สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลของเล็บเหยี่ยว

นางสาวพรวิสา อุณหวัฒนไพบูลย์ รหัส 45050127
นางสาววรัญญา จิระชัยพันธุ์ รหัส 45050142
นายสุรชาติ อยู่หุ่น รหัส 45050162

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107758
วัน,เดือน,ปี 10 พ.ค. 2553
b 12210bAX
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Chemical Constitutes of *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill.

Miss Pornvisa Unthawatanapaibul 45050127

Miss Waranya Jirachaiphan 45050142

Mr. Zurachart Yuhun 45050162

A Special Project Submitted in Partical 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 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลของเล็บเหยี่ยว (*Ziziphus oenoplia* (L.) Mill.)	
นักศึกษา	นางสาวพรวิสา อุณหวัฒนไพบูลย์	รหัส 45050127
	นางสาววรัญญา จิระชัยพันธุ์	รหัส 45050142
	นายสุรชาติ อยู่หุ่น	รหัส 45050162
ภาควิชา	เคมี	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2548	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์	
	รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ	

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

.....

ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี
หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลของเล็บเหยี่ยว (*Ziziphus oenoplia* (L.) Mill)	
นักศึกษา	นางสาวพรวิสา อุณหวัฒนไพบูลย์	รหัส 45050127
	นางสาววรัญญา จิระชัยพันธุ์	รหัส 45050142
	นายสุรชาติ อยู่หุ่น	รหัส 45050162
ภาควิชา	เคมี	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2548	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์	
	รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ	
ภาควิชา	เคมี	
ปีการศึกษา	2548	

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีของผลเล็บเหยี่ยว (*Ziziphus oenoplia*) ในสารสกัดชั้นเมทานอล โดยการนำผลเล็บเหยี่ยวที่แห้ง (3.2 กิโลกรัม) มาบดละเอียดและทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและตามด้วยเมทานอล หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (40 กรัม) มาแยกและตรวจสอบ โดยวิธีโครมาโทกราฟี ซึ่งในการแยกสารจากผลของเล็บเหยี่ยว พบสารประกอบ triterpene 1 ชนิด คือ betulinic acid มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี สำหรับการพิสูจน์โครงงานสร้างของสารใช้วิธีทางสเปคโตรสโคปี ประกอบกับการเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกโตรสโคปีกับข้อมูลของสารที่มีผู้รายงานไว้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	The Chemical Constitutes from the fruits of *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill
Name	Miss Pornvisa Unthawatanapaibul Miss Waranya Jirachaiphan Mr. Zurachart Yuhun
Special Project Advisor	Assoc.Prof.Dr.Theerawat Mongkolaussavarat Assoc.Prof.Dr.Sunit Suksamram
Department	Chemistry
Academic	2005

Abstract

The aim of project to study the chemical constituents of the dried fruit of *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill.. The dried fruit (3.2 kg) was extracted with ethyl acetate followed with methanol. Column chromatography of the methanol extract (40.0 g) gave a triterpene, betulinic acid, as a colorless needle. The structure of the compound was elucidated by spectroscopic method and by comparison with the reported values in the literature.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือของคณาจารย์ บุคลากร **และเจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้อง ที่คอยอำนวยความสะดวกในทุกๆด้าน**

ขอขอบคุณ รศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์ ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ คำวิจารณ์ คำชม สถานที่**ในการปฏิบัติการทางด้านเอกสาร** และความช่วยเหลือแก่พวกเรา

ขอขอบคุณ รศ.ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ทั้งข้อเสนอแนะ ข้อคิดคติเตือนใจ ตั้งแต่วันแรกที่พวกเราก้าวเข้าทำโครงงานพิเศษที่มหาวิทยาลัยของอาจารย์

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

ขอขอบคุณ น.ส.พนมวรรณ ปานสีทา และน.ส.ชนิดาภา กัญจนวัตตะ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการจัดหาเครื่องมืออุปกรณ์ในการทดลองที่จำเป็น

ขอขอบคุณ นายพิชิต สุดตา ที่คอยให้ความช่วยเหลือในเรื่องการทดสอบทางเครื่องมือ

ขอขอบคุณ นายภัทรภูมิ ลิ้มนุสนธิ์ นายธงชัย ขำมี น.ส.อมรมาศ จรัสรุ่งทวี น.ส.นวรัตน์ มณีแก้ว และพี่ๆปริญญาโทมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่มิได้เอ่ยนาม ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำทุกครั้งที่เกิดปัญหาด้วยความยินดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์ทดลองและแม่บ้านที่คอยให้ความช่วยเหลือทุกครั้งที่เราต้องการ

ขอขอบคุณบิดามารดาที่สนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษและขอบคุณกำลังใจจากเพื่อนสนิทและบุคคลอื่น ที่ทำให้โครงงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ พร้อมกับคุณธรรมประจำใจ

นางสาวพรวิสา อุณหวัฒนไพบูลย์
นางสาววรัญญา จิระชัยพันธุ์
นายสุรชาติ อยู่หุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
บัญชีภาพประกอบ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
อภิธานศัพท์	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ภูมิหลัง	1
1.2 ความมุ่งหมายของการวิจัย	3
1.3 ความสำคัญของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 สมุนไพร	4
2.2 ทฤษฎีที่ใช้ในการทดลอง	10
2.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	15
3.2 วิธีการทดลอง	16
3.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเมทานอลและการทำสารให้บริสุทธิ์	19
3.4 การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้	24
บทที่ 4 ผลการวิจัย	-
4.1 ผลการสกัดจากผลเล็บเหยี่ยว	25
4.2 ผลการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้นเมทานอล	25
4.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid	40
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	
5.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์	41
5.2 การพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid ที่แยกได้	41
5.3 ข้อเสนอแนะ	42
บรรณานุกรม	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในเล็บเหยี่ยว	13
2	ขั้นตอนการสกัดสารจากผลเล็บเหยี่ยว	19
3	ขั้นตอนแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์	20
4	การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเมทานอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ชนิดเร็ว	24
5	TLC รวมจากการแยกสารจากสารสกัดชั้นเมทานอล	28
6	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มที่ 2	30
7	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 2.3	32
8	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มย่อยที่ 2.6	34
9	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มที่ 4	36
10	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มที่ 5	38
11	TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มที่ 8	40
12	โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid ที่แยกได้	41
13	^{1}H NMR spectra ของสารประกอบ A	44
14	^{1}H NMR spectra ของ Authentic betulinic acid	45
15	^{1}H NMR spectra ของสารประกอบ B	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในคอลัมน์โครมาโทกราฟีชนิดเร็ว	27
2	ผลการแยกสารจากสารสกัดชั้น MeOH	28
3	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 2 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	29
4	ผลการแยกสารจากกลุ่มที่ 2 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	30
5	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	31
6	ผลการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	32
7	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.6 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	33
8	ผลการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.6 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	33
9	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 4 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	35
10	ผลการแยกสารกลุ่มที่ 4 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	36
11	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 5 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	37
12	ผลการแยกสารกลุ่มที่ 5 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	38
13	ระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 8 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	39
14	ผลการแยกสารกลุ่มที่ 8 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี	40
15	ข้อมูล ^{1}H NMR ของ Betulinic acid และ ^{1}H NMR ของสารประกอบที่แยกได้	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อภิธานศัพท์

δ	=	Chemical shift
^{1}H NMR	=	Proton Nuclear Magnetic Resonance
B	=	Authentic betulinic acid
br	=	broad
$CDCl_3$	=	Deuterochloroform
$CHCl_3$	=	Chroloform
CH_2Cl_2	=	Dichloromethane
d	=	doublet
dd	=	doublet of doublet
EtOAc	=	Ethyl acetate
J	=	coupling constant
m	=	multiplet
MeOH	=	Methanol
MHz	=	Mega Hertz
mp	=	Melting point
s	=	singlet
t	=	triplet
TLC	=	Thin layer chromatography
UV	=	Ultraviolet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1ภูมิหลัง

เล็บเหยี่ยว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill. (วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล. 2539 : 229) อยู่ในวงศ์ Rhamnaceae (นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543 : 291-292)

พืชในวงศ์นี้มีกระจายอยู่ทั่วโลกประมาณ 900 ชนิด พบมากในบริเวณที่แห้งแล้ง (Gardner, Sidisunthorn & Anusarnsunthorn. 2000 : 130) และมีสมาชิกอยู่ 58 สกุล ลักษณะเป็นไม้พุ่มตั้งตรงหรือเลื้อยปีนป่ายด้วยหนามที่โค้ง พืชในสกุล *Ziziphus* มี 100 ชนิดที่พบกระจายทั่วไปในบริเวณเขตร้อนของอเมริกา แอฟริกา แถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย รวมทั้งยังพบในเขตร้อนของอินเดีย เนปาล ปากีสถาน ภูฏาน บังกลาเทศ และศรีลังกา (Bhattacharyya & Johri. 1998 : 326-328) พืชในสกุล *Ziziphus* ที่พบในประเทศไทย (เต็ม สมิตินันทน์. 2544 : 564-565) ได้แก่

1. พุทราใบเหลี่ยม *(Z. angustifolia* (Miq.) Hatus. ex Steenis)
2. กำลังเสือโคร่ง *(Z. attopoensis* Pierre)
3. ชินซี่ *(Z. calophylla* Wall.)
4. ตาฉู่แม *(Z. incurva* Roxb.)
5. พุทราจีน *(Z. jujuba* Mill.)
6. พุทรา *(Z. mauritiana* Lam. หรือ *Z. jujuba* Lam.)
7. เล็บเหยี่ยว *(Z. oenoplia* (L.) Mill. var. *oenoplia*)
8. หนามเล็บแมว *(Z. oenoplia* (L.) Mill. var. *brunoniana* Tardieu)
9. มะควัด *(Z. rugosa* Lam.)

พืชในสกุล *Ziziphus* มีหลายชนิดที่ใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน เช่น พุทรา (Z. mauritiana หรือ *Z. jujuba)* ใช้ส่วนเปลือกแก้ท้องร่วง อาเจียน ฝีในคอ ฝีเปื่อยพัง แก้บวม ขับพยาธิ ตกโลหิต ใบใช้แก้หวัดคัดจมูก พิษฝี ขับพยาธิ แก้บวม ตกโลหิต ท้องเสีย บิด มูกเลือด อาเจียน ส่วนผลใช้แก้ท้องร่วง แก้ไข้ ฟอกเลือด เป็นยาระบาย ขับเสมหะ แก้ไอ (นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542 : 328-329) ในประเทศเกาหลีใช้ผลของพุทราจีน *(Z. jujuba)* ที่เรียกว่า Daechu เป็นยากล่อมประสาท (Sedative) ยาบำรุงกำลัง (Han, Park & Wah. 1987 : 3957-3958) รักษาโรคนอนไม่หลับและอาการอ่อนเพลียทางระบบประสาท (Woo, et al. 1980 : 2791-2793) ในทางการแพทย์ของอินเดียใช้มะควัด *(Z. rugosa)* รักษาโรคท้องร่วง อาการปวดขณะมีประจำเดือน และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อโรคทางฟัน (Acharya, et al. 1988 : 200-202) ในตำรายาสมุนไพรพื้นบ้านได้นำส่วนรากและเปลือกต้นของเล็บเหยี่ยว *(Z. oenoplia)* ต้มดื่มขับระดูขาว ขับปัสสาวะ แก้มดลูกพิการ แก้ฝีในมดลูก และเบาหวาน ส่วนผลใช้แก้เสมหะ แก้ไอ และทำให้ชุ่มคอ (วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540 : 402) ส่วนของหนามใช้แก้ฝีประคำร้อย (นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543 : 291-292)

เล็บเหยี่ยวมีชื่ออื่นคือตาฉู่แม ไลชูมี และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่นดังนี้ ภาคเหนือ เรียกว่า หนามเล็บเหยี่ยว เล็ดเหยี่ยว มะตันขอ หมากหนาม ภาคกลาง เรียกว่า เล็บเหยี่ยว เล็ดเหยี่ยว พุทราขอ และภาคใต้ เรียกว่า ยับยิ้ว สั่งคัน แสงคำ (เต็ม สมิตินันทน์. 2544 : 564-565 ; วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล. 2539 : 229) เล็บเหยี่ยวเป็นไม้พุ่มพาดพันหรือเลื้อยหรือไม้เถาขนาดเล็กเป็นไม้เนื้อแข็ง สูงประมาณ 3-5 เมตร กิ่งอ่อนมีขนสั้นหนานุ่มและขนแข็งเอนสีน้ำตาล มีหนามแหลมเดี่ยวหรือคู่โค้งคล้ายเล็บเหยี่ยวเล็กๆ ทั่วทั้งต้น มักโค้งยาว 3.5-6.0 มิลลิเมตร และมีขนสั้นหนานุ่มสีน้ำตาลที่โคนหนาม มีใบเดี่ยวเรียงสลับเป็นรูปไข่แกมใบหอกเบี้ยว ใบมีขนาดกว้าง 1.5-3.0 เซนติเมตร ยาว 2.4-6.5 เซนติเมตร ใบอ่อนจะมีขนปกคลุม เมื่อเริ่มแก่หลังใบจะเกลี้ยงหรือมีขนท้องใบมีขนแบนชิดสีน้ำตาลทอง โคนใบแหลมเบี้ยว ปลายใบแหลมกึ่งแหลมเรียว ขอบใบหยักฟันเลื่อยละเอียด มีเส้นใบออกจากโคนใบ 3-4 เส้น ก้านใบยาว 3.0-6.0 มิลลิเมตร มีขนหนานุ่มสีน้ำตาล ดอกเป็นดอกช่อกระจุกออกที่ซอกใบ ประกอบด้วยดอกย่อย 20-25 ดอก ก้านดอกยาวประมาณ 3.0 มิลลิเมตร มีขนสั้นหนานุ่มสีน้ำตาล กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันปลายแยกเป็นแฉกรูปสามเหลี่ยมหรือรูปไข่ ยาว 1.5-2.0 มิลลิเมตร กลีบดอกเป็นรูปไข่กลับ ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ปลายเว้าตื้นสีเขียว เกสรตัวผู้ยาวเท่าๆ กลีบดอก ผลสด เมล็ดแข็ง มีรูปทรงกลมหรือทรงรูปไข่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 มิลลิเมตร เมื่อผลสุกจะมีสีดำผิวเป็นมันมีรสหวานอมเปรี้ยว เมล็ดเป็นทรงรูปไข่มี 1-2 เมล็ดต่อผล จะพบเล็บเหยี่ยวขึ้นตามป่าละเมาะทั่วไป และมีการขยายพันธุ์โดยเมล็ด(นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543 : 291-292; วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล. 2539 : 229)

