การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของออโรนส์

THE SYNTHESIS AND HERBICIDAL ACTIVITY OF AURONES

ชลธิดา พรมพิลา
อิสยาภรณ์ ฐานวสวัสดิ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE SYNTHESIS AND HERBICIDAL ACTIVITY OF AURONES

CHONTIDA PROMPILA
ITSAYAPORN THANAWASAWAT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PATIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของออโรน The Synthesis and Herbicidal Activity of Aurones
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชลธิดา พรมพิลา รหัสนักศึกษา 58050453 นางสาวอิสยาภรณ์ ฐานวสวัสดิ์ รหัสนักศึกษา 58050581
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง ประธานกรรมการ	
ดร.พัชราภรณ์ วีระชวนะศักดิ์ กรรมการ	
ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของออโรน
The Synthesis and Herbicidal Activity of Aurones

ชื่อนักศึกษา นางสาวชลธิดา พรมพิลา รหัสนักศึกษา 58050453
นางสาวอิสยาภรณ์ ฐานวสวัสดิ์ รหัสนักศึกษา 58050581

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ออโรน และประเมินคุณสมบัติด้านการกำจัดวัชพืชต่อพืชทดสอบ สารประกอบเป้าหมายเหล่านี้ถูกเตรียมขึ้นในอัตราผลผลิตที่ต่ำถึงปานกลางด้วยปฏิกิริยาการปิดวงแบบออกซิเดชั่นของสารตั้งต้นชาลโคนโดยใช้ Mercury (II) acetate เป็นโลหะทรานซิชันตัวกลางในการเกิดปฏิกิริยา โครงสร้างของออโรนเหล่านี้ถูกอธิบายอย่างชัดเจนโดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (FT-NMR) สเปกโทรสโคปี และฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (FT-IR) สเปกโทรสโคปี ฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืชของออโรนที่สังเคราะห์ได้ถูกศึกษาโดยใช้ตัวแทนพืชทดสอบคือ ผักโขมจีน *(Amaranthus tricolor L.)* และหญ้าข้าวนก *(Echinochloa crus-galli (L.) Beauv)* พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ออโรนส่วนใหญ่ไม่ยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของพืชทดสอบ อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นเดียวกันสารประกอบทั้งหมดส่งเสริมการยืดตัวของรากผักโขมจีนในระดับปานกลาง

คำสำคัญ : การยับยั้งวัชพืช ชาลโคน แซนทอกซีลีน อะโรมาติกแอลดีไฮด์ ออโรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The synthesis and herbicidal activity of aurones
Students	Miss Chontida Prompila Student ID 58050453
	Miss Itsayaporn Thanawasawat Student ID 58050581
Degree	Bachelor of science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic year	2019
Advisor	Asst.Prof. Dr. Nawasit Chotsaeng

Abstract

The aim of this research was to synthesize aurone derivatives and evaluate their herbicidal properties against tested plants. The target compounds were successfully prepared in low to moderate yields by the oxidative cyclisation reaction of chalcone precursors using Mercury(II)acetate as a transition metal mediate. The structures of these aurones were clearly elucidated by Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance (FT-NMR) Spectroscopy and Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. The herbicidal activities of the synthesized aurones were investigated on representative plants, Chinese amaranth *(Amaranthus tricolor L.)* and barnyardgrass *(Echinochloa crus-galli (L.) Beauv)*. It revealed that at applied concentrations of 400 and 800 micrograms per milliliter, most aurones showed no or low inhibitory activities against seed germination and seedling growth of the plants. However, at the same concentrations all compounds moderately promoted the root elongation of Chinese amaranth.

Keywords :, Aromatic aldehyde, Aurones, Chalcone, Inhibition in plants, Xanthoxyline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยการแนะนำและเอื้อเฟื้อข้อมูลที่เป็นประโยชน์ ความร่วมมือมากมายจากหลายท่าน พร้อมทั้งหน่วยงานต่างๆ ซึ่งได้ให้การสนับสนุนทางคณะผู้จัดทำโครงการเป็นอย่างมาก ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ณวสิทธิ์ โชติแสง อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ ที่สละเวลาเพื่อให้คำแนะนำ ความคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ช่วยเหลือและชี้แจ้งข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น ทั้งในภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ จนโครงการพิเศษสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง และ ดร.พัชราภรณ์ วีระชวนะศักดิ์ ที่ช่วยตรวจสอบข้อผิดพลาดต่างๆ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการแก้ไขโครงงานนี้ และทำให้โครงงานเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณสุภัทร บานเย็น เจ้าหน้าที่ผู้ดูแลเครื่องมือคณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความรู้ในการใช้เครื่องมือด้านวิทยาศาสตร์และโปรแกรมวิเคราะห์ผล

