.attopoensis for 48 hours. Sample (5.0 kg) was extract in ethyl acetate at 40°C. The crude extract (25g.) was subjected to column chromatography to yield 9 fractions. One Epicatechin was obtained after repeated column chromatography of fraction 9 (ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}) eluted with 80% ethyl acetate : 20% dichloromethane (v/v). It has yellow crystal characteristics. Epicatechin is reported to have insulin mimetic action which possesses protective effects on erythrocytes in a manner similar to insulin and also the antioxidant protectin which acts againts lipid peroxidation. One salt was also obtained after repeat column chromatography of fraction 6 (ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621}) eluted with 50% hexane : 50% ethyl acetate(v/v). It appears in white solid crystal mixed with yellow liquid. Their structures were determined by spectroscopy data and by comparison with the data reported in the literatures.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกของคณาจารย์เจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้อง

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์ ที่คอยดูแลเอาใจใส่ตลอดจนช่วยเหลือในทุกด้านและเปิดโอกาสให้แสดงความคิดเห็นได้อย่างเต็มที่ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณ ดร.พัชนี ยิ่งเจริญ ที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในทุกด้านมาตลอดการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณ รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ ที่คอยให้คำปรึกษาและช่วยเหลือทางด้านข้อมูลต่างๆมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.ตะวัน สุขน้อย และ ดร.ชลลดา ฤตวิรุฬห์ อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์ทดลองและยามรักษาการณ์ที่คอยตรวจสอบดูแลยามค่ำคืน

ขอขอบคุณบิดามารดาที่สนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษและขอบคุณกำลังใจจากเพื่อนสนิทและบุคคลอื่น ที่ทำให้โครงงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ นายสิทธิชัย มิ่งขวัญตา นักศึกษาคณะครุศาสตร์ สาขาอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้คอมพิวเตอร์และคอยช่วยเหลือเป็นอย่างดี

และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณคุณครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้พร้อมกับคุณธรรมประจำใจ

นางสาวขจีนุช ปาทาน

นางสาวมณีรัตน์ บริสุทธิ์พานิช

นางสาววนันธร กิจวานิชเสถียร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
อักษรย่อ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	1
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	1
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 สมุนไพร	3
2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง	9
2.3 ต้นกำลังเสือโคร่ง *(Zizyphus attopoensis)*	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	21
3.2 ขั้นตอนการวิจัย	22
3.3 วิธีการทดลอง	22
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ผลการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 ผลการศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการแยกสารประกอบทางเคมีของสารสกัดชั้น EtOAc ด้วยเทคนิค ทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี เพื่อนำไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	26
4.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น EtOAc และทำสารให้บริสุทธิ์	28
4.4 การทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification)	33
4.5 การตรวจสอบโครงสร้างและจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์	35
4.6 วิจารณ์ผลการวิจัย	38
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	
5.1 สรุปผลการวิจัย	39
5.3 ข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1โครงสร้างทั่วไปของ Cyclopeptide alkaloid 12
รูปที่ 2.2 โครงสร้างหลักของ 13-membered ring 13
รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-F or O-desmethyl-zizyphine-A(2) 14
รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-I(3) 14
รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-K(4) 15
รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างหลัก 14-Membered ring 15
รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของ Frangufaline(6) 16
รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของ Mauritine-D(7) 16
รูปที่ 2.9 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-G 17
รูปที่ 2.10 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-D 17
รูปที่ 2.11 สูตรโครงสร้างของ Abyssinine 17
รูปที่ 2.12 สูตรโครงสร้างของ Betulinic acid 18
รูปที่ 2.13 สูตรโครงสร้างของ Zizyotin 18
รูปที่ 2.14 สูตรโครงสร้างของ Nummularine-D, Nummularine-E และ Nummularine-F 20
รูปที่ 4.1 ผังการแยกองค์ประกอบย่อยทางเคมีของชั้นเอทิลอะซิเทต 25
รูปที่ 4.2 การแยกสารสกัดด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV 27
รูปที่ 4.3 การแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับ Developing Solvent 28
รูปที่ 4.4 การแยกส่วนประกอบทางเคมีของกลุ่มย่อย 9.2.2 ด้วย TLC โดยทดสอบกับรังสีUV ความยาวคลื่น 254 และ 366 nm 34
รูปที่ 4.5 การแยกส่วนประกอบทางเคมีของกลุ่มย่อย 9.2.2 ด้วย TLC โดยทดสอบกับ Developing Solvent 34
รูปที่ 4.6 โครงสร้างของ ZA-(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} 37
รูปที่ 4.7 FT-IR Spectrum ของ Salt (ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621}) 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.8 ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA-(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} 41

รูปที่ 4.9 ^{13}C-NMR Spectra ของ ZA-(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} 42

รูปที่ 4.10 ^{13}C-NMR Spectra ของ Epicatechin 43

รูปที่ 4.11 FT-IR Spectrum ของ ZA-(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} 44

รูปที่ 5.1 โครงสร้างของ Epicatechin 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (Crude Extract)	26
ตารางที่ 4.2 ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบของสารสกัดชั้น Et0Ac	26
ตารางที่ 4.3 ผลการแยกสารสกัดด้วย TLC โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า	26
ตารางที่ 4.4 ผลการแยกสารสกัดด้วยTLC โดยทดสอบกับรังสี UV	27
ตารางที่ 4.5 ผลการแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับ Developing solvent	28
ตารางที่ 4.6 ผลการแยกสารจากส่วนสกัดชั้น EtOAcโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	29
ตารางที่ 4.7 ผลการแยกสารจากกลุ่ม 4 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	29
ตารางที่ 4.8 ผลการแยกสารจากกลุ่ม 6 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	30
ตารางที่ 4.9 ผลการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	31
ตารางที่ 4.10 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารกลุ่มย่อยที่ 6.2.2 โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า	31
ตารางที่ 4.11 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารกลุ่มย่อยที่ 6.2.2 โดยทดสอบกับรังสี UV	31
ตารางที่ 4.12 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารกลุ่มย่อยที่ 6.2.2 โดยทดสอบกับ Developing solvent	31
ตารางที่ 4.13 น้ำหนักของสารประกอบเกลือ	32
ตารางที่ 4.14 ผลการแยกสารจากกลุ่ม 9 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	32
ตารางที่ 4.15 ผลการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	33
ตารางที่ 4.16 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2 โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า	33
ตารางที่ 4.17 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2 โดยทดสอบกับรังสี UV	33
ตารางที่ 4.18 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2 โดยการทดสอบกับ Developing solvent	34
ตารางที่ 4.19 น้ำหนักของสารบริสุทธิ์	35
ตารางที่ 4.20 น้ำหนัก และ Rf ของสารบริสุทธิ์	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.21 การวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} จาก ^{1}H-NMR Spectra (300Hz) MeOH-d_4	35
ตารางที่ 4.22 การวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} จาก ^{13}C -NMR Spectra	36
ตารางที่ 4.23 สัญญาณของ IR Spectrum ที่ตรวจพบใน ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}-24	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อักษรย่อ

Et	=	Ethyl group
EtOAc	=	Ethyl acetate
$CHCl_3$	=	Chloroform
TLC	=	Thin Layer Chromatography
UV	=	Ultraviolet
nm	=	nanometer
ZA	=	*Zizyphous attopoensis*
SB	=	Stem bark
F	=	fraction
P	=	page
IR	=	Infared spectroscopy
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

สารที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในปัจจุบันที่มีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคได้ซึ่งเรียกกันว่า "สมุนไพร" นับว่ามีประโยชน์มากมาย ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยและนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชกรรมและการแพทย์ตลอดจนในอุตสาหกรรมอาหารอย่างมาก แต่ทั้งนี้ยังมีสมุนไพรอีกจำนวนมากที่ยังไม่ได้มีการศึกษาวิจัย จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรตัวอื่นเพื่อหาส่วนประกอบที่มีอยู่ในสมุนไพรนั้นๆ เพื่อเป็นการวิเคราะห์หาสารตัวใหม่ที่อาจมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมากกว่าหรือเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารที่มีสมบัติเดิมจากสมุนไพรชนิดใหม่

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

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีการแยกสารประกอบทางเคมีจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งในชั้นเอทิลอะซิเทต
2. หาโครงสร้างของสารที่แยกได้จากสารสกัดของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. สกัดสารจากเปลือกลำต้นกำลังเสือโคร่งด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเทต
2. นำสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเทตมาแยกและนำส่วนที่เป็นองค์ประกอบหลักมาทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatography techniques)
3. ศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคทางสเปกโทรสโคปี

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

งานวิจัยนี้จะศึกษาถึงการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และการแยกสารที่สกัดได้ เพื่อนำไปสู่การแยกสารที่บริสุทธิ์ประกอบกับการวิเคราะห์หาโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของสารที่แยกได้โดยมีขอบเขตดังนี้

1. ศึกษาการเตรียมสารสกัดหยาบ โดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย สกัดสารออกจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง

2. ศึกษาการหาระบบของตัวทำละลายละลาย (Solvent system) ที่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ออกมาจากสารสกัดหยาบได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาวิธีการแยกสารออกจากสารตัวอย่างโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column chromatography) รวมทั้งการเก็บรักษาสารที่แยกออกมาได้

4. ตรวจสอบและวิเคราะห์สารที่แยกได้โดยใช้วิธีทางสเปกโทรสโคปี ได้แก่ อินฟาเรดสเปกโทรสโคปี (Infared spectroscopy) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (Nuclear magetic resonance spectroscopy)

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

จากการศึกษาการหาส่วนประกอบทางเคมีในสมุนไพรธรรมชาติ โดยสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาคือ เปลือกลำต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizphus attopoensis*) โดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทโดยข้อมูลที่ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับสารที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และทางชีวภาพที่มีรายงานมาก่อน จากพืชตระกูลเดียวกัน ถ้าผลที่ได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างของงานวิจัยนี้ออกมาแล้วมีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกัน ซึ่งคาดได้ว่าสารที่วิเคราะห์เป็นสารที่สามารถใช้ในการรักษาโรคได้ ซึ่งเป็นการนำไปสู่ข้อสรุปได้ว่าเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งเป็นสมุนไพรธรรมชาติที่สามารถใช้รักษาโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สมุนไพร

2.1.1 ความหมายของพืชสมุนไพร

"สมุนไพร"นับว่าเป็นยาที่สำหรับรักษาโรคต่างๆได้มากมายโดยเฉพาะอย่างยิ่ง"พืชสมุนไพร" ทั้งหลาย " พืชสมุนไพร"ที่นำเอามาเป็นส่วนประกอบของยารักษาโรคของคนเรานั้นได้รับการอนุญาต ให้ใช้รักษาความเจ็บไข้ได้ป่วยของมนุษย์เราได้ โดยมีพระราชบัญญัติยาพุทธศักราช 2522 ปรากฏออกมา