ด้วยเหตุที่ต้นเล็บเหยี่ยวมีสรรพคุณมากมาย ประกอบกับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว (Suksumrarn et al., 2005) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารที่แยกได้จากรากของเล็บเหยี่ยวมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลของเล็บเหยี่ยว ซึ่งอาจเป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยทางเภสัชวิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยกสาร และการทำสารให้บริสุทธิ์
2. เพื่อศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลเล็บเหยี่ยว

1.3 ความสำคัญของการวิจัย

1. ศึกษาเทคนิคการแยกสารและการทำให้สารบริสุทธิ์
2. ทำให้ทราบสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลเล็บเหยี่ยว ซึ่งอาจเป็นสารใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้
3. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้อาจเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยทั้งด้านเคมีและเภสัชวิทยาต่อไปในอนาคต

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้ผลของเล็บเหยี่ยว เก็บจากอำเภอตาคลี จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545
2. การสกัดสารจากผลเล็บเหยี่ยวใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย EtOAc และ MeOH ตามลำดับ
3. นำส่วนสกัดเฉพาะชั้น MeOH มาแยก และนำสารที่เป็นองค์ประกอบหลักมาทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatographic techniques)
4. การศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยใช้วิธีทาง สเปกโทรสโคปี ได้แก่ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สมุนไพร

ความหมายของพืชสมุนไพร

"สมุนไพร" นับว่าเป็นยาที่สำหรับรักษาโรคต่างๆ ได้อย่างมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง "พืชสมุนไพร"ทั้งหลาย "พืชสมุนไพร"ที่นำเอามาเป็นส่วนประกอบของยารักษาโรคของคนเรานั้น ได้รับการอนุญาตให้ใช้รักษาความเจ็บป่วยของมนุษย์เราได้ โดยมีพระราชบัญญัติยาพุทธศักราช 2522 ปรากฏออกมา ซึ่งความหมายถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุต่างๆ ซึ่งยังมิได้ผสมปรุงหรือทำการแปรสภาพ เป็นต้นว่า ส่วนของราก หัว เปลือก ใบ ดอก เมล็ด ผล บางท่านอาจจะเข้าใจผิดคิดไปว่า "สมุนไพร" มีแต่พืชอย่างเดียว แต่ในความเป็นจริงยังมีสัตว์และแร่ธาตุอื่นๆ อีก สมุนไพรที่เป็นสัตว์ได้แก่ เขา หนัง กระดูก ดี หรือเป็นสัตว์ทั้งตัวก็มี เช่น ตุ๊กแก ไส้เดือน ม้าน้ำ ฯลฯ

"พืชสมุนไพร" นั้น ตั้งแต่โบราณทราบกันดีว่า มีคุณค่าทางยามากมาย ซึ่งเชื่อกันอีกด้วยว่าต้นพืชต่างๆ ก็เป็นพืชที่มีสารที่เป็นตัวยาด้วยกันทั้งสิ้น เพียงแต่ว่าพืชชนิดไหนจะมีคุณค่าทางยามากน้อยกว่ากันเท่านั้น

อย่างไรก็ดี ปัจจุบัน สมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศมีความต้องการสูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และประเทศต่างๆ ในทวีปยุโรป ซึ่งสมุนไพรส่วนมากไม่สามารถทำการผลิตได้ในประเทศเหล่านี้ อีกทั้งคนส่วนใหญ่นิยมใช้สมุนไพรกันมากในลักษณะของการผลิตเป็นอาหารเสริม จึงมีการสนับสนุนส่งเสริมให้มีการปลูกสมุนไพรทั้งชนิดที่มี การรับรองจากทางวิทยาศาสตร์ และชนิดที่ยังไม่ได้ผ่านการทดลองแต่เคยใช้ได้ผลกันมาแต่โบราณ สำหรับในประเทศไทยนั้นมีสมุนไพรที่สำคัญหลายชนิดที่ตลาดต่างประเทศต้องการ แต่ว่าการผลิตสมุนไพรไทย ส่วนใหญ่ใช้วิธีเก็บหามาจากธรรมชาติ มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่เพาะปลูกและเป็นที่รู้จักกันดีในทางการค้า เนื่องจากการที่จะควบคุมคุณภาพเพื่อส่งออกต่างประเทศทำได้ยาก ดังนั้นการส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้น จะต้องใช้เวลาอีกนานพอสมควร เพื่อให้มีข้อมูลเพียงพอทางด้านวิทยาศาสตร์ พฤกษศาสตร์ สารเคมีในสมุนไพรแต่ละชนิดมีสรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยา ตลอดจนต้องมีการคัดเลือกสมุนไพรที่ถูกต้องตามความต้องการของตลาดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"พืชสมุนไพร" หรือวัตถุธาตุนี้ หรือตัวยาสมุนไพรนี้แบ่งออกเป็น 5 ประการ

1. รูป ได้แก่ ใบไม้ ดอกไม้ เปลือกไม้ แก่นไม้ กระพี้ไม้ รากไม้ เมล็ด
2. สี มองแล้วเห็นว่าเป็นสีเขียวใบไม้ สีเหลือง สีแดง สีส้ม สีม่วง สีน้ำตาล สีดำ
3. กลิ่น ให้รู้ว่ามีกลิ่น หอม เหม็น หรือกลิ่นอย่างไร
4. รส ให้รู้ว่ามีรสอย่างไร รสจืด รสฝาด รสขม รสเค็ม รสหวาน รสเปรี้ยว
5. ชื่อ ต้องรู้ว่ามีชื่ออะไรในพืชสมุนไพรนั้นๆ ให้รู้ว่า ขิงเป็นอย่างไร ข่าเป็นอย่างไร ใบขี้เหล็กเป็นอย่างไร ดอกมะขามเป็นอย่างไร

ลักษณะของพืชสมุนไพร

"พืชสมุนไพร" โดยทั่วไปนั้น แบ่งออกเป็น 5 ส่วนที่สำคัญ คือ

1. ราก
2. ลำต้น
3. ใบ
4. ดอก
5. ผล

"พืชสมุนไพร" เหล่านี้มีลักษณะลำต้น ยอด ใบ ดอก ที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ แต่ส่วนต่างๆ ก็ทำหน้าที่เช่นเดียวกัน เช่น รากก็ทำหน้าที่ดูดอาหารมาเลี้ยงลำต้น กิ่งก้านต่างๆ และใบกับส่วนต่างๆ นั่นเอง ใบก็ทำหน้าที่ปรุงอาหาร ดูดออกซิเจน คายคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ดอก ผล เมล็ด ก็ทำหน้าที่สืบพันธุ์กันต่อไป เพื่อทำให้พืชพันธุ์นี้แพร่กระจายออกไปเรื่อยๆ ไม่มีที่สิ้นสุด

1. ราก

รากของพืชมีหลายชนิด เอามาเป็นยาสมุนไพรได้ดี เช่น กระชาย ขมิ้นชัน ขิง ข่า ขมิ้น อ้อย เป็นต้น รูปร่างและลักษณะของรากแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

-รากแก้ว ต้นพืชมากมายหลายชนิดมีรากแก้วอยู่ นับว่าเป็นรากที่สำคัญมากงอกออกจากลำต้นส่วนปลาย รูปร่างยาวใหญ่เป็นรูปกรวย ด้านข้างของรากแก้วจะแตกแยกออกเป็นรากเล็กรากน้อยและรากฝอยออกมาเป็นจำนวนมาก เพื่อทำการดูดซึมอาหารในดินไปบำรุงเลี้ยงส่วนต่างๆ ของต้น พืชที่มีรากแก้วได้แก่ ต้นขี้เหล็ก ต้นคูน เป็นต้น

-รากฝอย รากฝอยเป็นส่วนที่งอกออกมาจากลำต้นของพืชที่ส่วนปลายงอกออกมาเป็นรากฝอยจำนวนมาก ลักษณะรากจะกลมยาวมีขนาดเท่าๆ กัน ต้นพืชที่มีใบเลี้ยงเดี่ยวจะมีรากฝอย เช่น หญ้าคา ตะไคร้ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ลำต้น

นับว่าเป็นโครงสร้างที่สำคัญของต้นพืชทั้งหลายที่มีอยู่ สามารถค้ำยันเอาไว้ได้ไม่ให้โค่นล้มลง โดยปกติแล้วลำต้นจะอยู่บนดิน แต่บางส่วนจะอยู่ใต้ดินพอสมควร รูปร่างของลำต้นนั้นแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน คือ ตา ข้อ ปล้อง บริเวณเหล่านี้จะมีกิ่งก้าน ใบ ดอก เกิดขึ้นอีกด้วย ซึ่งจะทำให้พืชมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป ชนิดของลำต้นพืช แบ่งตามลักษณะภายนอกของลำต้นได้เป็น

- ประเภทไม้ยืนต้น
- ประเภทไม้พุ่ม
- ประเภทหญ้า
- ประเภทไม้เลื้อย

3. ใบ

ใบเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของต้นพืชทั่วไป มีหน้าที่ทำการสังเคราะห์แสง ผลิตอาหาร และเป็นส่วนที่แลกเปลี่ยนน้ำและอากาศให้ต้นพืช ใบเกิดจากการงอกของกิ่งและตา ใบไม้โดยทั่วไปจะมีสีเขียว(สีเขียวเกิดจากสารที่มีชื่อว่า "คลอโรฟิลล์" อยู่ในใบของพืช) ใบของพืชมีหลายชนิด ใช้เป็นยาสมุนไพรได้ดีมาก ใบที่สมบูรณ์มีส่วนประกอบรวม 3 ส่วนด้วยกัน คือ

- ตัวใบ
- ก้านใบ
- หูใบ

ชนิดของใบ แบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ

1. ชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว หมายถึง ก้านใบอันหนึ่งมีเพียงใบเดียว เช่น กานพลู ยอ ขลู่

2. ชนิดใบประกอบ หมายถึง ตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไปที่เกิดขึ้นมีก้านใบอันเดียว เช่น มะขามแขก แคบ้าน ขี้เหล็ก มะขาม เป็นต้น

4. ดอก

ส่วนของดอกเป็นส่วนที่สำคัญของพืช เพื่อเป็นการแพร่พันธุ์ของพืช เป็นลักษณะเด่นของต้นไม้แต่ละชนิด ส่วนประกอบของดอกมีความแตกต่างกันตามชนิดของพันธุ์ไม้และลักษณะที่แตกต่างกันนี้เป็นข้อมูลสำคัญในการจำแนกประเภทของต้นไม้ รูปร่างลักษณะของดอก ดอกจะต้องมีส่วนประกอบที่สำคัญ 5 ส่วนคือ

- ก้านดอก
- กลีบรอง
- กลีบดอก
- เกสรตัวผู้
- เกสรตัวเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผล

ผลคือส่วนหนึ่งของพืชที่เกิดจากการผสมเกสรตัวผู้กับเกสรตัวเมียในดอกเดียวกันหรือคนละดอกก็ได้ มีลักษณะรูปร่างแตกต่างกันออกไปตามประเภทและสายพันธุ์ รูปร่างลักษณะของผลมีหลายอย่างตามชนิดของต้นไม้ที่แตกต่างกัน แบ่งตามลักษณะของการเกิดได้รวม 3 แบบ

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

มีการแบ่งผลออกเป็น 3 ลักษณะ คือ

3.1 ผลเนื้อ

3.2 ผลแห้งชนิดแตก

3.3 ผลแห้งชนิดไม่แตก

"พืชสมุนไพร" นั้นมีสรรพคุณทางยาดีมาก คนโบราณใช้ทำการรักษาโรคกันมานานแล้ว ควรอนุรักษ์เอาไว้ให้ดี ในวงการแพทย์ก็มองเห็นความสำคัญของพืชที่มีประโยชน์ในทางยานี้มากเช่นเดียวกัน มีการนำเอา "พืชสมุนไพร" ไปสกัดเอาสาระสำคัญที่มีอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์กันมาก ในชนบทที่ห่างไกลก็ใช้ "พืชสมุนไพร" นี้เองช่วยในการบำบัดรักษาโรคและอาการเจ็บไข้ได้ป่วย ซึ่งก็นับว่าได้ผลดีมาก เช่น

ใช้ชุมเห็ดเทศเป็นยาถ่าย ยาระบาย

ใช้บัวบกเป็นยาแก้เจ็บคอ แก้ร้อนใน

ใช้มะนาวเป็นยาแก้เลือดออกตามไรฟันหรือโรคลักปิดลักเปิด

ใช้มะระเป็นยาขมเจริญอาหาร

ใช้กระเพราเป็นยาเพิ่มน้ำนมในสตรีหลังคลอด

ใช้ไพลเป็นยารักษาโรคหืด

ใช้ตำลึงรักษาโรคเบาหวาน

สิ่งเหล่านี้เป็นความสามารถของแพทย์แผนโบราณที่ยึดเอา "พืชสมุนไพร" เป็นหลักในการรักษาโรคที่เกิดขึ้นกันคนเรามานับร้อยนับพันปีมาแล้ว

องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสาระสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาของพืชสมุนไพรเป็นสารเคมีที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Tannin เป็นสารประกอบที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนเมื่อถูกกับเกลือคลอไรด์ของเหล็กจะให้สีเขียว น้ำเงินหรือดำ เนื่องจากมีรสฝาดจึงใช้บรรเทาอาการท้องร่วง และยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อทางแบคทีเรียอีกด้วย

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

3. Cyanogenic glycoside เป็นสารเคมีที่มีอยู่ในพืช เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เกิดปฏิกิริยาทางเคมีจะให้ไซยาไนด์ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เนื่องจากไปแย่งจับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถทำจับกับออกซิเจน สารพวกนี้ถูกทำลายได้โดยใช้ความร้อน มีอยู่ในพืชบางชนิด เช่น มันสำปะหลัง จึงไม่ควรรับประทานสดๆ

4. Alkaloid เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มีคุณสมบัติเป็นด่างเมื่ออยู่ในรูปของเกลือ แต่ถ้าอยู่ในรูปของด่าง จะละลายในตัวทำละลายซึ่งละลายไขมันได้ดี เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เป็นต้น ตัวอย่างของอัลคาลอยด์ ได้แก่ Atropine จากต้นลำโพงมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง

5. Flavonoid เป็นสารประกอบของคาร์บอนและออกซิเจน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างกัน 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 คือส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล การมีน้ำตาลมาเกาะทำให้สารนั้นละลายน้ำได้ดีขึ้น ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสารจำพวกอินทรีย์เคมี ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป เช่นหากว่าเป็น Anthraquinone จะมีฤทธิ์เป็นยาถ่าย ถ้าเป็น Teroid หรือ Triterpine จะมีฤทธิ์ลดการอักเสบหรือการขยายของหลอดลม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสำคัญของพืชสมุนไพร

1. ใช้ในการทำยา
2. ใช้เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการสกัดสารเคมีต่างๆ เพื่อใช้ผลิตยาแผนโบราณต่อไป
3. ใช้ในการปรุงแต่งรส กลิ่น สี ของอาหาร
4. ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น เครื่องดื่ม อาหาร และเครื่องสำอางค์

ข้อดีของสมุนไพร

1. เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่แล้ว
2. มีความปลอดภัยในการใช้ เนื่องจากสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์อ่อนไม่ค่อยมีพิษภัย
3. ประหยัด ราคาถูก
4. เหมาะสำหรับผู้ที่อยู่ห่างไกล ทุรกันดาร
5. ไม่ต้องกลัวปัญหาการขาดแคลนยา
6. เป็นพืชเศรษฐกิจ ทำให้ประหยัดกว่าค่าใช้จ่ายในการซื้อยา สามารถส่งจำหน่ายทั้งภายในและต่างประเทศได้ด้วย

ข้อเสียของสมุนไพร

1. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกชนิด เนื่องจากมีพืชอยู่มากมาย และบางชนิดก็มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้น ก่อนที่จะใช้สมุนไพรต้องมีความมั่นใจว่าเป็นพืชที่ต้องการจริง จึงจะเกิดประโยชน์ในการบำบัดโรคภัยไข้เจ็บ

2. เป็นการยากที่จะเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกขนาด ถูกสัดส่วน

3. การเตรียมค่อนข้างยุ่งยาก กล่าวคือ อาจต้องใช้สมุนไพรหลายชนิดในการเตรียมยาต่อครั้ง หรืออาจจะต้องใช้สารอื่นหรือองค์ประกอบอื่นอีกหลายอย่าง ทำให้ยุ่งยากในการเตรียมยา

4. เห็นผลในการรักษาช้า

5. พืชสมุนไพรบางชนิดอาจจะก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ ฉะนั้นจึงมีข้อจำกัดในการใช้สมุนไพรบางประการ

(1) ควรจะเข้าใจถึงสาเหตุและอาการของโรคให้แน่ชัดเสียก่อน เพื่อป้องกันการใช้สมุนไพรผิดโรค ซึ่งอาจเกิดการกำเริบได้

(2) ต้องรู้ถึงอาการที่ไม่ควรใช้สมุนไพรรักษา โรคบางโรคต้องรีบไปพบแพทย์รักษา

(3) อาจจะเกิดอาการแพ้หลังจากรับประทานยาสมุนไพร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน

(4) ผู้เตรียมยาต้องมีความรู้ทางด้านพฤกษศาสตร์ หรือรู้จักต้นไม้เป็นอย่างดี

(5) ผู้ใช้ต้องใช้ให้ถูกขนาด ถูกวิธี ถูกคน

(6) ต้องเตรียมยาที่สะอาด ใช้สมุนไพรที่สะอาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) หากไม่เคยใช้ยาสมุนไพร ต้องใช้ยาในปริมาณความเข้มข้นต่ำ

(8) การรักษาโรคด้วยยาสมุนไพรครั้งหนึ่งๆ ไม่ควรใช้ยาติดต่อกันนานๆ

ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร

1. อย่าใช้ยาที่ขึ้นราและมีสภาพเก่าจนเสื่อมคุณภาพ
2. ใช้ยาให้ตรงกับโรคและให้ใช้ในปริมาณเพียงพอกับอาการของโรค
3. ระวังอย่าให้มีพืชอื่นหรือวัตถุชนิดอื่นปะปน
4. การใช้ยาสมุนไพรบางชนิดควรงดอาหารที่มันจัดและมีรสจัดทุกชนิด ยาจึงจะมีประสิทธิภาพที่ดี

2.2 ขั้นตอนที่ใช้ในการทดลอง

ในการนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช (Plant material preparation)

นำสมุนไพรที่มาแยกเอาส่วนประกอบที่ต้องการสกัดออกมา จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเพื่อนำไปทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

2.2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช (Extraction)

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ แต่ละวิธีมีทั้งข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน การสกัดที่ใช้ในการวิจัยคือ การสกัดร้อน เป็นกระบวนการสกัดสาระสำคัญจากพืช โดยวิธีแช่สมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดรูปชมพู่ หรือขวดปากกว้าง แช่ไว้ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 2 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ จากนั้นจึงกรองเอาสารละลายที่ได้ แล้วนำกาก (Marc) ที่เหลือจากการกรองไปแช่สารละลายชนิดเดิม ทำเช่นเดียวกันนี้อีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้จากกรองทั้งหมดเก็บไว้ เพื่อทำการสกัดเข้มข้นในขั้นตอนต่อไป

การเลือกตัวทำละลาย

ในการสกัดจะได้ผลหรือไม่ขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ควรมีสมบัติ

(1) เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดสารได้ดีพอ

(2) ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป

(3) ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการต้องการสกัด

(4) ไม่เป็นพิษ

(5) ราคาพอสมควร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 การทำสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน วิธีที่ใช้ในการวิจัยคือ Distillation in vacuum เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลาย ณ ความดันต่ำโดยใช้ Vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย Distillation flask จะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออ่างไอน้ำ เพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ

2.2.4 การแยกส่วนผสม (Separation)

ในพืชแต่ละชนิดจะมีสารเคมีหลายชนิด ดังนั้นสารสกัดที่ได้ในเบื้องต้นจึงเป็นส่วนผสมของสารเคมีเพื่อให้ได้สาระสำคัญที่บริสุทธิ์ จึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคและอุปกรณ์ต่างๆ

Thin-layer Chromatrography(TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้เฟสอยู่กับที่ (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 chromatography

เป็นวิธีแยกสารโดยให้สารเคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ ซึ่งบรรจุในหลอดแก้วกลวง

- คอลัมน์ (Column) เป็นหลอดแก้วกลวง โดยมากจะต้องมีอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวของหลอดแก้วเท่ากับ 1:10 การจะใช้คอลัมน์ยาวเท่าไหร่ ขึ้นอยู่กับความยากง่ายในการแยก ถ้าหากคอลัมน์ยาว จะทำให้การแยกมีประสิทธิภาพดีขึ้น เหมาะสำหรับการแยกสารที่มีจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวดูดซับ (Adsorbent) ชนิดของตัวดูดซับที่ใช้ ก็เช่นเดียวกับตัวดูดซับของ TLC โดยอัตราส่วนของตัวดูดซับที่ใช้ และปริมาณที่จะแยก ขึ้นกับกระบวนการแยก

2.2.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

ใช้เทคนิคทาง Spectroscopy เช่น NMR เป็นต้น ในการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกออกมาได้

2.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของต้นเล็บเหยี่ยวพบสารประกอบหลัก 2 กลุ่ม คือ Cyclopeptide alkaloid และ Triterpene

เนื่องจากมีรายงานการวิจัยของพืชในสกุล *Ziziphus* จำนวนมาก ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะรายงานการวิจัยของเล็บเหยี่ยวที่พบในประเทศไทย ดังนี้

เมนาร์ด และคณะ (Menard, et al. 1963 : 1801-1811) พบสารประกอบ Zizyphin (1) Zizyphinine (2) Betulinic acid (3) และน้ำตาล D-glucose D-fructose sucrose จากส่วนสกัดชั้นเมทานอลของเปลือกราก

เทสชี, เคาส์มานน์ และ เอคคาร์ด (Tschesche, Kaussmann & Eckhardt. 1973 : 2577-2580) พบ Zizyphine A (1) ซึ่งเป็น 13-membered ring cyclopeptide จากเปลือกต้น

เคสเซล และคณะ (Cassels, et al. 1974 : 2461-2466) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ Zizyphine A (1) Zizyphine B (2) Zizyphine C (4) และแบบ 15-membered ring cyclopeptide 4 ชนิด ได้แก่ Zizyphine D (5) Zizyphine E (6) Abyssimine A (7) และ Abyssinine B (8) จากเปลือกต้น โครงสร้างของสารประกอบ 5 และ 6 ต่างจากสารประกอบ 7 และ 8 คือมีหมู่ 3-hydroxy isoleucine

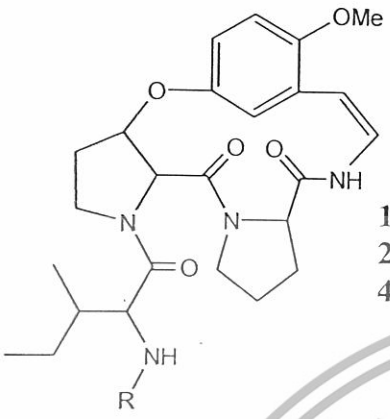
เทสชี และคณะ (Tschesche, et al. 1974 : 2941-2944) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ Zizyphine F (9) และแบบ 14-membered ring cyclopeptide คือ Zizyphine G (10) จากเปลือกต้น

โกการ์ และอะมาด (Khokhar & Ahmad. 1993 : 54-58) พบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ Zizyphine I (11) จากเปลือกต้น

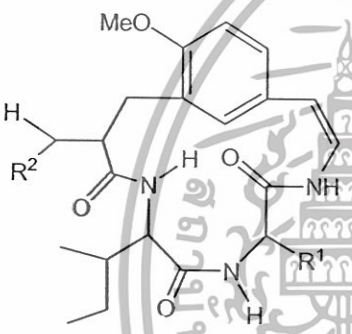
มัวร์ยา และคณะ (Maurya, et al. 1995 : 372) พบสารประกอบ Triterpenoid saponin ชนิดใหม่ คือ Zizyotin (12) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ 13-membered ring cyclopeptide คือ Frangufoline (13) และแบบ 14-membered ring cyclopeptide คือ Mauritine (14) และ Amphibine B (15) จากเปลือกต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

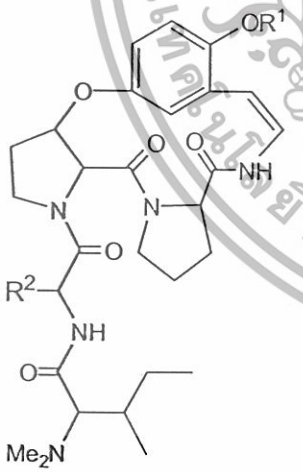
นาฮาร์ และคณะ (Nahar, et al. 1997 : 151-158) พบ Betulinic acid (3) จากส่วนสกัดชั้นคลอโรฟอร์มของเปลือกต้น



1 Zizyphin or zizyphine A : R = *N,N*-dimethyl-Ileu
2 Zizyphinine or zizyphine B : R = *N*-methyl-Ileu
4 Zizyphine C : R = *N,N*-dimethyl-Phe