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

"พืชสมุนไพร"นั้นตั้งแต่โบราณก็ทราบกันดีว่ามีคุณค่าทางยามากมายซึ่งเชื่อกันอีกด้วยว่าต้นพืชต่างๆ ก็เป็นพืชที่มีสารที่เป็นตัวยาด้วยกันทั้งสิ้น เพียงแต่ว่าพืชชนิดไหนจะมีคุณค่าทางยามากน้อยกว่ากันเท่านั้น

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

"พืชสมุนไพร" หรือวัตถุธาตุนี้ หรือตัวยาสมุนไพรนี้แบ่งออกเป็น 5 ประการ

1.รูป ได้แก่ ใบไม้ ดอกไม้ เปลือกไม้ แก่นไม้ กระพี้ไม้ รากไม้ เมล็ด

2.สี มองแล้วเห็นว่าเป็นสีเขียวใบไม้ สีเหลือง สีแดง สีส้ม สีม่วง สีน้ำตาล สีดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

- รากฝอย รากฝอยเป็นส่วนที่งอกมาจากลำต้นของพืชที่ส่วนปลายงอกออกมาเป็นรากฝอยจำนวนมากลักษณะรากจะกลมยาวมีขนาดเท่าๆกันต้นพืชที่มีใบเลี้ยงเดี่ยวจะมีรากฝอย เช่น หญ้าคา ตะไคร้ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ลำต้น

นับว่าเป็นโครงสร้างที่สำคัญของต้นพืชทั้งหงายที่มีอยู่สามารถค้ำยันเอาไว้ได้ไม่ให้โค่นล้มลง โดยปกติแล้วลำต้นจะอยู่บนดินแต่บางส่วนจะอยู่ใต้ดินพอสมควร รูปร่าง ของลำต้นนั้นแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน คือ ตา ข้อ ปล้อง บริเวณเหล่านี้จะมีกิ่งก้าน ใบ ดอกเกิดขึ้นอีกด้วย ซึ่งจะทำให้พืชมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปชนิด

ของลำต้นพืชแบ่งตามลักษณะภายนอกของลำต้นได้เป็น

- ประเภทไม้ยืนต้น
- ประเภทไม้พุ่ม
- ประเภทหญ้า
- ประเภทไม้เลื้อย

3. ใบ

ใบเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของต้นพืชทั่วไป มีหน้าที่ทำการสังเคราะห์แสง ผลิตอาหาร และเป็นส่วนที่แลกเปลี่ยนน้ำและอากาศให้ต้นพืชใบเกิดจากการงอกของกิ่งและตา ใบไม้โดยทั่วไปจะมีสีเขียว (สีเขียวเกิดจากสารที่มีชื่อว่า"คอลโรฟิลล์"อยู่ในใบของพืช) ใบของพืชหลายชนิดใช้เป็นยาสมุนไพรได้ดีมาก ใบที่สมบูรณ์มีส่วนประกอบรวม 3 ส่วนด้วยกันคือ

- ตัวใบ
- ก้านใบ
- หูใบ

ชนิดของใบ แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

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

4. ดอก

ส่วนจองดอกเป็นส่วนที่สำคัญของพืชเพื่อเป็นการแพร่พันธุ์ของพืชเป็นลักษณะเด่นพิเศษของต้นไม้แต่ละชนิด ส่วนประกอบของดอกมีความแตกต่างกันตามชนิดของพันธุ์ไม้และลักษณะที่แตกต่างกันนี้เป็นข้อมูลสำคัญในการจำแนกประเภทของต้นไม้

รูปร่างลักษณะของดอก ดอกจะต้องมีส่วนประกอบที่สำคัญ 5 ส่วนคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ก้านดอก
- กลีบรอง
- กลีบดอก
- เกสรตัวผู้
- เกสรตัวเมีย

5. ผล

ผลคือส่วนหนึ่งของพืชที่เกิดจากการผสมเกสรตัวผู้กับเกสรตัวเมียในดอกเดียวกันหรือคนละดอกก็ได้มีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกันออกไปตามประเภทและสายพันธุ์รูปร่างลักษณะของผลมีหลายอย่าง ตามชนิดของต้นไม้ที่แตกต่างกัน

แบ่งตามลักษณะของการเกิดได้รวม 3 แบบ

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

มีการแบ่งผลออกเป็น 3 ลักษณะคือ

3.1 ผลเนื้อ -

3.2 ผลแห้งชนิดแตก

3.3 ผลแห้งชนิดไม่แตก

"พืชสมุนไพร"นั้นมีสรรพคุณทางยาดีมาก คนโบราณใช้ทำการรักษาโรคกันมานานแล้ว ควรอนุรักษ์เอาไว้ให้ดี ในวงการแพทย์ก็มองเห็นความสำคัญของพืชที่มีประโยชน์ในทางยานี้มากเช่นเดียวกันมีการนำเอา "พืชสมุนไพร" ไปสะกัดเอาสารสำคัญที่มีอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรทำประโยชน์กันมากในชนบทที่ห่างไกลก็ใช้"พืชสมุนไพร" นี้เองช่วยในการบำบัดรักษาโรค และอาการเจ็บไข้ได้ป่วย ซึ่งก็นับว่าได้ผลดีมาก เช่น

ใช้ชุมเห็ดเทศเป็นยาถ่าย ยาระบาย

ใช้บัวบกเป็นยาแก้เจ็บคอ แก้ร้อนใน

ใช้มะนาวเป็นยาแก้เลือดออกตามไรฟันหรือโรคลักปิดลักเปิด

ใช้มะระเป็นยาขมเจริญอาหาร

ใช้กะเพราเป็นยาเพิ่มน้ำนมในสตรีหลังคลอดใช้ไพลเป็นยารักษาโรคหืด ใช้ตำลึงรักษาโรคเบาหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจน สารพวกนี้ถูกทำลายได้โดยใช้ความร้อน มีอยู่ในพืชบางชนิด เช่น มันสำปะหลัง จึงไม่ควรรับประทานสด ๆ

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

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 ซึ่งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป 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 ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการซื้อยาสามารถส่งจำหน่ายทั้งภายในและต่างประเทศได้ด้วย

2.1.6 ข้อเสียของสมุนไพร

1. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกชนิด เนื่องจากมีพืชอยู่มากมาย และบางชนิดก็มีลักษณะคล้ายคลึงกันมากดังนั้นก่อนที่จะใช้สมุนไพรต้องมีความมั่นใจว่าเป็นพืชที่ต้องการจริงจึงจะเกิดประโยชน์ในการบำบัดโรคภัยไข้เจ็บ
2. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกขนาด ถูกสัดส่วน
3. การเตรียมค่อนข้างยุ่งยาก คล่าวคือ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) หาก ไม่เคยใช้ยาสมุนไพรต้องใช้ยาสมุนไพรในปริมาณความเข้มข้นต่ำ

(8) การรักษาโรคด้วยยาสมุนไพรครั้งหนึ่ง ๆ ไม่ควรใช้ยาติดต่อกันนาน ๆ

2.1.7 ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร

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

2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง

ในการนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

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 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 จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นเสียก่อน 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

2.2.4 การแยกส่วนผสม (Separation)

ในพืชแต่ละชนิดจะมีสารเคมีหลายชนิด ดังนั้นสารสกัดที่ได้ในเบื้องต้นจึงเป็นส่วนผสมของสารเคมีเพื่อให้ได้สารสำคัญที่บริสุทธิ์ จึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคและอุปกรณ์ต่าง ๆ

Thin-layer Chromatrophy (TLC)

เป็นการแยกสาร โดยใช้เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งแผ่เป็นแผ่นเคลือบบน support ซึ่งอาจเป็นแก้ว อะลูมิเนียม เมื่อหยดสารผสมลงบนเฟสอยู่กับที่ แล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ได้ไปใส่แท็งค์ซึ่งบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการที่ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านไปบนเฟสอยู่กับที่ ซึ่งเรียกว่า development ขณะที่เกิดการ development สารก็จะแยกออกจากกัน

การประยุกต์ใช้ TLC ในการศึกษาสารเคมีจากสมุนไพร

(1) ใช้วิเคราะห์หาสารเบื้องต้นว่ามีกี่ชนิด และอาจบอกได้ว่าเป็นสารประเภทใด

(2) ใช้เป็นวิธีเบื้องต้นเพื่อหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) สำหรับ column chromatography

(3) ใช้ตรวจสอบองค์ประกอบ (fraction) ที่ได้มาจาก column chromatography เพื่อรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน

(4) แยกสารบางชนิดที่มีปริมาณน้อย

(5) ใช้แยกสารปริมาณมากซึ่งแยกได้โดยวิธี column chromatography ไม่ได้ผล

(6) ใช้หาปริมาณสารในสารผสม

Column chloromatrophy

เป็นวิธีแยกสารโดยให้สารเคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ซึ่งบรรจุในหลอดแก้วกลวง

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

- ตัวดูดซับ (Adsorbent) ชนิดของตัวดูดซับที่ใช้ ก็เช่นเดียวกับตัวดูดซับของ TLC โดยอัตราส่วนของตัวดูดซับที่ใช้ และปริมาณสารที่จะแยก ขึ้นกับกระบวนการแยก

2.2.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

ใช้เทคนิคทาง spectroscopy เช่น IR , NMR เป็นต้น ในการวิเคราะห์สารที่แยกออกมาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopoensis*)

ชื่อพันธุ์ไม้ กำลังเสือโคร่ง

ชื่ออื่น กำลังพญาเสือโคร่ง, กำลังเสือโคร่ง (เชียงใหม่)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zizyphus attopoensis*

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 เส้นใบออกจากโคนใบ 3 เส้น เห็นชัดทางด้านล่าง เส้นใบย่อยขนานกันตามขวางของใบและสานกันเป็นร่างแหถี่ๆ แผ่นใบหนา เกลี้ยง ยกเว้นตามเส้นใบมีขน ก้านใบยาวประมาณ 6 มม. ด้านบนเป็นร่อง ช่อดอกออกตามง่ามใบ ยาว 3-5 ซม. มีขนสั้น ก้านดอกยาวประมาณ 6 มม. มีขน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ รูปสามเหลี่ยมปลายมน ยาวประมาณ 2 มม. ด้านนอกมีขน ด้านในเกลี้ยง กลีบดอก 5 กลีบ รูปไข่กลับ ยาวประมาณ 2 มม. โคนกลีบสอบแคบ ขอบเรียบ กลีบโค้ง เกสรเพศผู้ 5 อัน สั้นกว่ากลีบดอก อับเรณูรูปไข่ 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