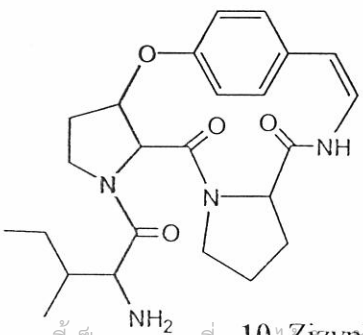


5 Zizyphine D : R^1 = 3-OH Ileu, R^2= Me
6 Zizyphine E : R^1 = 3-OH Ileu, R^2= H
7 Abyssinine A : R^1 = *i*-Bu, R^2= Me
8 Abyssinine B : R^1 = *s*-Bu, R^2= Me

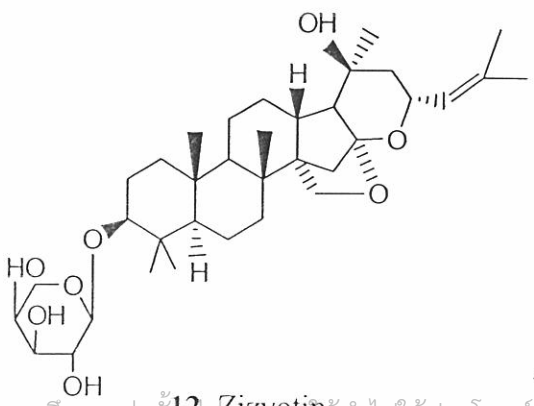


9 Zizyphine F : R^1= H, R^2= CH(Me)Et
11 Zizyphine I : R^1= Me, R^2= CH_2Ph

leu = leucine
Ileu = *iso*leucine
i-Bu = *iso*buthyl
s-Bu = secondarybuthyl
Phe = phenylalanine

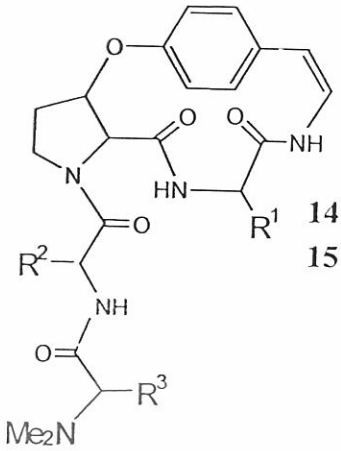


10 Zizyphine G



12 Zizyotin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



14 Mauritine D : $R^1 = R^3 = CH(Me)Et$, $R^2 = CH_2CHMe_2$

15 Amphibine B : $R^1 = R^3 = CH_2Ph$, $R^2 = CH(Me)Et$

ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของสารประกอบบางชนิดในเล็บเหยี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในการวิจัย

ใช้ผลเล็บเหยี่ยวสุกแห้ง เก็บจาก อำเภอตาคลี จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2545

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุและสารเคมี

1. ตัวทำละลายอินทรีย์ (กลั่น)
2. silica gel สำหรับ column chromatography
   - silica gel (< 0.063 mm Merck 1.07729.5000)
   - silica gel (0.063-0.200 mm Merck 1.07734.2500)
3. silica gel สำหรับ thin-layer chromatography
   - silica gel $60GF_{254}$ (Merck 7730.1000)
4. developing reagent (anisaldehyde : conc. H_2SO_4 : glacial acetic acid : methanol ใน อัตราส่วน 0.50 : 4.50 : 10.00 : 85.00)
5. pre-coated TLC aluminum sheets of silica gel $60GF_{254}$ (Merck 1.05554)

อุปกรณ์

1. คอลัมน์แก้วขนาดต่างๆ
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa 240A)
3. หลอดอัลตราไวโอเลต (Spectroline ENF-260 C/F)
4. เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Griffin)
5. Fourier transform infrared spectrophotometer (Perkin Elmer FT-IR spectrum BX)
6. glass drying oven (Buchi B-580)
7. nuclear magnetic resonance spectrometer (Bruker Avance 300)
8. rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-114)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

การเตรียมสารสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายเมทานอล

การสกัดด้วย EtOAc

สกัดผลเล็บเหยี่ยวที่แห้ง บดละเอียด น้ำหนัก 3.2 กิโลกรัม ด้วย EtOAc 3 ครั้ง ครั้งละ 15 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C บนอ่างน้ำร้อน กรองแล้วระเหย EtOAc ออกจนแห้ง ได้ส่วนสกัดชั้น EtOAc 157.9 กรัม

การสกัดด้วย MeOH

กากที่ผ่านการสกัดด้วย EtOAc ตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำมาสกัดด้วย MeOH 3 ครั้ง โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนการสกัดด้วย EtOAc ได้ส่วนสกัดชั้น MeOH 350.0 กรัม

วิธีการหาระบบตัวทำละลายสำหรับใช้ในการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

1. นำสารสกัดหยาบจากชั้นเมทานอล มาใส่ขวดเก็บสาร (Vial) แล้วละลายด้วยเมทานอล
2. สารส่วนใหญ่ที่ละลายอยู่ในชั้นนี้จะเป็นพวกที่มีขั้ว ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วมากกว่า ในที่นี้จะเลือกเมทานอล (มีขั้ว) กับเอทิลอะซิเตต (มีขั้วต่ำกว่า) เทียบอัตราส่วนเพื่อหาระบบของตัวทำละลายที่เหมาะสม
3. ตัดแผ่น TLC ขนาด 1 x 5 cm ทำการจุดสารสกัดหยาบที่ทำการละลายแล้ว ลงบนแผ่น 2 จุด โดยแต่ละจุดมีความเข้มต่างกัน
4. เตรียม 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 ถ้าสามารถแยกได้เป็นจุดๆ ชัดเจน แสดงว่าอัตราส่วนที่ผสมใน TLC tank เป็นระบบตัวทำละลายที่เราต้องการ แต่ถ้ายังไม่แยกเป็นจุดๆ ชัดเจน ให้ทำการเพิ่มหรือลดปริมาณตัวทำละลายนั้นๆ
8. นำแผ่น TLC ไปทดสอบการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
9. นำแผ่น TLC ไปย้อมด้วย Developing solvent โดยวางแผ่น TLC ลงบนกระจก นำสำลีชุบ Developing agent ป้ายให้ทั่วแผ่น จากนั้นนำไปอุ่นบนแผ่นให้ความร้อน (Hot plate) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของจุดที่เกิดขึ้น
10. ใช้ระบบตัวทำละลายที่หาได้ไปใช้ในการแยกสารด้วยเทคนอคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกสารที่อยู่ในชั้นต่างๆ โดยเทคนิค คอลัมน์โครมาโทกราฟี

เตรียมคอลัมน์ชนิดเปียก (wet pack) ทำดังนี้

1. ทำการบรรจุคอลัมน์โดยใช้ ซิลิกาเจล (ขนาดอนุภาค < 0.063 mm)
2. ชั่งซิลิกาเจลใส่บีกเกอร์ แล้วใช้ตัวทำละลายผสมซิลิกาเจล
3. ใช้สำลีอุดคอลัมน์ โดยหยดสารละลายให้ชุ่มสำลี
4. เทซิลิกาเจลที่ผสมตัวทำละลายแล้วลงคอลัมน์พร้อมกับเคาะไปด้วย ร่วมกับการเปิดให้ตัวทำละลายไหลออก แล้วปรับผิวหน้าของซิลิกาเจลให้เรียบ โดยเคาะข้างๆ คอลัมน์เบาๆ โดยไม่ให้มีรอยแตกหรือฟองอากาศอยู่
5. เตรียมสารสกัดหยาบในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลายเล็กน้อยแล้วผสมกับซิลิกาเจล (ขนาดอนุภาค < 0.063 mm) คนให้เข้ากัน แล้วระเหยสารละลายออกไป จากนั้นใส่ Crude extract ที่ผสมกับซิลิกาเจลลงคอลัมน์ โดยใช้ตัวทำละลายให้น้อยที่สุด
6. ทำการชะสารออกมาจากคอลัมน์โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่หาไว้แล้ว ในการเก็บสารละลายแต่ละครั้ง ให้เก็บในปริมาตรที่เหมาะสม
7. ทำการตรวจสอบสารในแต่ละขวดที่ออกจากคอลัมน์ด้วย TLC โดยเทียบกับสารสกัดหยาบ ถ้าสารสกัดที่เราต้องการยังไม่ออกมา อาจจะต้องเพิ่มความมีขั้วของสารละลาย
8. เมื่อพบว่าสารที่ต้องการแยกออกมาแล้ว ทำการจดบันทึกว่าเริ่มแยกออกจากขวดที่เท่าไร และจำนวนเท่าใด
9. รวมสารที่มีอยู่ในขวดเมลงในขวดก้นกลม แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออก
10. เมื่อได้สารบริสุทธิ์อยู่ในขวดก้นกลม ทำการชั่งแล้วจดน้ำหนักสารที่ได้ออกมาและเก็บไว้ เพื่อทำการตรวจสอบและวิเคราะห์หาโครงสร้างสารต่อไป

การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลเล็บเหยี่ยว

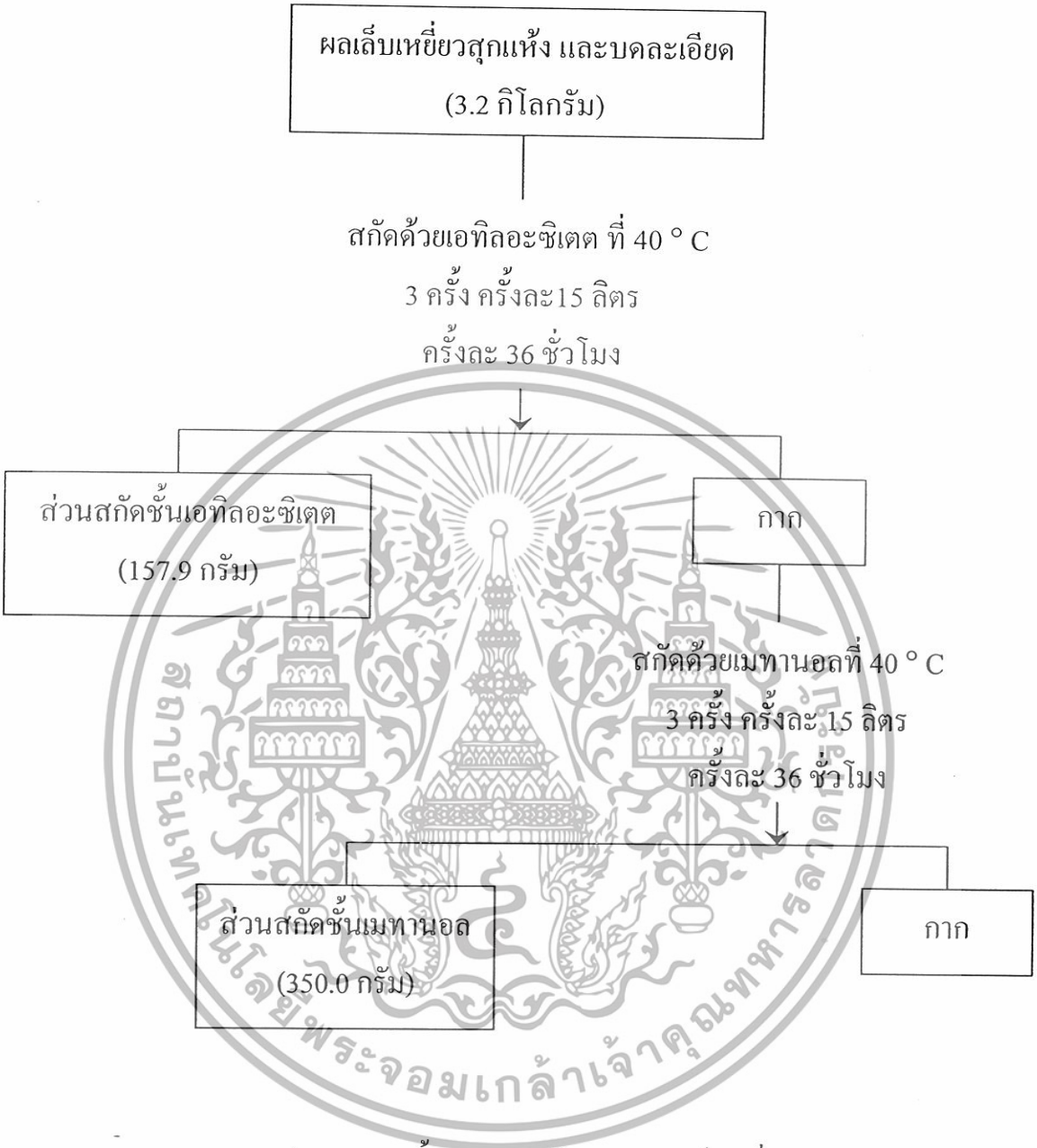
นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาศึกษาข้อมูล ด้วยการหาจุดหลอมเหลว (mp) และศึกษาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโคปี

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจากสเปกโทรสโคปี มาวิเคราะห์เพื่อหาสูตร โครงสร้างของสารบริสุทธิ์