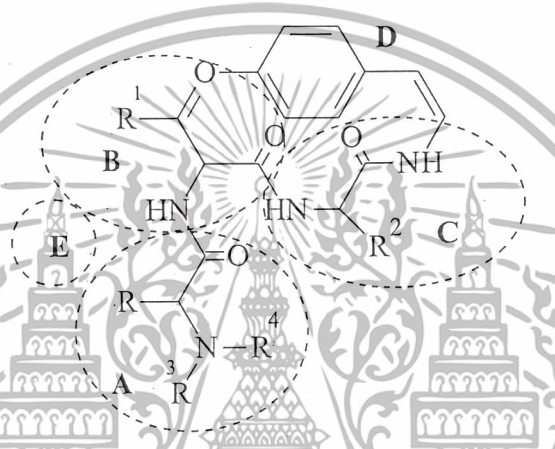
มีกลิ่นหอมคล้ายการบูร ใช้ต้มกับน้ำเป็นยาบำรุงธาตุ บำรุงกำลัง เจริญอาหาร ขับลมในลำไส้ บำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย เป็นยาอายุวัฒนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

cyclopeptide alkaloid เป็นอัลคาลอย์ชนิดเป็นวงมีสายเปปไทด์ (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 2.11) ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ



รูปที่ 2.1โครงสร้างทั่วไปของ 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

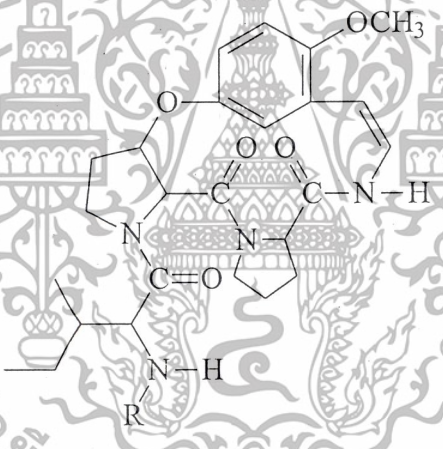
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

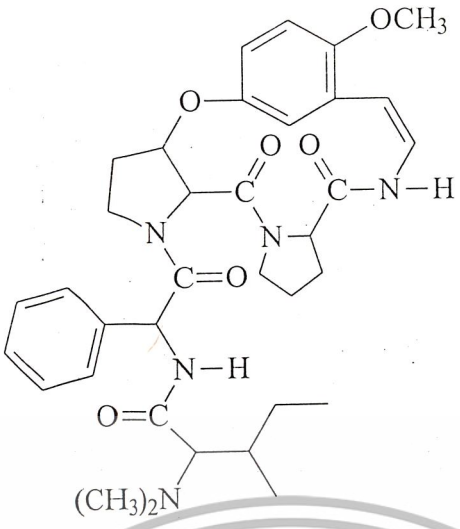


รูปที่ 2.2 โครงสร้างหลักของ13-membered ring

หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

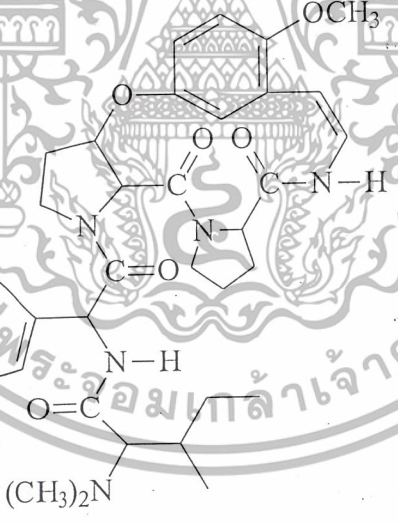
Zizyphine-A or Zizyphine(1a)	มีหมู่ R เป็น *N,N*-dimethyl-lle	มาจากส่วนเปลือกราก
Zizyphine-B or Zizyphine)	มีหมู่ R เป็น *N*-methyl-lle	มาจากส่วนเปลือกราก
or N-desmthyl-Zizyphine-A(1b)		มาจากส่วนของเปลือกต้น
Zizyphine-C	มีหมู่ R เป็น N,N-dimethyl-phe	มาจากส่วนของเปลือกต้น
Zizyphine-F or *O*-desmethyl- Zizyphine-A (2)		มาจากส่วนขวงเปลือกต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

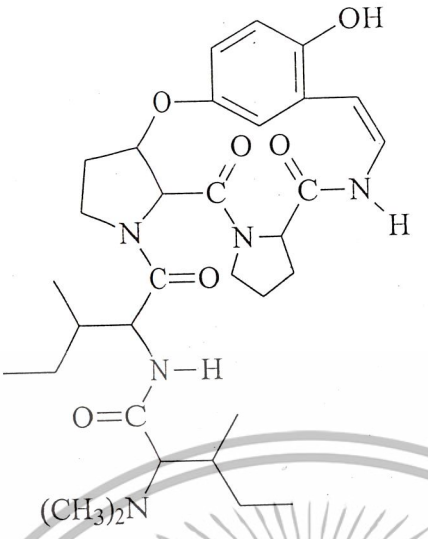
Zizyphine-I (3) มาจากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-I (3)

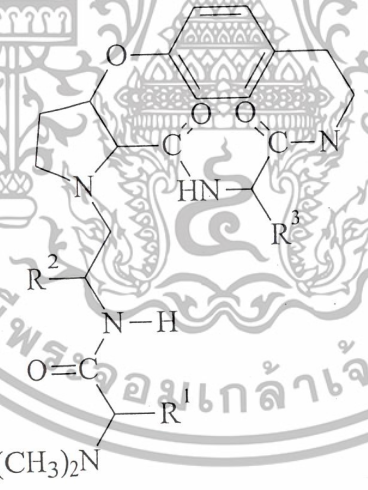
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zizyphine-K (4) มาจากส่วนของเปลือกต้น



รูปที่ 2.5 สูตร โครงสร้างของ Zizyphine-K (4)

14-membered ring



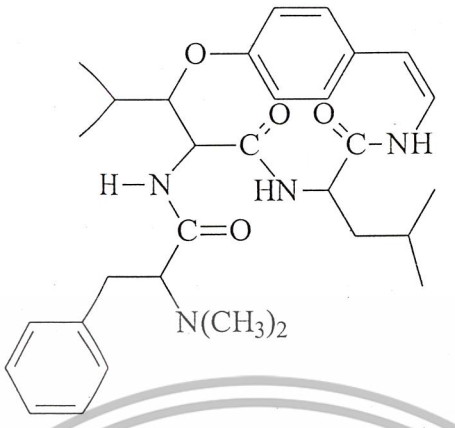
รูปที่ 2.6 โครงสร้างหลัก 14-membered ring

หมู่ R ที่เปลี่ยนไปมีดังนี้

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

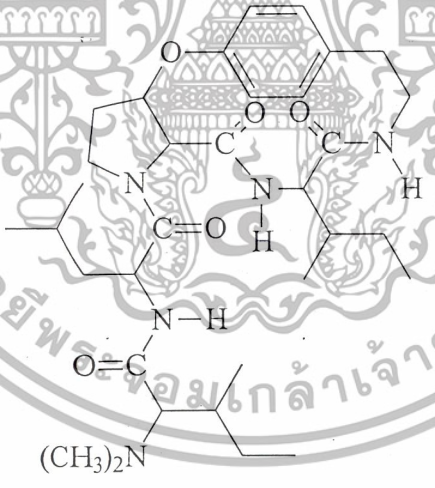
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Frangufoline (6) มาจากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.7 สูตร โครงสร้างของ Frangufoline (6)

Mauritine-D (7) มาจากส่วนเปลือกราก

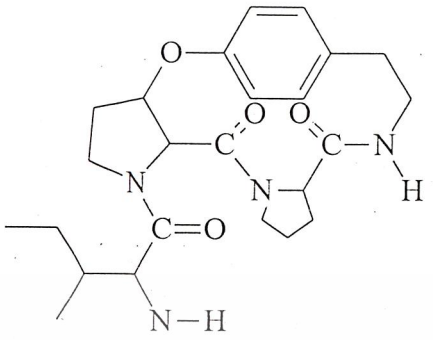


รูปที่ 2.8 สูตร โครงสร้างของ Mauritine-D (7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

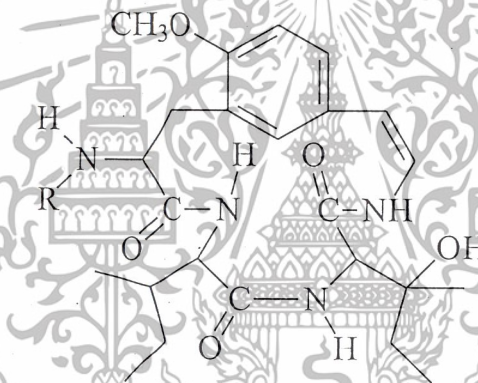
ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Zizyphine-G มาจากส่วนเปลือกราก



รูปที่ 2.9 สูตรโครงสร้างของ Zizyphine-G

15-membered ring

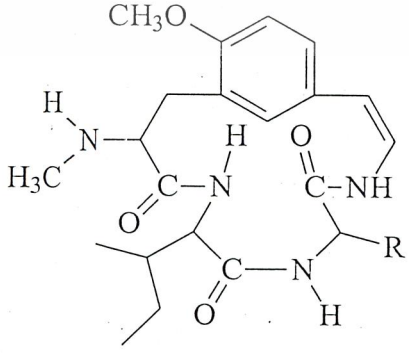


รูปที่ 2.10 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Zizyphine-D

Zizyphine-D (9a) มีหมู่ R เป็น CH_3 จากส่วนเปลือกราก

Zizyphine-E or *N*-desmethyl-Zizyphine-D มีหมู่ R เป็น H จากส่วนเปลือกราก

Zizyphine-D (9b)



รูปที่ 2.11 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Abyssinine

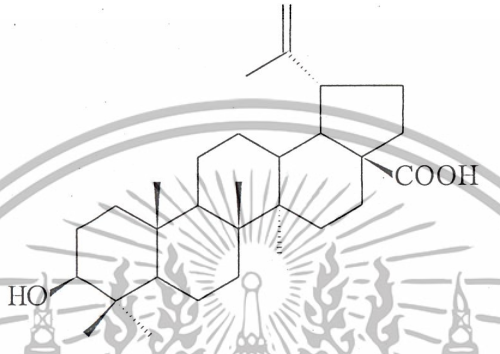
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

49430

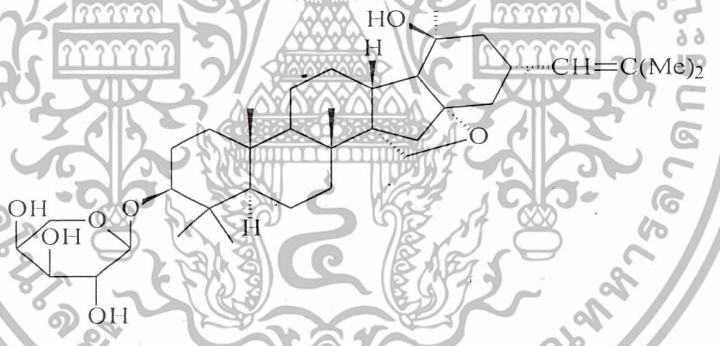
Abyssinine-A or *N*-desmethyl-Mucronine-C (10a)มีหมู่ R เป็น R=*s*-buthyl มาจากส่วนเปลือกราก