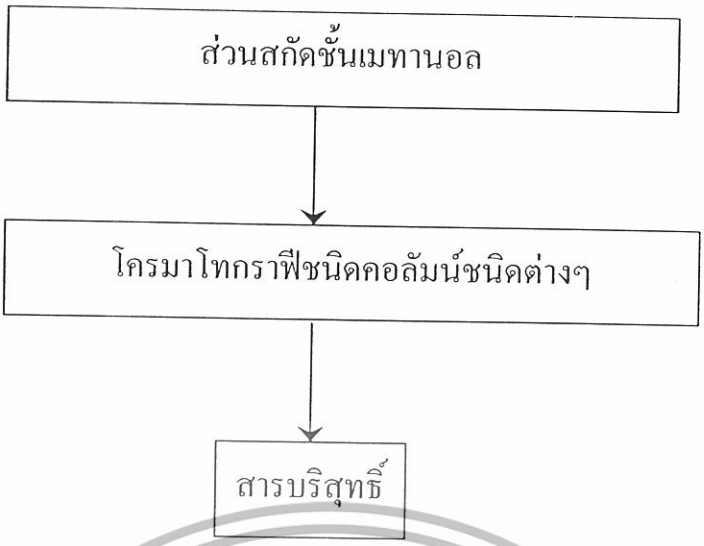
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

107758



ภาพประกอบ 2 ขั้นตอนการสกัดสารจากผลเล็บเหยี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพประกอบ 3 ขั้นตอนแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์

3.3 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น MeOH และการทำสารให้บริสุทธิ์

แบ่งส่วนสกัดชั้น MeOH 40.2 กรัม มาผสมกับซิลิกาเจล 40 กรัม นำมาแยกด้วย quick column [บรรจุซิลิกาเจล (60 GF_{254}) 120 กรัม ใน sinter glass (No.2) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 cm แบบ dry pack ชะด้วย CH_2Cl_2 CH_2Cl_2- EtOAc EtOAc CH_2Cl_2- MeOH สุดท้ายชะด้วย 50% MeOH/H_2O ชะด้วยตัวทำละลายระบบละ 300 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร] แต่ละส่วนที่เก็บได้รวมให้เป็นกลุ่มๆ โดยการตรวจสอบด้วย TLC

การหาตำแหน่งของสารใน TLC ทราบได้จากการมองเห็นภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV ; 254 และ/หรือ 365 nm) หรือใช้ Developing reagent บนแผ่น TLC นำไปให้ความร้อนที่ 80-120 °c นาน 1-2 นาที จะปรากฏเป็นสีที่แตกต่างกัน รวมส่วนที่ให้ผล TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน แต่ละกลุ่มที่รวมได้นำไประเหยตัวทำละลายให้แห้ง กลุ่มสารต่างๆ ที่ได้นำไปแยกและทำสารให้บริสุทธิ์ โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (CC) กลุ่มสารทั้งหมดที่แยกได้มี 11 กลุ่ม

กลุ่ม 1 เป็น oil สีเหลือง (2.4 กรัม)

กลุ่ม 2 เป็นของแข็งสีเขียวขี้ม้า (5.5 กรัม) จาก TLC รวมพบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 55 กรัม ชะด้วย Hexane- CH_2Cl_2 (50:50) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย CH_2Cl_2 จนถึงระบบ 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.8:0.2) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (50:50) ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 100 มิลลิลิตร ยกเว้นระบบแรกและระบบสุดท้ายที่ใช้ระบบละ 200 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 30 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 12 กลุ่ม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่ม 2.1 เป็นของหนืดสีเหลืองส้ม (65.2 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.2 เป็นของหนืดสีเหลืองส้ม (437.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3 เป็น wax สีเหลือง (196.3 มิลลิกรัม) จาก TLC รวมพบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 10 กรัม ชะด้วย 100% Hexane เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย CH_2Cl_2 จนถึงระบบ 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.5:0.5) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (90:10) ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 20 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 5 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 9 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 2.3.1 เป็นของแข็งสีขาว (0.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.2 เป็นของแข็งสีขาวปน wax (0.1 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.3 เป็นของแข็งปน waxสีน้ำตาลอ่อน (6.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.4 เป็นของแข็งสีเหลืองปน wax สีขาว (36.5 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.5 เป็นของแข็งสีขาวปน wax สีเหลือง (48.5 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.6 เป็นของแข็งสีขาวปน wax สีเหลือง (38.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.7 เป็นของแข็งปน wax สีขาว (13.5 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.8 เป็นของแข็งสีขาวปน wax (1.8 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.3.9 เป็น wax สีขาว (1.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.4 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวผสมตะกอนแข็งสีขาว (831.1 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.5 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวผสมตะกอนหนืดสีเขียวอ่อน (827.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6 เป็นของแข็ง สีขาวปนเขียว (327.3 มิลลิกรัม) เมื่อทำการเทียบ TLC ของสารนี้กับ authentic betulinic acid พบว่า betulinic acid เป็นสารหลัก จึงนำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 4.5 กรัม ชะด้วย 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.8:0.2) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (90:10) ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 50 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 9 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 2.6.1 เป็น wax สีขาว (4.1 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.2 เป็น wax สีขาว (1.8 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.3 เป็นของแข็งสีขาว (101.5 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.4 เป็นของแข็งเป็นผลึกสีขาว (15.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.5 เป็นของแข็งเป็นผลึกสีขาวปน wax (98.6 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.6 เป็นของแข็งสีขาว (95.0 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.7 เป็น wax สีขาว (1.3 มิลลิกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่ม 2.6.8 เป็นของแข็งปน wax สีขาว (8.0 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.6.9 เป็น wax สีขาว (6.4 มิลลิกรัม)

เนื่องจากแต่ละกลุ่มย่อยมีปริมาณน้อยมากและประกอบด้วยสารหลายชนิด จึงไม่ทำการแยกต่อ

กลุ่ม 2.7 เป็นของแข็งสีขาวปนเขียว (416.9 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.8 เป็นของหนืดสีเขียวเข้ม (881.7 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.9 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มผสม oil สีเขียวอ่อน (443.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.10 เป็นของเหลวหนืดผสม oil สีเขียว (148.6 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.11 เป็นของหนืดผสม oil สีเขียวอ่อน (88.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 2.12 เป็นของหนืดสีเหลืองเขียว (342.2 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 3 เป็นของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง (110 กรัม)

กลุ่ม 4 เป็น oil สีเหลืองปน wax (0.2 กรัม) จาก TLC รวมพบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 4 กรัม ชะด้วย 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.5:0.5) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (80:20) ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 20 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 12 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 4.1 เป็นของแข็งสีขาว (3.7 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.2 เป็นของแข็งสีขาวปนเหลือง (2.7 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.3 เป็นของแข็งสีขาวปนเหลือง (3.7 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.4 เป็นของแข็งสีขาว (2.7 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.5 เป็นของแข็งสีขาวปน oil (171.2 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.6 เป็นของแข็งสีเหลืองปน oil (13.3 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.7 เป็นของแข็งสีเหลืองปน oil (3.9 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.8 เป็นของแข็งสีเหลืองปน oil สีเหลือง (3.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.9 เป็นของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง (3.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.10 เป็นของแข็งสีเหลืองปน oil สีเหลือง (3.9 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.11 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวเหลือง (15.5 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 4.12 เป็นของเหลวหนืดสีเหลือง (28.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 5 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวน้ำตาล (0.9 กรัม) จาก TLC รวมพบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 45 กรัม ชะด้วย Hexane- CH_2Cl_2 (50:50) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย CH_2Cl_2 จนถึงระบบ 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.8:0.2) เพิ่มสภาพความเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (50:50) ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 100 มิลลิลิตร ยกเว้นระบบแรกและระบบสุดท้ายที่ใช้ระบบละ 100 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 25 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 5.1 เป็นของแข็งสีขาว (0.01 กรัม)

กลุ่ม 5.2 เป็นของแข็งสีขาวปนสีเขียวอ่อน (0.02 กรัม)

กลุ่ม 5.3 เป็น wax สีเขียวอ่อน (0.2 กรัม)

กลุ่ม 5.4 เป็นของหนืดสีเขียว (0.2 กรัม)

กลุ่ม 5.5 เป็นของหนืดสีเขียวปนของแข็งสีเขียวน้ำตาล (0.2 กรัม)

กลุ่ม 6 เป็น oil สีเหลืองน้ำตาล (0.1 กรัม)

กลุ่ม 7 เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล (0.5 กรัม)

กลุ่ม 8 เป็นของแข็งสีน้ำตาล (0.3 กรัม) จาก TLC รวมพบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อโดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ [ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร, ซิลิกาเจลละเอียด 10 กรัม ชะด้วย 100% CH_2Cl_2 จากนั้นชะด้วย CH_2Cl_2-MeOH (99.5:0.5) เพิ่มสภาพความเป็นขั้วด้วย MeOH และสุดท้ายชะด้วย 100% MeOH ชะระบบด้วยตัวทำละลายระบบละ 50 มิลลิลิตร ยกเว้นระบบสุดท้ายที่ใช้ 50 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 10 มิลลิลิตร] จะได้สารออกมาทั้งหมด 7 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 8.1 เป็น wax สีเหลือง (2.9 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 8.2 เป็น wax สีเหลือง (2.0 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 8.3 เป็นของหนืดสีเหลืองปนของแข็งสีเหลือง (60.4 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 8.4 เป็นของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง (21.1 มิลลิกรัม) จาก TLC พบว่าสารนี้น่าสนใจ

กลุ่ม 8.5 เป็นของแข็งสีส้มปน oil สีเหลือง (9.2 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 8.6 เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล (44.2 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 8.7 เป็นของหนืดปน wax สีน้ำตาล (14.1 มิลลิกรัม)

กลุ่ม 9 เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล (964.0 มิลลิกรัม)

กลุ่ม10 เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล (10.4 กรัม)

กลุ่ม11 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวเหลือง (87.2 มิลลิกรัม)

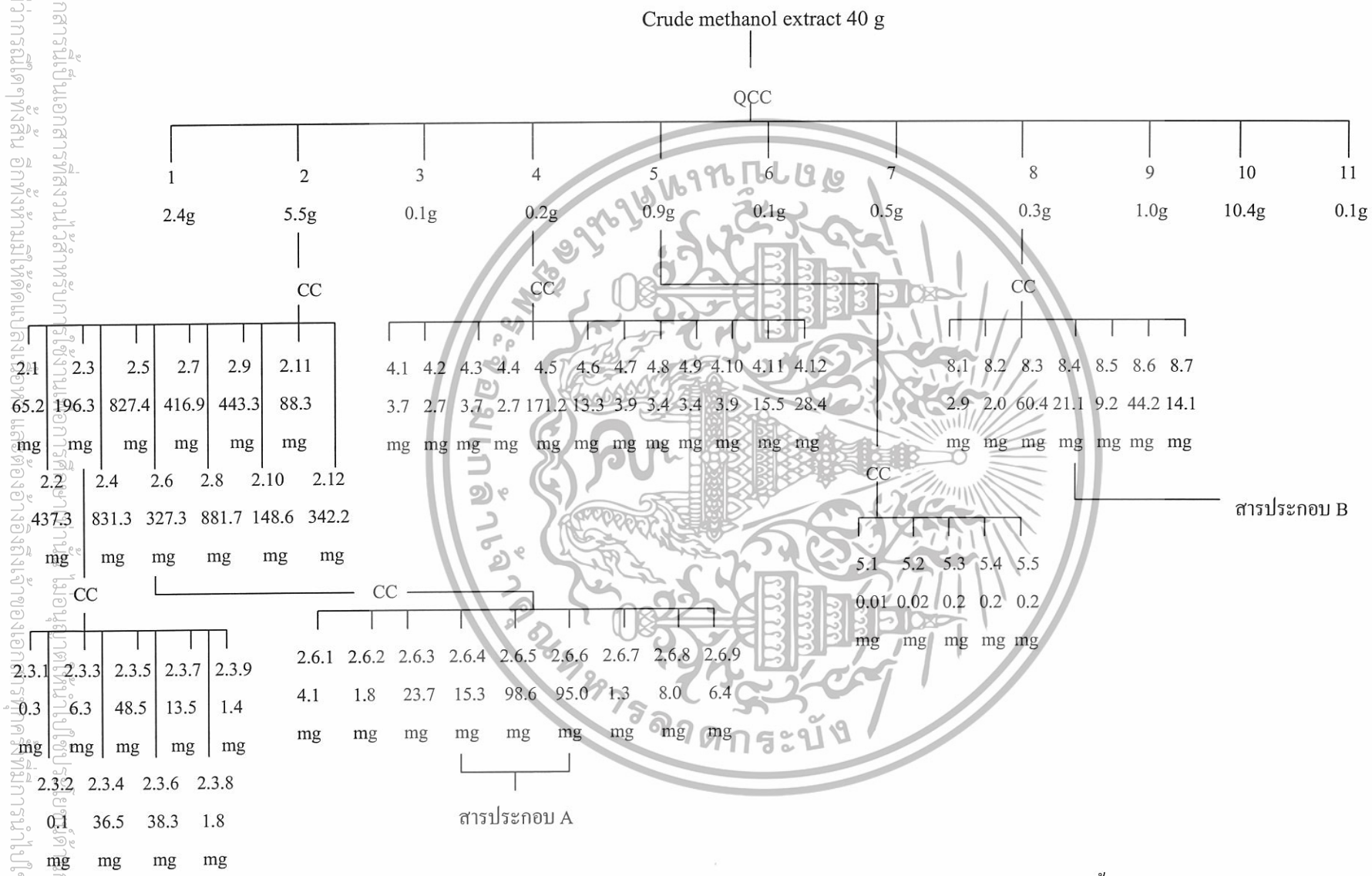
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ รายงานค่าจุดหลอมเหลว (mp) ในหน่วย องศาเซลเซียส (°C) และทำการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H NMR spectra 300 MHz ใช้ Deuterochloroform เป็นตัวทำละลาย (นอกจากจะบ่งว่าเป็นตัวทำละลายอื่น) และรายงานในหน่วย δ ที่ Downfield จาก TMS ซึ่งใช้เป็น Internal standard (δ 0.00)

Pre-coated TLC aluminum sheets ใช้ Silica gel 60 GF_{254} เป็นตัวดูดซับ ความหนา 0.2 mm ตรวจสอบสารบน TLC ใช้แสงอัลตราไวโอเลตที่ 254 หรือ 356 nm และ Developing reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพประกอบ 4 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเมทานอล ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีชนิดเร็ว

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลการสกัดสารจากผลเล็บเหยี่ยว

สกัดผลเล็บเหยี่ยวแห้ง บดละเอียด น้ำหนัก 3.2 กิโลกรัม ด้วย EtOAc 3 ครั้ง ครั้งละ15 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40°C บนอ่างน้ำร้อน แต่ละครั้งใช้เวลา 36 ชม. กรอง แล้วระเหย EtOAc ออกจนแห้ง ได้ส่วนสกัดชั้น EtOAc เป็นของแข็งสีน้ำตาลแดงปนขาวน้ำหนัก 158 กรัม กากที่ผ่านการสกัดด้วย EtOAc ตากให้แห้งแล้วนำมาสกัดด้วย MeOH โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนการสกัดด้วย EtOAc ได้ส่วนสกัดชั้น Methanol เป็นสารกึ่งของแข็งสีดำน้ำหนัก 350 กรัม

4.2 ผลการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์จากส่วนสกัดชั้น MeOH

แบ่งส่วนสกัดชั้น MeOH 40 กรัม นำมาแยกด้วย คลอลัมน์โครมาโทรกราฟีชนิดเร็ว [บรรจุด้วยซิลิกาเจล (60 GF_{254}) 120 กรัม และใช้ซิลิกาเจล 40 กรัม ผสมกับสาร ชะด้วย CH_2Cl_2 CH_2Cl_2-EtOAc EtOAc CH_2Cl_2- MeOH สุดท้ายชะด้วย 50% MeOH/H_2O ชะด้วยตัวทำละลายระบบละ 300 มิลลิลิตร เก็บส่วนละ 100 มิลลิลิตร] สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 11 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 1-14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในคอลัมน์โครมาโทกราฟีชนิดเร็ว

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
CH_2Cl_2	600	1-3
CH_2Cl_2-EtOAc		
95 : 5	300	4-6
90 : 10	300	7-9
80 : 20	300	10-12
70 : 30	300	13-15
60 : 40	300	16-18
50 : 50	300	19-21
40 : 60	300	22-24
30 : 70	300	25-27
20 : 80	300	28-30
10 : 90	300	31-33
EtOAc	300	34-36
CH_2Cl_2-MeOH		
99 : 1	300	37-39
98 : 2	300	40-42
95 : 5	300	43-45
90 : 10	300	46-48
80 : 20	300	49-51
70 : 30	300	52-54
60 : 40	300	55-57
50 : 50	300	58-60
40 : 60	300	61-63
30 : 70	300	64-66
80 : 20	300	67-69
10 : 90	300	70-72
MeOH	300	73-75
MeOH-H_2O		
50 : 50	300	76-79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 2 ผลการแยกสารจากสารสกัดชั้น MeOH

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(g)	ลักษณะของสาร
1	1	2.4	oil สีเหลืองอ่อน
2	2-7	5.5	ของแข็งสีเขียวขี้ม้า
3	8-9	0.1	ของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง
4	10-13	0.2	oil สีเหลืองปน wax
5	14-25	0.9	ของเหลวหนืดสีเขียวน้ำตาล
6	26-27	0.1	oil สีเหลืองน้ำตาล
7	28-34	0.5	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
8	35-40	0.3	ของแข็งสีน้ำตาล
9	41-49	1.0	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
10	50-60	10.4	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
11	61-77	0.1	ของเหลวหนืดสีเขียวเหลือง

ระบบที่ใช้ คือ 3% MeOH : 97% CH_2Cl_2 ระบบที่ใช้ คือ 9% MeOH : 91% CH_2Cl_2

(C : crude, B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 5 แสดง TLC รวมจากการแยกสารจากสารสกัดชั้น MeOH

เนื่องจากสารกลุ่ม 2 มีปริมาณสารมาก และผลของ TLC พบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ ดังนั้นจึงได้นำมาทำการแยกต่อ ซึ่งระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมของสารกลุ่ม 2 แสดงในตารางที่ 3 และ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 2 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
Hexane-CH_2Cl_2		
50 : 50	200	1-2
40 : 60	100	3-4
30 : 70	100	5-6
20 : 80	100	7-8
10 :90	100	9
CH_2Cl_2	200	10-13
CH_2Cl_2-MeOH		
99.8 : 0.2	100	14-15
99.6 : 0.4	100	16-19
99.4 : 0.6	100	20-23
99.2 : 0.2	100	24-26
99 : 1	100	27-30
98.5 : 1.5	100	31-33
98 : 2	100	34-37
97.5 : 2.5	100	38-40
96 : 4	100	41-44
95 : 5	100	45-47
92 : 8	100	48-50
90 : 10	100	51-53
80 : 20	100	54-57
50 : 50	200	58-64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4 ผลการแยกสารจากกลุ่มที่ 2 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(mg)	ลักษณะของสาร
2.1	1	65.2	ของหนืดสีเหลืองส้ม
2.2	2-3	437.3	ของหนืดสีเหลืองส้ม
2.3	4	196.3	wax สีเหลือง
2.4	5-8	831.3	ของหนืดสีเขียวผสมตะกอนแข็งสีขาว
2.5	9-13	827.4	ของหนืดสีเขียวผสมตะกอนหนืดสีเขียวอ่อน
2.6	14-19	327.3	ผลึกของแข็งเป็นเส้นสีขาวออกเขียว
2.7	20-33	416.9	ของแข็งสีขาวปนเขียว
2.8	34-40	881.7	ของหนืดสีเขียวเข้ม
2.9	41-45	443.3	ของหนืดสีเขียวเข้มผสม oil สีเขียวอ่อน
2.10	46-47	148.6	ของหนืดผสม oil สีเขียวอ่อน
2.11	48-49	88.3	ของหนืดผสม oil สีเขียวอ่อน
2.12	50-64	342.2	ของหนืดสีเหลืองเขียว

ระบบที่ใช้ คือ 3% MeOH : 97% CH_2Cl_2 ระบบที่ใช้ คือ 5% MeOH : 95% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 6 แสดง TLC รวมจากการแยกสารจากกลุ่มที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 และ 2.6 เมื่อทำมาทดสอบทาง TLC แล้ว พบว่ามีสารประกอบที่น่าสนใจ จึงได้นำมาทำการแยกต่อ ซึ่งระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมกลุ่มย่อยที่ 2.3 แสดงในตารางที่ 5 และ 6 ส่วนระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมกลุ่มย่อยที่ 2.6 แสดงในตารางที่ 7 และ 8

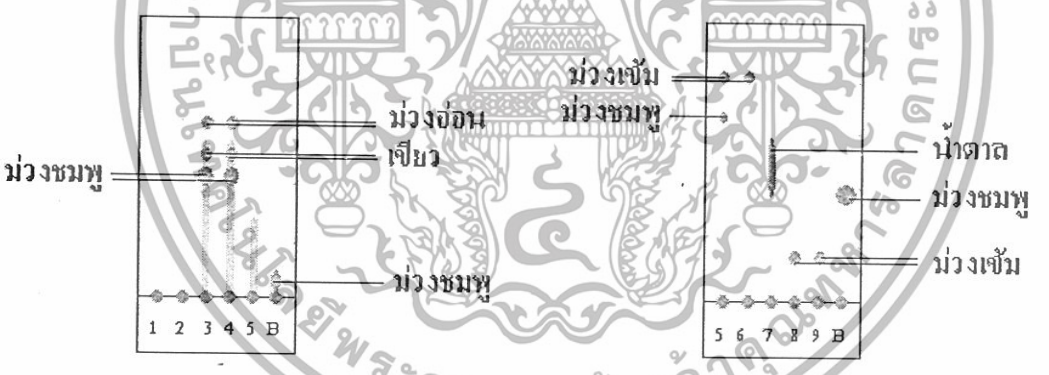
ตาราง 5 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
Hexane	20	1-6
Hexane-CH_2Cl_2		
80 : 20	20	7-9
60 : 40	20	10-12
50 : 50	20	13-16
40 : 60	20	17-21
20 : 80	20	22-25
CH_2Cl_2	20	26-29
CH_2Cl_2-MeOH		
99.5 : 0.5	20	30-34
99 : 1	20	35-38
98 : 2	20	39-43
95 : 5	20	44-47
90 : 10	20	48-51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 6 ผลการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(mg)	ลักษณะของสาร
2.3.1	1-10	0.3	ของแข็งสีขาว
2.3.2	11	0.1	ของแข็งสีขาวปน wax
2.3.3	12-14	6.3	ของแข็งปน wax สีน้ำตาลอ่อน
2.3.4	15-27	36.5	ของแข็งสีเหลืองปน wax สีขาว
2.3.5	28-35	48.5	ของแข็งสีขาวปน wax สีเหลือง
2.3.6	36-37	38.3	ของแข็งสีขาวปน wax สีเหลือง
2.3.7	38	13.5	ของแข็งปน wax สีขาว
2.3.8	39	1.8	ของแข็งสีขาวปน wax
2.3.9	40-51	1.4	wax สีขาว



ระบบที่ใช้ คือ 80% CH_2Cl_2 : 20% Hexane ระบบที่ใช้ คือ 2% MeOH : 91% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 7 แสดง TLC รวมจากการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.3

เนื่องจากสารที่แยกได้จากสารกลุ่มย่อยที่ 2.3 มีปริมาณน้อยมาก จึงไม่ได้นำมาทำการแยกต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

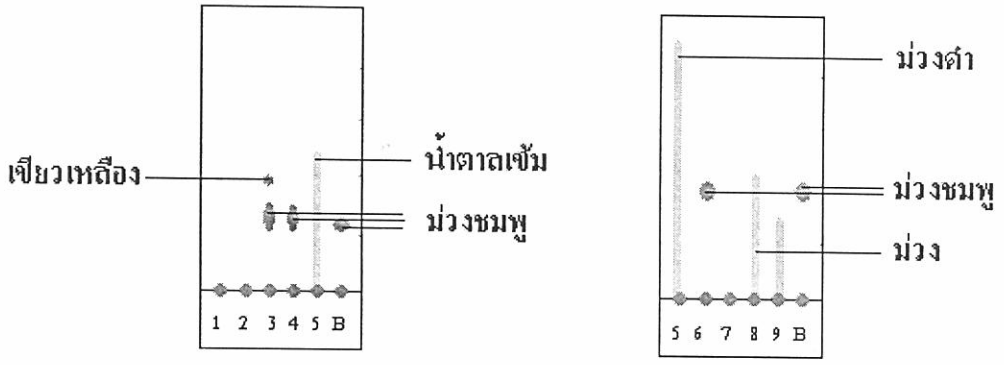
ตาราง 7 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.6 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
CH_2Cl_2	50	1-6
CH_2Cl_2-MeOH		
99.8 : 0.2	50	7-11
99.5 : 0.5	50	12-18
99 : 1	50	19-26
98.5 : 1.5	50	27-33
98 : 2	50	34-40
97 : 3	50	41-46
96 : 4	50	47-53
95 : 5	50	54-59
90 :10	50	60-67

ตาราง 8 ผลการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.6 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(mg)	ลักษณะของสาร
2.6.1	1-9	4.1	wax สีขาว
2.6.2	10	1.8	wax สีขาว
2.6.3	11-17	23.7	ของแข็งสีขาว
2.6.4	18-22	15.3	ของแข็งเป็นผลึกสีขาว
2.6.5	23-26	98.6	ของแข็งเป็นผลึกสีขาวปน wax สีเหลือง
2.6.6	27-45	95.0	ของแข็งสีขาว
2.6.7	46	1.3	wax สีขาว
2.6.8	47-54	8.0	ของแข็งปน wax สีขาว
2.6.9	55-67	6.4	wax สีขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ระบบที่ใช้ คือ 0.2% MeOH : 99.8% CH_2Cl_2 ระบบที่ใช้ คือ 2% MeOH : 98% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 8 แสดง TLC รวมจากการแยกสารกลุ่มย่อยที่ 2.6

เนื่องจากสารกลุ่มย่อยที่ 2.6.4 และ 2.6.6 ให้ผลทดสอบทาง TLC ใกล้เคียงกับสาร Authentic betulinic acid เหมือนกัน ดังนั้นจึงนำสารกลุ่มย่อยทั้งสองมารวมกัน