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 สูตร โครงสร้างของ Betulinic acid



รูปที่ 2.13 สูตร โครงสร้างของ Zizyotin

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

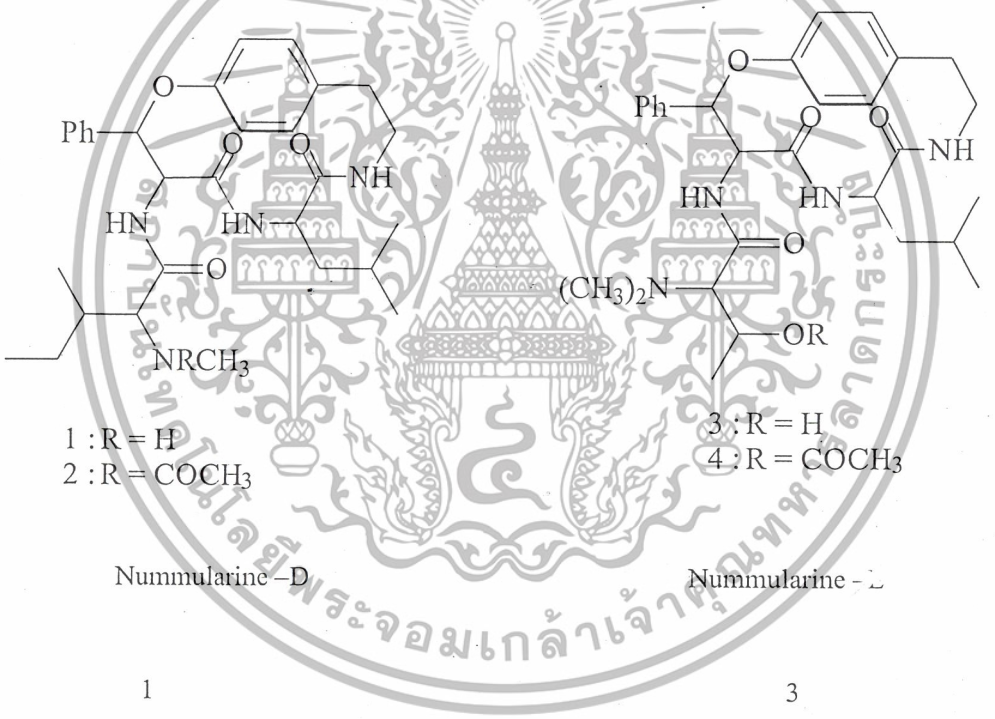
อัลคาลอยด์ที่ได้จากต้น ไม้วงศ์ Rhamnaceae-XXVI

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

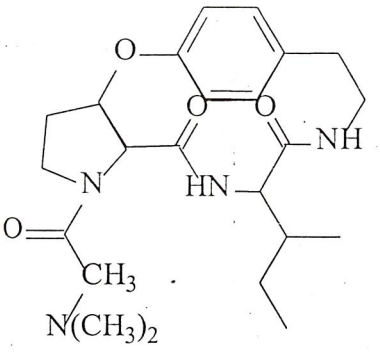
ที่สกัดได้จาก Genus : Zizyphus, Speciescy : Nummularia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มนักวิจัยได้มีการอธิบายถึงการแยกอัลคาลอยด์และลักษณะของอัลคาลอยด์ 5 ชนิด ซึ่งแต่ละตัวมี 13 เหลี่ยม (นัมมูลาเรียเอ บี ซี : Nummularia-A, B, C แอมพิบีนเอช : Amphibine-H และ มูโครนีนดี : Mucronine-D) จากเปลือกรากของ Zizyphus Nummularia จากการแยกโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ในตอนสุดท้ายได้องค์ประกอบที่เหมือนกันมากกว่า 9 องค์ประกอบ องค์ประกอบหลักๆ 7 องค์ประกอบ ได้ตรวจสอบและพบว่าประกอบไปด้วยอัลคาลอยด์ 14 เหลี่ยม ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ที่มีพันธะเปปไทด์ สารประกอบสี่ชนิดได้ถูกพิสูจน์ว่าเป็นฟรานกูโฟลีน (Frangufoline) แอมพิบีนเอ (Amphibine-A) อินทีเกอเรนีน (Integerrenine) และมายูริทีน (Mauritine-F) สารประกอบอีกสามชนิดที่เหลือเป็นสารอัลคาลอยด์ ที่ยังไม่เคยถูกค้นพบมาก่อนได้แก่ อัลคาลอยด์ 1 3 และ 5 ดังแสดงโครงสร้างดังรูป 2.14



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



5

Nummularine

รูปที่ 2.14 สูตรโครงสร้างของ Nummularine-D, Nummularine-E, 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

พืชที่ใช้ในงานวิจัย

ใช้ส่วนเปลือกของต้นกำลังเสือโคร่ง จากร้านเจ้ากรมเป๋อ กรุงเทพมหานคร

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี

1. ซิลิกาเจล (Silica Gel) เบอร์ 7729
2. ซิลิกาเจล (Silica Gel) เบอร์ 7734
3. แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate)
4. อะซิโตน (Acetone)
5. เฮกเซน (Hexane)
6. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)
7. เอทิลอะซิเทต (Ethyl Acetate)
8. เมทานอล (Methanol)
9. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
10. น้ำกลั่น

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. คอลัมน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. Aluminium Foil
16. ขาตั้ง (Stand) และตัวจับ (Clamp)
17. Magnetic Stirer/Heat
18. เครื่องระเหยสุญญากาศ
19. ชุดปั๊ม
20. TLC Tank
21. TLC Plate
22. แผ่นกระจก
23. UV Lamp

3.2 ขั้นตอนการวิจัย

1. นำตัวอย่างของเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งมาบดให้ละเอียดและตากให้แห้ง
2. นำส่วนที่ได้จากขั้นเฮกเซน มาสกัดร้อนด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 45 องศาเซลเซียส
3. กรองแยกส่วนที่เป็นกากและชั้นตัวทำละลาย เพื่อให้การสกัดเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ทำซ้ำข้อ 1-2
4. นำชั้นตัวทำละลายมาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จะเรียกส่วนนี้ว่าสารสกัดหยาบ
5. นำกากที่ได้มาสกัดอีกสองครั้งโดยทำตามข้อ 2-3 เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบทั้งหมดมา
6. ทำการหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) ที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ในชั้นตัวทำละลายด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี
8. แยกสารให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี
9. วิเคราะห์หาโครงสร้าง หมู่ฟังก์ชันและน้ำหนักโมเลกุล

3.3 วิธีการทดลอง

การเตรียมสารสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท

นำเปลือกต้นกำลังเสือโคร่งแห้งมาบดให้ละเอียดแช่ในเอทิลอะซิเทต ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

1. ค่อยๆรินกรองเอาสารสกัดออก โดยรินผ่านกระดาษกรอง ทำการกรอง 2 ครั้ง
2. ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ วิธีนี้จะเป็นการระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันจนเกือบเป็นสุญญากาศ
3. ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1-3 อีกสองครั้ง เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบทั้งหมดออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การระเหยตัวทำละลาย

1. นำสารสกัดที่ต้องการระเหยตัวทำละลายใส่ลงใน Pear Shape ประมาณ 1/3 ของขวด
2. นำไปติดตั้งกับเครื่องระเหยสุญญากาศ โดยตั้งอุณหภูมิที่ 30-40 องศาเซลเซียส
3. เมื่อระเหยตัวทำละลายออกไปแล้วใน Pear Shape จะเหลือแต่สารทีสกัดที่เราต้องการเท่านั้น ถ้าสารสกดที่เราต้องการระเหยยังเหลือให้ทำเหมือนเดิมโดยใส่ใน Pear Shape ใบเดิม และเมื่อหมดแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณ %ผลผลิตสารที่ได้ออกมา และทำการเก็บสารที่ได้

การหาระบบตัวทำละลาย (Solvent System) ที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ชั้นต่างๆเพื่อนำไปใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

1. นำสารสกัดหยาบจากชั้นเอทิลอะซิเตท มาใส่ขวดเก็บสาร (vial) แล้วละลายด้วยเอทิลอะซิเตท
2. สารส่วนใหญ่ที่ละลายอยู่ในชั้นนี้จะเป็นพวกที่มีขั้ว ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วมากกว่า ในที่นี้จะเลือกเมทานอล (มีขั้ว) กับเอทิลอะซิเตท (มีขั้วต่ำกว่า) เทียบอัตราส่วนเพื่อหาระบบของตัวทำละลายที่เหมาะสม
3. ตัดแผ่น TLC ขนาด 2 x 8 cm ทำการจุดสารสกัดหยาบ ที่ทำการละลายแล้ว ลงบนแผ่น 2 จุด โดยแต่ละจุดมีความเข้มต่างกัน
4. เตรียม TLC tank โดยมีกระดาษกรองวางข้างใน TLC tank และเตรียมแผ่นกระจกไว้ปิด
5. ทดสอบอัตราส่วนของสารละลายที่ค่าต่างๆ โดยเริ่มจากสารละลายในอัตราส่วน 1:1 แล้วจึงลดหรือเพิ่มสารละลายชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับการแยกสารใน crude extract บนแผ่น TLC
6. จุ่มแผ่น TLC ที่เตรียมได้ลงแทงก์ (tank) ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ไปถึงระดับ solvent front ที่กำหนดไว้
7. ดูผลการทดลองที่เกิดขึ้นว่าสารที่แยกได้เป็นอย่างไร ถ้าสามารถแยกได้เป็นจุดๆชัดเจน แสดงว่าอัตราส่วนที่ผสมใน TLC tank เป็นระบบตัวทำละลายที่เราต้องการ แต่ถ้ายังไม่แยกเป็นจุดๆชัดเจนให้ทำการเพิ่มหรือลดปริมาณตัวทำละลายนั้นๆ
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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

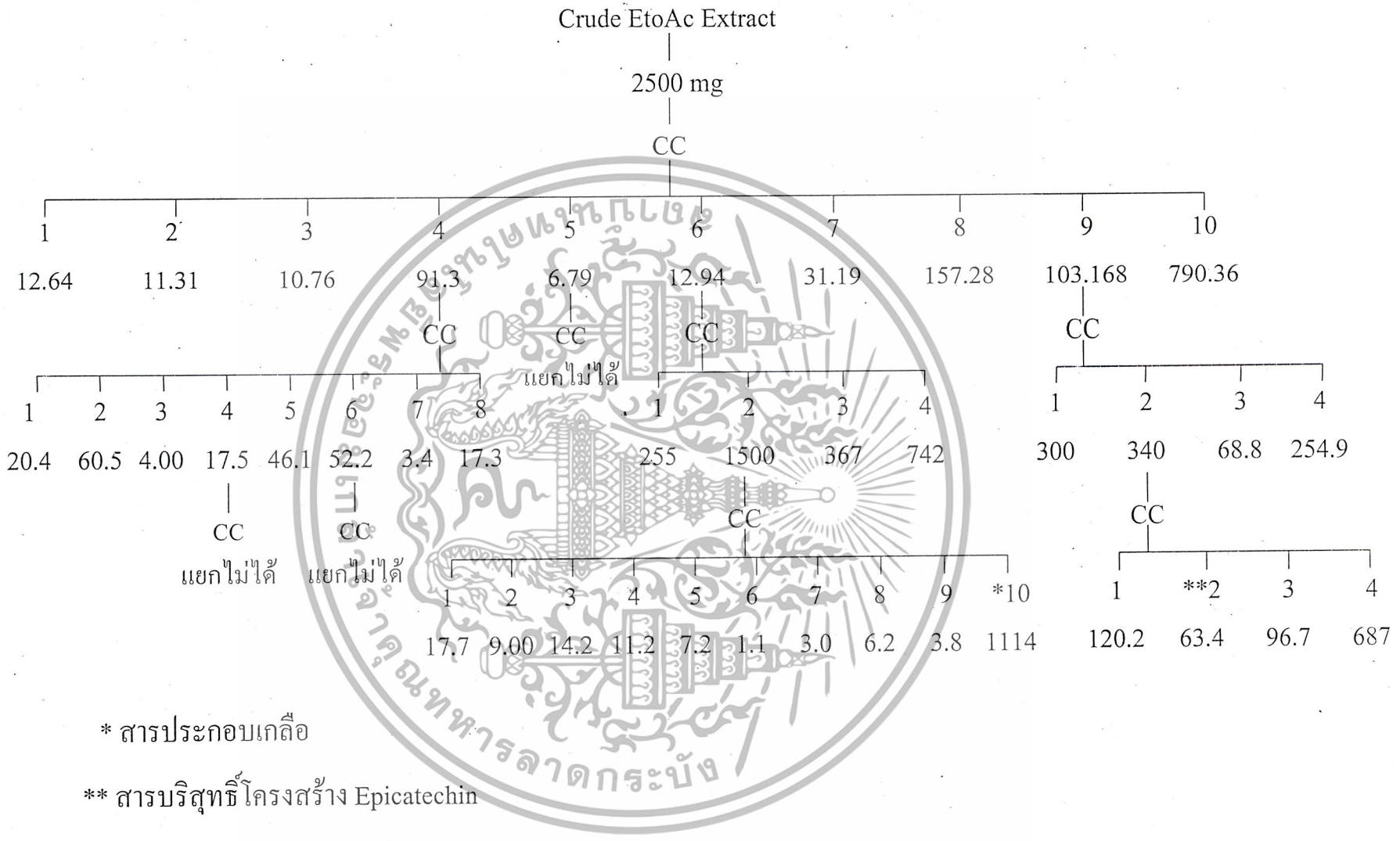
การแยกสารที่อยู่ในชั้นต่างๆโดยเทคนิค คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column chromatography)

1. เตรียมคอลัมน์ (column) ใช้ ขาตั้ง (stand) และตัวจับ (clamp) จับคอลัมน์ให้ตั้งฉากกับพื้น
2. ทำการบรรจุคอลัมน์โดยใช้ ซิลิกาเจล (silica gel) เบอร์ 7734 หรือ ซิลิกาเจล (silica gel) เบอร์ 7729
3. ชั่งซิลิกาเจล 60 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ แล้วใช้ระบบตัวทำละลายผสมซิลิกาเจลคนให้เข้ากัน
4. ใช้สำลีอุดคอลัมน์โดยหยดสารละลายให้ชุ่มสำลี
5. เทซิลิกาเจลที่ผสมสารละลายแล้วลงคอลัมน์แล้วปรับผิวหน้าของซิลิกาเจลให้เรียบโดยเคาะข้างๆ คอลัมน์เบาๆ โดยไม่ให้มีรอยแตกหรือฟองอากาศอยู่
6. ป้องกันผิวซิลิกาเจลให้เรียบอยู่เสมอ โดยการใส่ anhydrous $MgSO_4$ ลงในคอลัมน์
7. เตรียมสารสกัดหยาบในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลายเล็กน้อยแล้วผสมกับซิลิกาเจลเบอร์ 7734 คนให้เข้ากัน แล้วระเหยสารละลายออกไป จากนั้นใส่ crude extract ที่ผสมกับซิลิกาเจลลงคอลัมน์โดยไม่ต้องทำการกลั้วขวดก้นกลม
8. ล้างข้างคอลัมน์ให้สะอาด โดยให้เหลือสารละลายอยู่เหนือ crude extract ให้น้อยที่สุด
9. จากนั้นใส่สารละลายเข้าไป เพื่อให้ได้สารที่ต้องการออกจากคอลัมน์แล้วเก็บสารละลายที่ออกจากคอลัมน์ด้วยขวดแก้วประมาณครึ่งขวดพร้อมจดหมายเลขที่ใช้ตามลำดับ
10. ทำการตรวจสอบสารในแต่ละขวดที่ออกจากคอลัมน์ด้วย TLC โดยเทียบกับสารสกัดหยาบ ถ้าสารที่เราต้องการยังไม่ออกมา อาจจะต้องเพิ่มความมีขั้วของสารละลาย
11. เมื่อพบว่าสารที่ต้องการแยกออกมาแล้ว ทำการจดบันทึกว่าเริ่มแยกออกจากขวดที่เท่าไรและจำนวนเท่าใด
12. รวมสารที่มีอยู่ในขวดเทลงในขวดก้นกลม แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออก
13. เมื่อได้สารบริสุทธิ์อยู่ในขวดก้นกลม ทำการชั่งแล้วจดน้ำหนักสารที่ได้ออกมาและเก็บในตู้เย็นเพื่อทำการตรวจสอบและวิเคราะห์หาโครงสร้างสารต่อไป

การวิเคราะห์โครงสร้างสารที่แยกได้

การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ จะทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี FT-IR spectroscopy เพื่อหาหมู่ฟังก์ชัน ใช้ NMR spectroscopy เพื่อหาโครงสร้างของสาร หลังจากนั้นนำสารบริสุทธิ์ที่ได้หาจุดหลอมเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



* สารประกอบเกลือ

** สารบริสุทธิ์โครงสร้าง Epicatechin

รูปที่ 4.1 แผนผังการแยกองค์ประกอบย่อยทางเคมีของชั้นเอทิลอะซิเตท

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ผล

4.1 ผลการสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (Crude Extract)

ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	% เทียบกับ สารตัวอย่าง
EtOAc	5000	117.95	2.359

4.2. ผลการศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารสกัดชั้น EtOAc ด้วยเทคนิค TLC เพื่อนำไปใช้แยกสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

เมื่อนำสารสกัดจากชั้น EtOAc มาทำการทดสอบด้วย TLC โดยทำการสุ่มค่าความเป็นขั้วของระบบตัวทำละลายต่างๆ พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารสกัดชั้น EtOAc แสดงดังนี้

ตารางที่ 4.2 ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนประกอบของสารสกัดชั้น EtOAc

สารสกัดชั้นตัวทำละลาย	ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม
EtOAc	30% ไดคลอโรมีเทน : 70% เอทิลอะซิเตท

ผลการแยกสารสกัดด้วย EtOAc ด้วยระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม

ทำการพิจารณาแยกของส่วนประกอบในสารสกัด ด้วย EtoAc โดยสังเกตจากตาเปล่า. ทดสอบกับรังสี UV และ Developing Solvent ได้ผลดังนี้

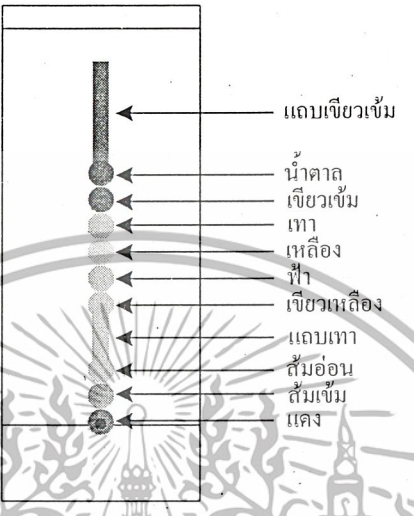
ตารางที่ 4.3 ผลการแยกสารสกัดด้วยทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า

สารสกัด	ผลการสังเกต
ชั้นเอทิลอะซิเตท	ไม่พบจุดของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับรังสี UV

สารสกัด	UV 254 nm	UV 366 nm
ชั้น EtOAc	พบจุดของสาร 6 จุด	ไม่พบจุดของสาร



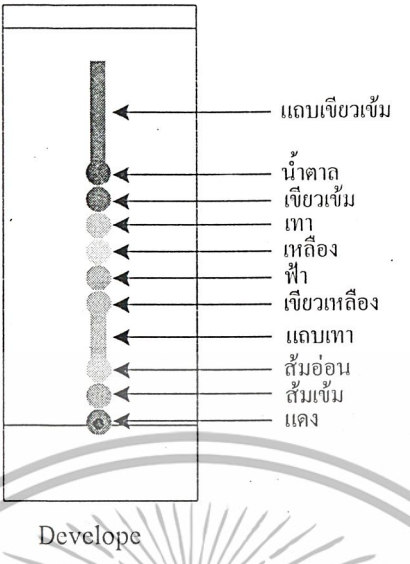
UV 254

รูปที่4.2 การแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับรังสี UV

ตารางที่ 4.5 ผลของการแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับ Developing Solvent

สารสกัด	ผลของการทดสอบ
ชั้นเอทิลอะซิเตท	พบจุดของสาร 9 จุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ผลของการแยกสารสกัดด้วย TLC โดยทดสอบกับ **Developing Solvent**

4.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น EtOAc และทำสารให้บริสุทธิ์

แบ่งส่วนสกัดชั้น EtOAc 25 กรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Dichloromethane –Ethyl acetate ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 10 กลุ่ม

จากนั้นแบ่งส่วนกลุ่มที่ 4 (ZA(SB)-EtOAc-P_{33-35}/F_{33-79}) 91.3 กรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Hexane – Dichloromethane ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม

ตารางที่4.6 ผลการแยกสารจากส่วนสกัดชั้น EtOAc โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc

Stationary phase : Silicag เบอร์ 7729

Solvent system : ไดคลอโรมีเทนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซิเตท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fraction No.	Code No.	Weight (g)	ลักษณะของสาร
1	ZA(SB)-EtOAc-P_{32}/F_{1-18}	12.64	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลเหลือง
2	ZA(SB)-EtOAc-P_{33}/F_{19-26}	11.31	มีผลึกสีขาวใส ปนกับของเหลวหนืด สีน้ำตาลเหลือง
3	ZA(SB)-EtOAc-P_{33}/F_{27-32}	10.76	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลเหลือง
4	ZA(SB)-EtOAc-P_{33-35}/F_{33-79}	91.3	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลเหลือง
5	ZA(SB)-EtOAc-P_{35-36}/F_{80-86}	6.79	ของแข็งผลึกกลมปนกับของเหลวหนืดสีน้ำตาลเหลือง
6	ZA(SB)-EtOAc-P_{36-38}/F_{87-109}	12.94	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลแดง
7	ZA(SB)-EtOAc-$P_{38}/F_{110-122}$	31.19	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลแดง
8	ZA(SB)-EtOAc-$P_{39-45}/F_{123-287}$	157.29	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลเข้ม
9	ZA(SB)-EtOAc-$P_{45-55}/F_{288-645}$	105.168	ของเหลวหนืดเหมือนน้ำมัน สีน้ำตาลแดง
10	ZA(SB)-EtOAc-P_{55}/F_{646-}	790.36	ของแข็งสีดำ

ตาราง ที่ 4.7 ผลการแยกสารกลุ่ม 4 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc-P_{33-35}/F_{33-79}

Stationary phase : Silicag เบอร์ 7729

Pack column : เฮกเซนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยไดคลอโรมีเทน

Solvent system : 10% เอทิลอะซิเตท: 90% ไดคลอโรมีเทน

กลุ่ม	Code No.	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
4.1	ZA(SB)-EtOAc-P_{95}/F_{1-16}	20.4	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
4.2	ZA(SB)-EtOAc-P_{95-96}/F_{17-44}	60.5	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
4.3	ZA(SB)-EtOAc-P_{96}/F_{45-51}	4.00	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน
4.4	ZA(SB)-EtOAc-P_{96}/F_{52-61}	17.5	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
4.5	ZA(SB)-EtOAc-P_{96-99}/F_{62-172}	46.1	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
4.6	ZA(SB)-EtOAc-$P_{99}/F_{173-186}$	52.2	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
4.7	ZA(SB)-EtOAc-$P_{99-101}/F_{187-287}$	3.4	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
4.8	ZA(SB)-EtOAc-$P_{101}/F_{288-353}$	17.3	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ผลการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 4.5 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ไม่สามารถแยกได้

- ผลการแยกสารจากกลุ่ม 4.6 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ไม่สามารถแยกได้

จากนั้นแบ่งส่วนกลุ่มที่ 6 (ZA(SB)-EtOAc-P_{36-38}/F_{87-109}) 12.94 มิลลิกรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Dichloromethane –Ethyl acetate ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 4 กลุ่ม

ตารางที่ 4.8 ผลการแยกสารจากกลุ่ม 6 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc-P_{36-38}/F_{87-109}

Stationary phase : Silicag เบอร์ 7729

Pack column : ไดคลอโรมีเทนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซิเตท

Solvent system : 10% เอทิลอะซิเตท: 90% ไดคลอโรมีเทน

กลุ่ม	Code No.	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
6.1	ZA(SB)-EtOAc-P_{58-59}/F_{1-51}	255	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
6.2	ZA(SB)-EtOAc-P_{59-60}/F_{52-97}	1500	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
6.3	ZA(SB)-EtOAc-P_{60-61}/F_{98-127}	367	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
6.4	ZA(SB)-EtOAc-P_{61}/F_{128-}	742	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล

จากนั้นแบ่งส่วนกลุ่มย่อยที่ 6.2 (ZA(SB)-EtOAc-P_{36-38}/F_{87-109}) 1500 มิลลิกรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Dichloromethane –Ethyl acetate ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 10 กลุ่ม

ตารางที่4.9 ผลการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc-P_{36-38}/F_{87-109}

Stationary phase : Silicag เบอร์ 7729

Pack column : ไดคลอโรมีเทนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซิเตท

Solvent system : 50 % เอทิลอะซิเตท: 50% เฮกเซน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่ม	Code No.	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
6.2.1	ZA(SB)-EtOAc-P_{66-67}/F_{1-74}	17.7	ของเหลวหนืด
6.2.2	ZA(SB)-EtOAc-P_{68}/F_{75-89}	9.00	ของแข็งแยกตัวเป็นเม็ดกลมๆ สีเหลือง
6.2.3	ZA(SB)-EtOAc-$P_{68-70,72}/F_{90-166}$	14.2	ของเหลวหนืดสีส้ม
6.2.4	ZA(SB)-EtOAc-$P_{69}/F_{167-205}$	11.2	ของเหลวหนืดสีส้ม
6.2.5	ZA(SB)-EtOAc-$P_{71}/F_{207-221}$	7.2	ของเหลวหนืดสีเทาเหลือง
6.2.6	ZA(SB)-EtOAc-$P_{71,73}/F_{222-254}$	1.1	ของเหลวหนืดสีเหลือง
6.2.7	ZA(SB)-EtOAc-$P_{73-74}/F_{255-305}$	3.0	ของเหลวหนืดสีเหลือง
6.2.8	ZA(SB)-EtOAc-$P_{74}/F_{306-369}$	6.2	ของเหลวหนืดสีเหลือง
6.2.9	ZA(SB)-EtOAc-$P_{74-75}/F_{370-620}$	3.8	ของเหลวหนืดสีเหลือง
6.2.10	ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621-}	1114	ของแข็งเป็นแผ่นผลึกสีเหลืองปนสีขาว

นำส่วนกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 มาทำการทดสอบด้วยเทคนิค TLC ต่อไป

<u>ผลการทดสอบด้วย TLC ของสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2.10</u>

Code No. : ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621}

ตารางที่ 4.10 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 ด้วย TLC โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า

สาร	ผลการสังเกต
กลุ่มย่อยที่ 6.2.10	ไม่พบจุดของสาร

ตารางที่ 4.11 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 ด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV

สาร	UV 254 nm	UV 366 nm
กลุ่มย่อยที่ 6.2.10	ไม่พบจุดของสาร	ไม่พบจุดของสาร

ตารางที่ 4.12 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 ด้วย TLC โดยการทดสอบกับ Developing Solvent

สาร	ผลของการทดสอบ
สารกลุ่มย่อยที่ 6.2.10	ไม่พบจุดของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสารกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อทดสอบกับ TLC แล้วไม่ให้ผลใดๆทั้งสิ้น รวมถึงเมื่อนำไปทำการวิเคราะห์โครงสร้างโดยเทคนิค FT-IR ไม่พบหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญใดๆ เช่นเดียวกัน จึงสรุปได้ว่าสารกลุ่มย่อยที่ 6.2.10 เป็นสารประกอบเกลือ จึงไม่ได้นำมาทำการศึกษาต่อ

ตารางที่ 4.13 น้ำหนักของสารประกอบเกลือ

สารประกอบเกลือจาก	Code No.	นน.สารประกอบเกลือ	% เทียบกับ crude
สารกลุ่มย่อยที่ 6.2.10	ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621}	1114 mg	0.944

จากนั้นแบ่งส่วนกลุ่มที่ 9 (ZA(SB)-EtOAc-$P_{45\text{-}55}/F_{288\text{-}646}$) 105.168 กรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Dichloromethane –Ethyl acetate ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 4 กลุ่ม

ตารางที่ 4.14 ผลการแยกสารจากกลุ่ม 9 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc-$P_{45\text{-}55}/F_{288\text{-}646}$

Stationary phase : Silica เบอร์ 7729

Pack column : ไดคลอโรมีเทนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซิเตท

Solvent system : 100 %แอทิลอะซิเตต

กลุ่มย่อย	Code No.	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
9.1	ZA(SB)-EtOAc-$P_{78}/F_{1\text{-}21}$	300	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
9.2	ZA(SB)-EtOAc-$P_{79}/F_{22\text{-}53}$	340	ของแข็งผลึกทรงกลมสีน้ำตาล
9.3	ZA(SB)-EtOAc-$P_{80\text{-}83}/F_{54\text{-}135}$	68.8	ของแข็งแผ่นสีขาว
9.4	ZA(SB)-EtOAc-$P_{83\text{-}84}/F_{136\text{-}189}$	245.9	ของแข็งสีน้ำตาล

จากนั้นแบ่งส่วนกลุ่มย่อยที่ 9.2 (ZA(SB)-EtOAc-$P_{79}/F_{22\text{-}53}$) 340 มิลลิกรัม มาแยกด้วย Column chromatography (ซิลิกาเจล 60 Gf_{254} 100 กรัม ชะด้วย Dichloromethane –Ethyl acetate ครั้งละ 5 % จนถึง 100% สุดท้ายชะด้วย MeOH 100% ชะด้วยตัวทำละลายระบบตัวละ 500 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 4 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 ผลการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2 โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รหัสสารตัวอย่าง : ZA(SB)-EtOAc-P_{79}/F_{22-53}

Stationary phase : Silicag เบอร์ 7729

Pack column : ไดคลอโรมีเทนเพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซิเตท

Solvent system : 20%เอทิลอะซิเตท: 80%ไดคลอโรมีเทน

กลุ่มย่อย	Code No.	น้ำหนัก (mg)	ลักษณะสาร
9.2.1	ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{1-17}	120.2	ผลึกเข็มผสมของแข็งสีเหลือง
9.2.2	ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}	63.4	ผลึกแผ่นสีเหลือง
9.2.3	ZA(SB)-EtOAc-P_{89-90}/F_{25-84}	96.7	ผลึกสีน้ำตาลทรงกลม
9.2.4	ZA(SB)-EtOAc-P_{90}/F_{85-}	687	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลผสมสีขาว

4.4 การทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification)

ในการแยกสารบริสุทธิ์เราจะเลือกนำส่วนประกอบที่น่าสนใจ กล่าวถือการตกผลึกหรือแยกได้ง่าย

ผลการทดสอบด้วย TLC ของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2

Code No. : ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}

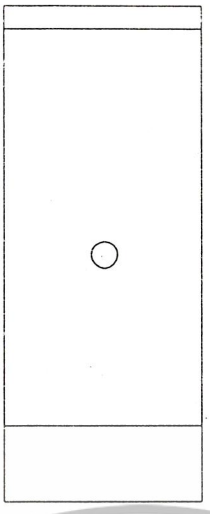
ตารางที่ 4.16 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 ด้วย TLC โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า

สาร	ผลการสังเกต
กลุ่มย่อยที่ 9.2.2	ไม่พบจุดของสาร

ตารางที่ 4.17 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 ด้วย TLC โดยการทดสอบกับรังสี UV

สาร	UV 254 nm	UV 366 nm
กลุ่มย่อยที่ 9.2.2	1 จุด	ไม่พบจุดของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



254 nm

รูปที่ 4.4 การแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 ด้วย TLC โดยทดสอบกับรังสี UV ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm

ตารางที่ 4.18 ผลการแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 ด้วย TLC โดยการทดสอบกับ Developing Solvent