นอกจากสารกลุ่ม 2 ที่นำมาทำการแยกต่อแล้ว ยังได้นำสารกลุ่ม 4 , กลุ่ม 5 และกลุ่ม 8 มาทำการแยกต่อด้วย ซึ่งระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมของสารกลุ่มที่ 4 แสดงในตารางที่ 9 และ 10 ส่วนระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมของสารกลุ่มที่ 5 แสดงในตารางที่ 11 และ 12 และระบบที่ใช้ และลักษณะของสารที่ได้จากการรวมของสารกลุ่มที่ 8 แสดงในตารางที่ 13 และ 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 9 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 4 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
CH_2Cl_2	50	1-12
CH_2Cl_2-MeOH		
99.5 : 0.5	50	13-22
99 : 1	50	23-28
98.5 : 1.5	20	29-30
98 : 2	20	31-33
97.5 : 2.5	20	34-36
97 : 3	20	37-38
95 : 5	20	39-40
93 : 7	20	41-43
90 : 10	20	44-46
85 : 15	20	47-49
80 : 20	40	50-54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 10 ผลการแยกสารกลุ่มที่ 4 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(mg)	ลักษณะของสาร
4.1	1-16	3.7	ของแข็งสีขาว
4.2	17-19	2.7	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
4.3	20	3.7	ของแข็งสีขาวปนเหลือง
4.4	21-22	2.7	ของแข็งสีขาว
4.5	23-25	171.2	ของแข็งสีขาวปน oil
4.6	26-30	13.3	ของแข็งสีเหลืองปน oil
4.7	31	3.9	ของแข็งสีเหลืองปน oil
4.8	32	3.4	ของแข็งสีเหลืองปน oil สีเหลือง
4.9	33	3.4	ของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง
4.10	34	3.9	ของแข็งสีเหลืองปน oil สีเหลือง
4.11	35-39	15.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเหลือง
4.12	40-54	28.4	ของเหลวหนืดสีเหลือง

ระบบที่ใช้ คือ 2% MeOH : 98% CH_2Cl_2 ระบบที่ใช้ คือ 3% MeOH : 97% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 9 แสดง TLC รวมจากการแยกสารกลุ่มที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 11 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 5 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
Hexane-CH_2Cl_2		
50 : 50	300	-
40 : 60	200	-
20 : 80	200	-
CH_2Cl_2	100	-
CH_2Cl_2-MeOH		
99.8 : 0.2	100	1-2
99.6 : 0.4	100	3-4
99.4 : 0.6	100	5-7
99.2 : 0.8	100	8-9
99 : 1	100	10-12
98.5 : 1.5	100	13-16
98 : 2	100	17-20
97 : 3	100	21-24
96 : 4	100	25-27
95 : 5	100	28-31
94 : 6	100	32-35
93 : 7	100	36-40
92 : 8	100	41-44
91 : 9	100	45-47
90 : 10	100	48-50
85 : 15	100	51-53
80 : 20	100	54-56
50 : 50	150	57-61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 12 ผลการแยกสารกลุ่มที่ 5 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(g)	ลักษณะของสาร
5.1	1-6	0.01	ของแข็งสีขาว
5.2	7-23	0.02	ของแข็งสีขาวปนเขียวอ่อน
5.3	24-30	0.2	wax สีเขียวอ่อน
5.4	31-43	0.2	ของหนืดสีเขียว
5.5	44-61	0.2	ของหนืดสีเขียวปนของแข็งสีเขียวน้ำตาล

ระบบที่ใช้ คือ 3% MeOH : 97% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 10 แสดง TLC รวมจากการแยกสารกลุ่มที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

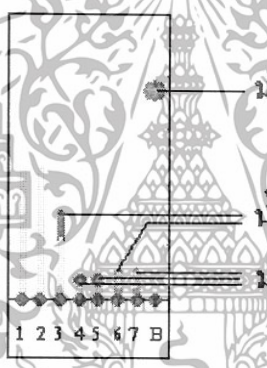
ตาราง 13 แสดงระบบและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการแยกสารกลุ่มที่ 8 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ระบบ	ปริมาตร	ขวดที่
CH_2Cl_2	50	1-9
CH_2Cl_2-MeOH		
99.5 : 0.5	50	10-16
99 : 1	50	17-20
98 : 2	50	21-24
97 : 3	50	25-28
96 : 4	50	29-32
95 : 5	50	33-37
93 : 7	50	38-43
90 : 10	50	44-48
85 : 15	50	49-54
80 : 20	50	55-60
70 : 30	50	61-63
30 : 70	50	64-70
MeOH	20	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 14 ผลการแยกสารกลุ่มที่ 8 โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

กลุ่มที่	ขวดที่	น้ำหนักสาร(mg)	ลักษณะของสาร
8.1	1-30	2.9	wax สีเหลือง
8.2	31	2.0	wax สีเหลือง
8.3	32-42	60.4	ของหนืดสีเหลืองปนของแข็งสีเหลือง
8.4	43-45	21.1	ของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง
8.5	46	9.2	ของแข็งสีส้มปน oil สีเหลือง
8.6	47-59	44.2	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
8.7	60-71	14.1	ของหนืดปน wax สีน้ำตาล



ระบบที่ใช้ คือ 4% MeOH : 96% CH_2Cl_2

(B : betulinic acid)

ภาพประกอบ 11 แสดง TLC รวมจากการแยกสารกลุ่มที่ 8

นำสารกลุ่มต่างๆ มาแยกให้บริสุทธิ์โดยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารบริสุทธิ์ Betulinic acid และพบสารบริสุทธิ์อีกชนิดหนึ่งโดยยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็น β-sitrosteryl glucopyranoside หรือ stigmasteryl glucopyranoside ซึ่งกำลังทำการศึกษาและตรวจสอบอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid

สารบริสุทธิ์ Betulinic acid ที่แยกได้นำมาวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี ซึ่งข้อมูลที่ได้มีดังนี้

เป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี น้ำหนัก 110.3 มิลลิกรัม mp 296-298 °C (d) ^{1}H NMR และ δ, ($CDCl_3$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

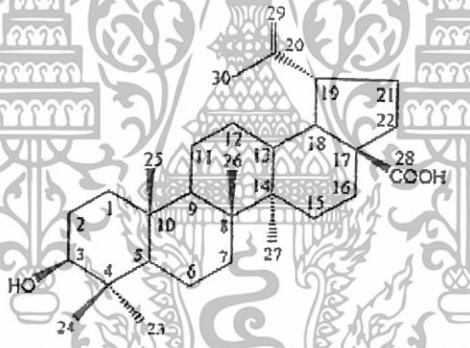
ในการพิสูจน์โครงสร้างของสารใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี NMR พร้อมกับใช้วิธีเปรียบเทียบค่า mp และข้อมูล ^{1}H NMR กับที่มีผู้รายงานไว้แล้ว ซึ่งสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ คือ

- สารบริสุทธิ์ Betulinic acid (สารประกอบ A) ซึ่งได้จากสารกลุ่มย่อยที่ 2.6.4 และ 2.6.6 รวมกัน

- สารบริสุทธิ์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นส่วนผสมระหว่างβ-sitrosteryl glucopyranoside กับ stigmasteryl glucopyranoside(สารประกอบ B) ซึ่งได้จากสารกลุ่มย่อยที่ 8.4 ขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการหาโครงสร้าง

5.2 การพิสูจน์โครงสร้างของสาร

การพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid (สารประกอบ A) ที่แยกได้



ภาพประกอบ 12 โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ Betulinic acid (สารประกอบ A) ที่แยกได้

สารประกอบ Betulinic acid ที่ได้ เป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี mp 293-295 °C (d) ให้สีม่วงกับ developing reagent

การกำหนด Chemical shift ใน ^{1}H-NMR spectrum โดยการเปรียบเทียบกับข้อมูลของ Betulinic acid (Sholichin, et al. 1980 : 1006-1008 ; Yagi, et al. 1978 : 1798-1802) จากข้อมูล ^{1}H-NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methyl ทั้งหมด 6 สัญญาณ ที่ δ_H 0.68 (3H, s, 24-Me), δ_H ที่ 0.75 (3H, s, 25-Me), δ_H 0.87 (3H, s, 26-Me), δ_H 0.89 (3H, s, 23-Me), δ_H 0.90 (3H, s, 27-Me) และ δ_H 1.62 (3H, s, 30-Me) สัญญาณของ Vinylic proton ของหมู่ Terminal methylene ที่ δ_H 4.53 (1H, br s, H-29a) และ δ_H 4.66 (1H, br s, H-29b) สัญญาณของ Methine proton ที่ δ_H 3.10 (1H, m,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

H-19) และที่ δ_H 0.63 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5) และสัญญาณของ Carbinol proton ที่ δ_H 3.10 (1H, m)

สารประกอบ Betulinic acid มีค่า mp 296-298 °C (d) [mp 275-278 °C (Robinson and Martel. 1970 : 907-909), mp 291-297 °C (Otsuka, et al. 1981 : 3099-3104), mp 293-295 °C (Yagi, et al. 1978 : 1798-1802)]

Betulinic acid เป็นสารประกอบ Triterpene เคยพบในพืชสกุลอื่นหลายชนิด เช่น พบในเปลือกต้นของ *Arbutus menziesii* (Robinson and Martel. 1970 : 907-909), พบในใบของ *Diospyros leucomelas* Poir. (Recio, et al. 1995 : 9-12), พบในลำต้น ใบ และดอกของ *Hyptis emoryi* (Labiatae) (Sheth, et al. 1972 : 1819) และเคยพบในพืชสกุล *Ziziphus* โดยพบในเปลือกต้นของ Z. *joazeiro* C. Mart. (Schuhly, et al. 1999 : 740-743) และส่วนเหนือดินของ Z. *spina cristi* (Ikram and Tomlinson. 1976 : 289-290)

การพิสูจน์โครงสร้างของสารประกอบ B

สาร B มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวปน oil สีเหลือง ให้สีม่วงกับ developing agent จาก ^{1}H-NMR ของสารนี้ (ดังภาพประกอบที่ 15) พบสัญญาณช่วง 3.30-4.5 ซึ่งน่าจะเป็นของน้ำตาล และสัญญาณของ broad singlet ที่ δ 5.29 และที่ δ 5.00 ซึ่งคล้ายกับของ β-sitrosteryl glucopyranoside และจากการเปรียบเทียบ TLC ระหว่างสารประกอบ B กับ β-sitrosteryl glucopyranoside พบว่าใกล้เคียงกัน ขณะนี้โครงสร้างที่แท้จริงยังอยู่ในระหว่างการพิสูจน์ต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาการแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนอื่นๆ ของเลี่บเหยี่ยวต่อไป ซึ่งอาจจะพบสารชนิดอื่นๆ ที่เป็นสารใหม่และมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีเหมาะสมที่จะพัฒนาให้เป็นผลิตยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

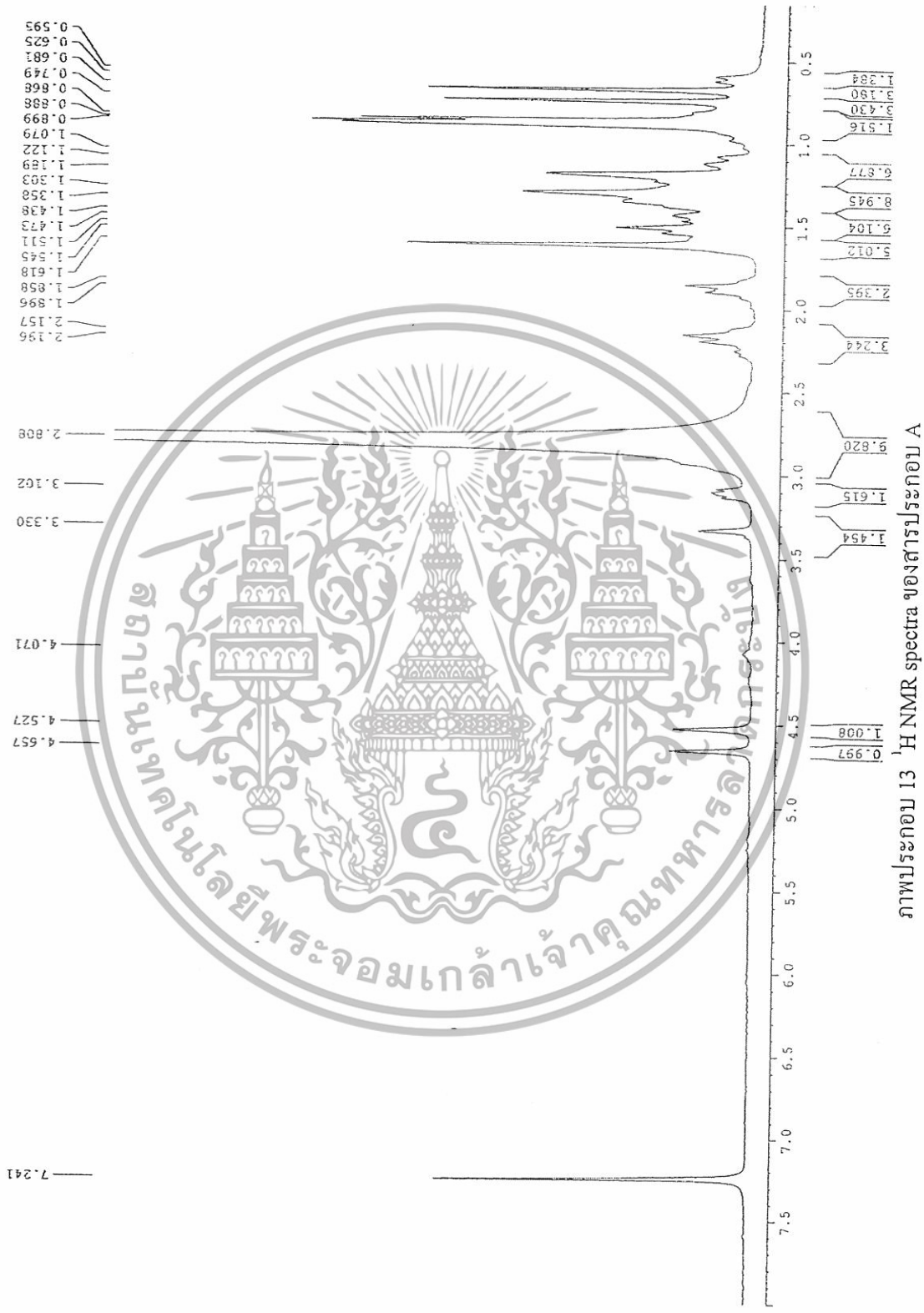
ตาราง 15 ข้อมูล ^{1}H NMR ของ Betulinic acid และ ^{1}H NMR ของสารประกอบที่แยกได้

ตำแหน่ง	Betulinic acid[a]		สารประกอบที่แยกได้[b]
	δ_C	δ_H	δ_H
1	38.7		
2	27.4		
3	79	3.16 (1H, dd, J = 10.8, 5.1 Hz)	3.10 (1H, m)
4	38.9		
5	55.3	0.66 (1H, d, J = 9.0 Hz)	0.63 (1H, d, J = 9.0 Hz)
6	18.3		
7	34.3		
8	40.7		
9	50.5		
10	37.2		
11	20.8		
12	25.5		
13	38.4		
14	42.4		
15	30.5		
16	32.1		
17	56.3		
18	49.3		
19	46.9	2.99 (1H, m)	3.10 (1H, m)
20	150.4		
21	29.7		
22	37		
23	28	0.94 (3H, s)	0.89 (3H, s)
24	15.3	0.73 (3H, s)	0.68[c] (3H, s)
25	16.1	0.80 (3H, s)	0.75[c] (3H, s)
26	16	0.91 (3H, s)	0.87 (3H, s)
27	14.7	0.95 (3H, s)	0.90 (3H, s)
28	180		
29	109.7	4.58 (1H, br s)	4.53 (1H, br s)
		4.72 (1H, br s)	4.66 (1H, br s)
30	19.4	1.67 (3H, s)	1.62 (3H, s)

[a]บันทึกใน $CDCl_3$ (ณัฐชัย อุ่นใจ. 2545 : 39-43)

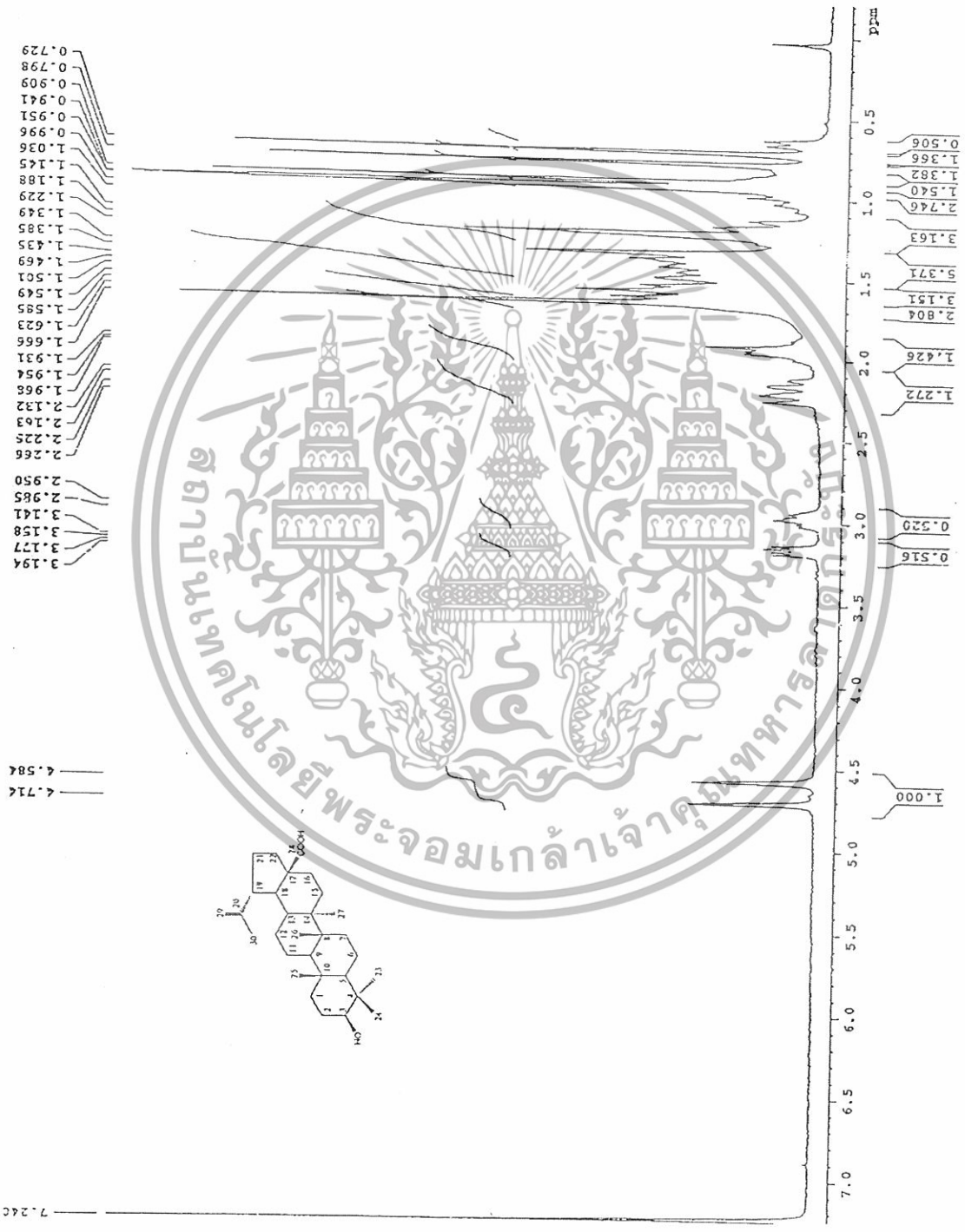
[b]บันทึกใน $CDCl_3$, [c]ภายใต้เครื่องหมายเดียวกันสัญญาณอาจเปลี่ยนที่กันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



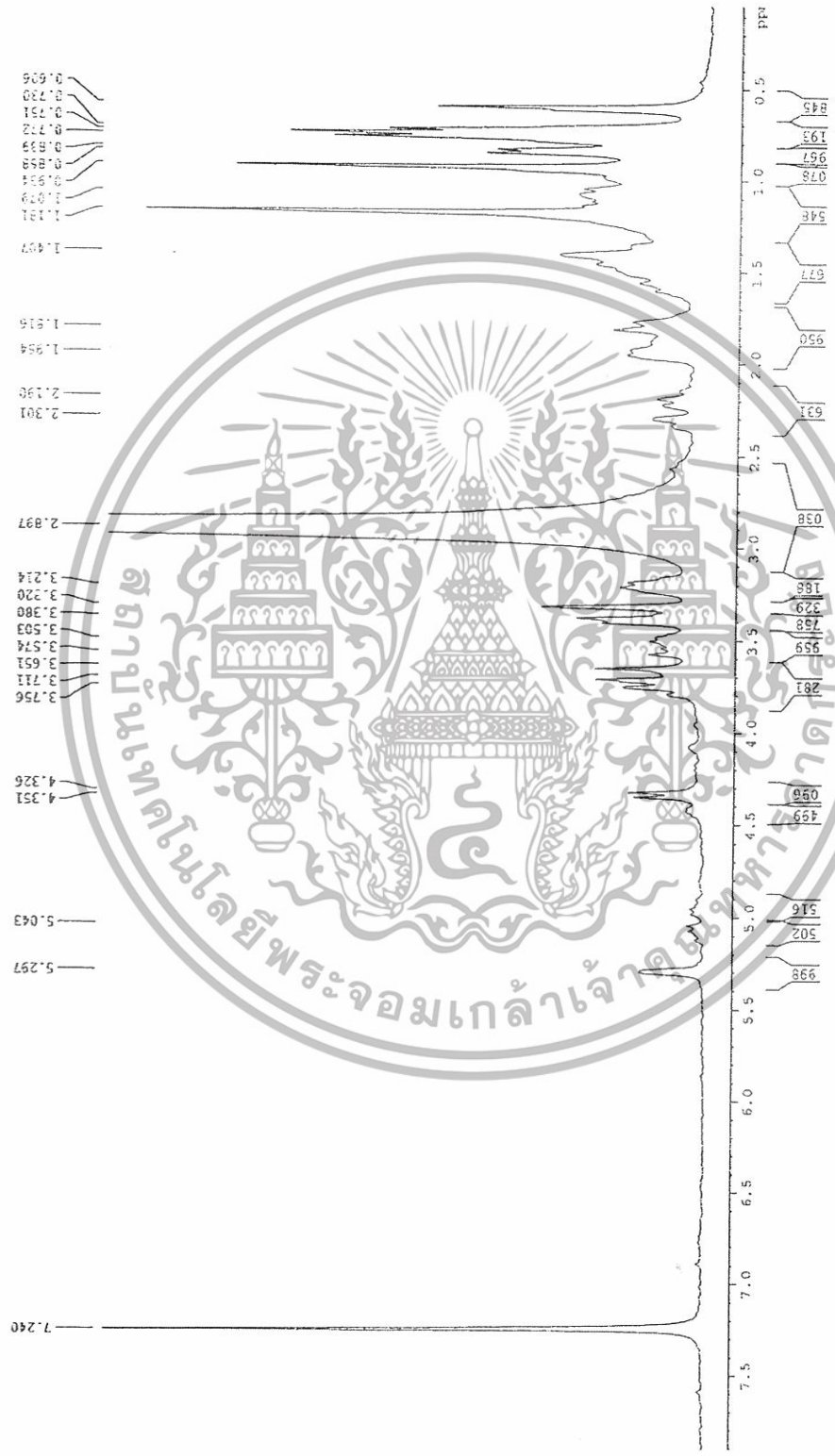
ภาพประกอบ 13 ^{1}H NMR spectra ของสารประกอบ A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพประกอบ 14 ^{1}H NMR spectra ของ Authentic betulinic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพประกอบ 15 ^{1}H NMR spectra ของสารประกอบ B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ณัฐชัย อุ่นใจ. (2545). *การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของเล็บเหยี่ยว (Zizyphus oenoplia (Linn.) Mill.)*. ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (เคมีชีวภาพ) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.

เต็ม สมิตินันท์. (2544). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544*. กรุงเทพ ฯ: สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2542). *สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (3)*. กรุงเทพ ฯ: ประชาชน.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร . (2543). *สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (4)*. กรุงเทพ ฯ: ประชาชน.

นิจศิริ เรืองรังษี และพะยอม ตันติวัฒน์. (2534). *พืชสมุนไพร*. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล. (2539). *สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา*. กรุงเทพ ฯ: อัมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง.

วีณา จิรัจฉริยากุล. (2534). *ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ ฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

Bhattacharyya, B. & Johri, B.M. (1998). *Flowering Plant : Taxonomy and Phylogeny*. New Delhi: Narosa Publishing House.

Cassels, B. K. et al. (1974). "Cyclopeptide Alkaloids of *Zizyphus oenoplia*," *Tetrahedron*. 30 : 2461-2466

Han, B. H., Park, M.H. & Wah, S.T. (1987). "Structure of daechualkaloid-A, a new pyrroldine alkaloid of novel skeleton from *Zizyphus jujuba* var. *inermis*," *Tetrahedron Lett.* 28(34) : 3957-3958.

Mauya, S.K. et al. (1995). "Constituents of Zizyphus oenoplia," Chemical Abstract. 123 : 107751f.

Menard, E. L. et al. (1963). "Uber die Inhaltstoffe von *Zizyphus oenoplia* Mill. 1. Mitteilung : Isolierung der inhaltstoffe." *Helv. Chim. Acta*. 46 : 1801-1811.

Recio, M. C. et al. (1995). "Investigations on the Steroidal Anti-Inflamatory Activity of Triterpenoids from *Diospyros Ieucomelas*," Planta.Med. 61 : 9-12.

Schuhly, W. et al. (1999). "New Triterpenoids with Antibacterial Activity from Zizyphus Joazeiro," Planta. Med. 65 : 740-743.

Sheth, K. et al. (1972). "Tumor-Inhibitory Agent from Hyptis emoryi (Labiatae)," J. Pharm. Sci. 61(11) : 1819.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sheth, K. et al . (1973). "Antitumor Agents from Alnus oregona (Betulaceae)," J. Pharm. Sci. 62(1) : 139-140.

Tschesche, R. et al. (1974). "Alkaloide aus Rhamnaceen, XXVI Zizyphin-F und -G, neue Cyclopeptidalkaloide aus Zizyphus oenoplia Mill.," Tetrahedron Lett. 34 : 2941-2944.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้