สาร	ผลของการทดสอบ
สารกลุ่มย่อยที่ 9.2.2	1 จุด

366 nm

รูปที่ 4.5 การแยกส่วนประกอบทางเคมีของสารจากกลุ่มย่อยที่ 9.2.2 ด้วย TLC โดยทดสอบกับ Developing Solvent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 น้ำหนักของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์จาก	Code No.	สารบริสุทธิ์
สารกลุ่มย่อยที่ 9.2.2	ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}	63.4 mg

ตารางที่ 4.20 น้ำหนักและ R_f ของสารบริสุทธิ์

สารบริสุทธิ์จาก	น้ำหนัก (g)	Yield เทียบกับ Crude*	Yield เทียบกับตัวอย่างสมุนไพร	รหัส	R_f
ZA(SB)-EtOAc-P_{79}/F_{23-25}	63.4	2.536	0.1268	ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}	0.347

*น้ำหนักCrude ที่แยกด้วยยคอลัมน์ 25 กรัม

4.5 การตรวจสอบโครงสร้างและจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์

4.5.1 ผลการตรวจสอบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR, C^{13}-NMR และ FT-IR

ตารางที่ 4.21 การวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR Spectra (300 Hz) MeOH-d_4 พบข้อมูลดังนี้

δ (ppm)	Type of peak	Integration of peak	Available functional group	ตำแหน่งของคาร์บอน
6.91	singlet	1	โปรตอนของวงอะโรมาติก	2′
6.7	singlet	2		5′,6′
5.89	singlet	2		6,8
4.55	singlet	1	C-C<u>H</u>-O	2
4.12	singlet	1	C-CH-O-H	3
2.55	a,b quartet	2	Y-C<u>H</u>$_2$-Y	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ด้วยเทคนิค C^{13}-NMR

ตารางที่ 4.22 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ด้วยเทคนิค ^{13}C-NMR ให้ข้อมูลดังนี้

δ (ppm)	Available functional group	ตำแหน่งของคาร์บอน
29.26	คาร์บอน 1 ตัวของ -CH_2-ที่อยู่ในcyclic ที่มี -O- อยู่ในวง	4
67.48	คาร์บอน 1 ตัวของ ตัวที่อยู่ใน cyclic ที่มี -O- อยู่ในวง	3
79.87	คาร์บอน 1 ตัวของ ตัวที่อยู่ใน cyclic ที่มี -O- อยู่ในวง	2
95.89	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติกที่ติดกับcyclic	6
96.39	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติกที่ติดกับcyclic	8
100.08	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติกที่ติดกับcyclic	4a
115.32	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	2′
115.90	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	5′
119.40	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	6′
132.28	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	1′
145.77	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	4′
145.93	คาร์บอน 1 ตัว ของ -C=C- ในวงอะโรมาติก	3′
157.37	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติก ที่ติดกับCyclic ซึ่งตัวมันติดกับ-OH	8a
157.66	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติก ที่ติดกับcyclicซึ่งตัวมันติดกับ-OH	5
157.99	คาร์บอน 1 ตัวของวงอะโรมาติก ที่ติดกับcyclicซึ่งตัวมันติดกับ-OH	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ผลการทดสอบหาจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์

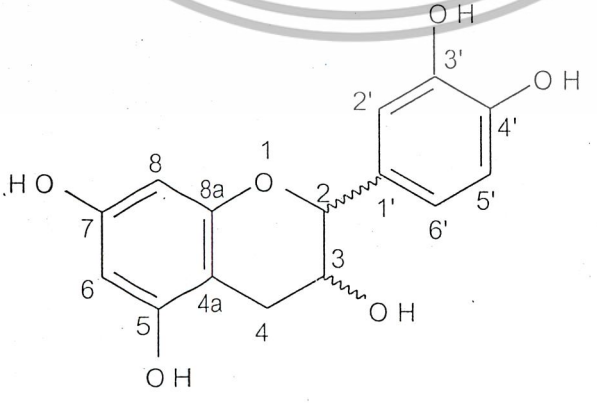
ทำการหาจุดหลอมเหลวด้วยเครื่องหาจุดหลอมเหลว สามารถหาจุดหลอมเหลวของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ได้ประมาณ 210.5-215.0 °C

4.5.4 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ด้วยเทคนิค FT-IR

ตารางที่ 4.23 สัญญาณของFT- IR สเปกตรัมที่ตรวจพบใน ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}

ความถี่ (cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชันที่พบ
ช่วง 3250-3600	O-H stretching ของหมู่ไฮดรอกซิล
ช่วง 3000-3200	C-H stretching ของอะโรมาติก
ช่วง 1520 และ 1625	C=C stretching ของอะโรมาติก
ช่วง 1094-1200	C-O stretching ของอีเทอร์
ที่ 1045	C-O stretching หมู่ไฮดรอกซิล
ที่ 1441 และ 1469	CH_2 bending

จากข้อมูลทาง Spectroscopy โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} ซึ่งสามารถคาดเดาได้จาก ^{1}H-NMR Spectra ^{13}C-NMR Spectra และ FT-IR พบว่าน่าจะเป็นสารที่มีหมู่โครงสร้างของหมู่ไฮดรอกซี และอะโรมาติกเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังมีหมู่อีเทอร์อีกด้วย จากข้อมูลทาง Spectroscopy ของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} นั้นมีลักษณะที่เหมือนกับ Epicatechin ซึ่งได้มีผู้ทำการวิจัยและค้นพบก่อนหน้านี้แล้วในพืชตระกูลเดียวกัน ดังนั้นโครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} จึงมีโครงสร้างเหมือนกับ Epicatechin ดังนี้



รูปที่ 4.6 โครงสร้างของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 วิจารณ์ผลการวิจัย

-NMR Spectra ของ ZA(SB)-EtOAc-P_{89}/F_{18-24} มีสัญญาณรบกวนเป็นจำนวนมากเนื่องจากสารยังมีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอซึ่งมีสารอื่นๆในช่วงความเป็นขั้วใกล้เคียงกันปนเปื้อนอยู่

-การใช้เวลาในการทำคอลัมน์โครมาโทรกราฟีนานเกินไปทำให้สารบางชนิดเกิดการสลายตัวไปก่อน ทำให้เสียเวลาในการวิจัยเป็นอย่างมาก

-ในการทำคอลัมน์โครมาโทรกราฟีมีการเพิ่มขั้วสารละลายเร็วเกินไปทำให้สารที่มีขั้วใกล้เคียงกันไม่สามารถแยกออกจากกันได้

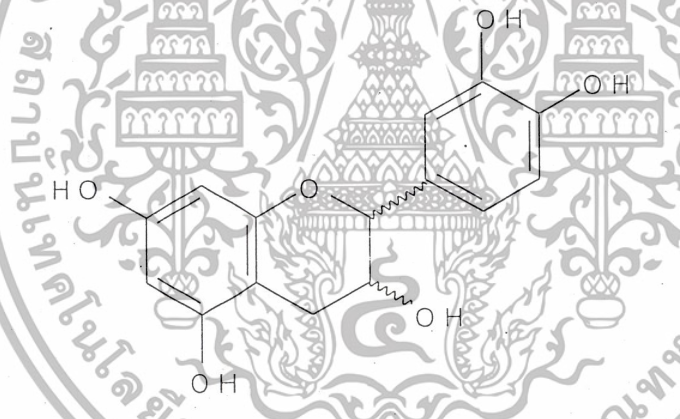
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

1.สามารถสกัดสารจากเปลือกต้นกำลังเสือโคร่ง (*Zizyphus attopensis*) ด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทได้สารสกัดหยาบ (Crude Extract) 2.359% จากน้ำหนักพืชตัวอย่าง มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม และสามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดได้ 10 ส่วนย่อย

2. สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดส่วนย่อยที่ 9 ได้ ZA(SB)-EtOAc-$P_{89}/F_{18\text{-}24}$ มีปริมาณ 2.536%โดยน้ำหนักของสารสกัดเบื้องต้นมีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง จุดหลอมเหลวช่วง 210.5 ºC- 215.0 ºC จากการศึกษาโดยวิธีสเปกโทรสโคปีและโดยการเปรียบเทียบข้อมูลสเปกโทรสโคปีกับที่มีรายงานไว้แล้วพบว่าสารบริสุทธิ์ที่ได้เป็นสารจำพวก Phenolic Compound คือ Epicatechin ซึ่งจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า Epicatechin มีคุณสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่ดีมาก เนื่องจากโครงสร้างสามารถเกิดเรโซแนนซ์ได้ดี[7] และยังพบว่าเป็นสารที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมของยารักษาโรคเบาหวานด้วย[7]



รูปที่ 5.1 โครงสร้างของ Epicatechin

3.สามารถแยกสารประกอบเกลือจากสารสกัดส่วนที่ 6 ได้ ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621} มีปริมาณ 0.944 % โดยน้ำหนัก ของสารสกัดเบื้องต้นมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน

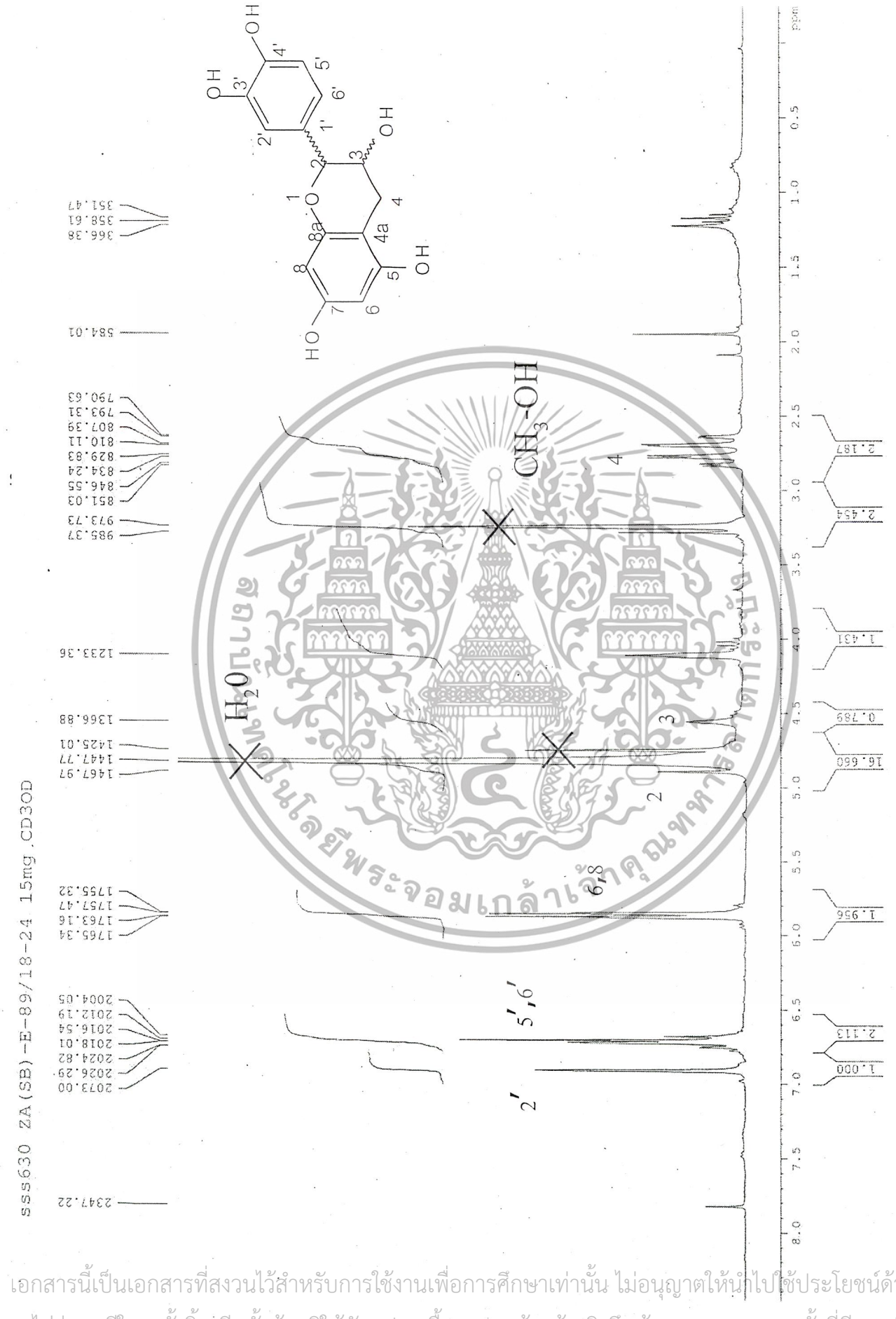
5.2 ข้อเสนอแนะ

1.ควรทำการทดลองเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบว่าสารบริสุทธิ์ที่ได้เป็น (+) Epicatechin หรือ (-) Epicatechin และนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพด้วย

2.เนื่องจากสารสกัดส่วยย่อยอื่นๆที่ยังไม่ได้นำมาทำการแยกองค์ประกอบทางเคมี บางส่วนมีองค์ประกอบเป็นผลึกจึงควรนำมาทำการทดลองเพิ่มเติมต่อไป

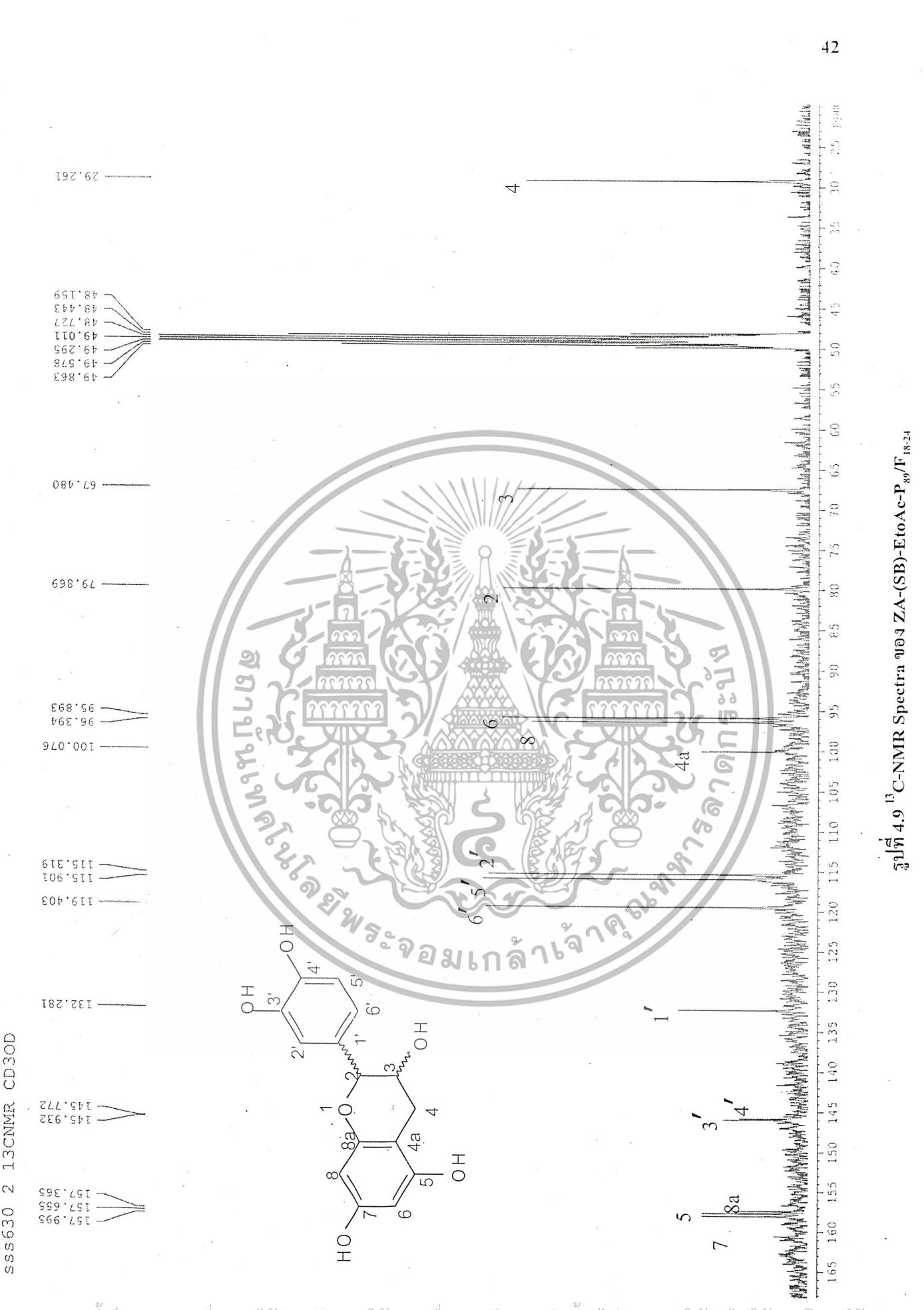
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 FT-IR Spectra ของ Salt (ZA(SB)-EtOAc-P_{75}/F_{621})



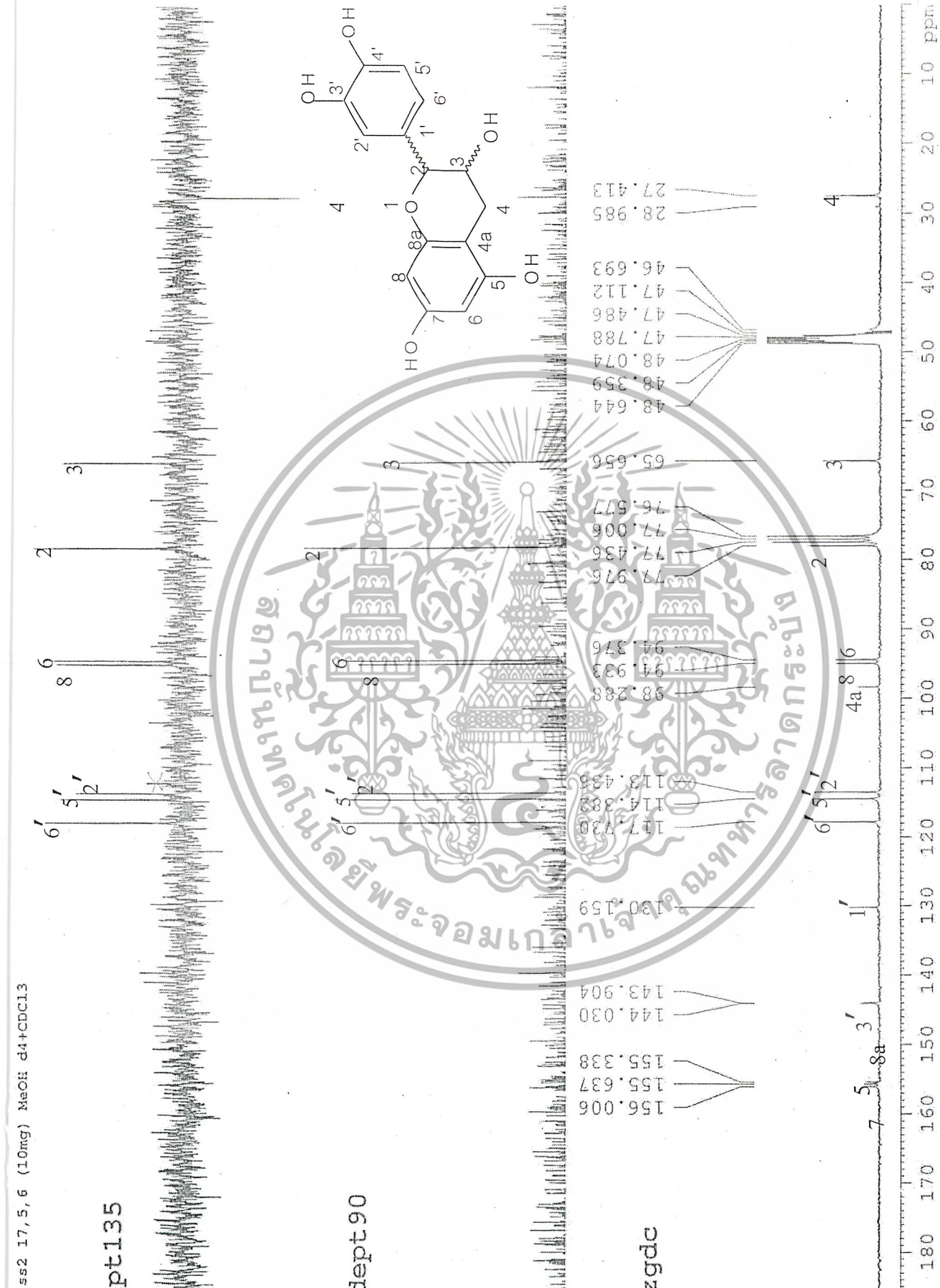
รูปที่ 4.8 ^{1}H-NMR Spectra ของ ZA-(SB)-EtOAc-$P_{89}/F_{18\text{-}24}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ^{13}C-NMR Spectra ของ ZA-(SB)-EtoAc-P_{89}/$F_{18\text{-}24}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ^{13}C-NMR Spectra ของ Epicatechin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.11 FT-IR Spectra ของ ZA-(SB)-EtoAc-$P_{89}/F_{18\text{-}24}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1.นิจศิริ เรืองรังษี และพะยอม ตันติวัฒน์. 2534. ***พืชสมุนไพร***. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

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

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

4.ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545. ***การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว***. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

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

6.Nonaka,G.; Kawahara,O; Nishioka ,I.***Chem.Pharm.Bull.***1983,31,3906-3914.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้