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มอบความรู้ด้านวิชาการ ประสบการณ์ในการปฏิบัติงานต่างๆ ตลอดจนสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณเพื่อน รุ่นพี่ และน้องๆ ทุกคนที่พร้อมให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำที่ดีและกำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ ทุกท่านที่อาจไม่ได้กล่าวนามไว้ในที่นี้อีกมากมายสำหรับแรงสนับสนุนและกำลังใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง บิดา มารดา ผู้มีพระคุณของข้าพเจ้า

ชลธิดา พรมพิลา
อิสยาภรณ์ ฐานวสวัสดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญรูป ..... ฉ
คำย่อ ..... ซ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย 2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 วัชพืช (Weeds) 3
2.2 ยาปราบวัชพืช 4
2.3 ออโรน (Aurone) 5
2.3.1 ตัวอย่างวิธีการสังเคราะห์ออโรน 6
2.3.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของ Aurones 13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 20
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ 20
3.1.1 พืชทดสอบ 20
3.1.2 สารเคมีทั่วไป 20
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร 21
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 22
3.2 วิธีการดำเนินงานทดลอง 23
3.2.1 การสังเคราะห์ Aurones 23
3.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช 23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 25
4.1 ผลการสังเคราะห์ออโรนจากชาลโคน 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ Aurones และอนุพันธ์ 30

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ Aurones และอนุพันธ์ต่อผักโขมจีน 31

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ Aurones และอนุพันธ์ต่อหญ้าข้าวนก 33

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35

5.1 สรุปผลการวิจัย 35

5.2 อภิปรายผลการวิจัย 35

5.3 ข้อเสนอแนะ 36

เอกสารอ้างอิง 37

ภาคผนวก 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ตัวอย่างโครงสร้างของ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids), ฟลาโวน (Flavoes), ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) และชาลโคน (Chalcones)..... 6
2.2 การควบแน่นของเบนโซฟูราโนน (Benzofuranone)..... 7
2.3 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจาก 6-Hydroxybenzofuranone..... 7
2.4 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจาก 4-Hydroxy-6-methoxybenzofuran-3(2H)-one 8
2.5 กลไกที่เป็นไปได้ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ Chalcone 3..... 9
2.6 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น Aurones โดยใช้ Hg(OAc)2 ใน Pyridine..... 10
2.7 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น Aurones โดยใช้ Copper(II) bromide..... 11
2.8 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น Aurones โดยใช้ Thallium(III) nitrate..... 12
2.9 วิธีการสังเคราะห์ 4,6-Dihydroxybenzofuran-3(2H)-one..... 12
3.1 การสังเคราะห์ Aurones จาก chalcones..... 23
4.1 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจากชาลโคนด้วยปฏิกิริยาการปิดวง..... 25
4.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการปิดวงจากสารประกอบชาลโคนเป็นออโรน..... 26
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกในผักโขมจีน..... 31
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของลำต้นในผักโขมจีน..... 31
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของรากในผักโขมจีน..... 32
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตในผักโขมจีน..... 32
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกในหญ้าข้าวนก..... 33
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของลำต้นในหญ้าข้าวนก..... 33
4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของรากในหญ้าข้าวนก..... 34
4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตในหญ้าข้าวนก..... 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
$AlCl_3$	Aluminium chloride
CH_2Cl_2	Dichloromethane
$ClCH_2COCl$	Chloroacetyl chloride
$CuBr_2$	Copper(II)bromide
DMF	Dimethylformamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
FT-IR	Fourier transform infrared spectrophotometer
FT-NMR	Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometer
H_2	Hydrogen
HCl	Hydrochloric acid
$Hg(OAc)_2$	Mercury acetate
KOH	Potassium carbonate
MeOH	Methanol
Me_2SO_4	Dimethyl sulfate
NaOAc	Sodium acetate
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Thin-layer chromatography
$Tl(NO_3)_3$	Thallium(III)nitrate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย [1]

ในประเทศไทยและหลายๆประเทศมีการกสิกรรมและเกษตรกรรมเป็นเศรษฐกิจหลักของประเทศ โดยในการทำเกษตรกรรม เกษตรกรที่ส่วนมากต้องการผลผลิตที่มีคุณภาพดี ปริมาณมาก เพื่อหวังผลกำไรที่จะได้รับ ดังนั้นการดูแลผลผลิตให้เป็นไปตามที่คาดหวังเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง ซึ่งปัญหาส่วนใหญ่ของเกษตรกรนั้นมีมากมาย เช่น สภาพอากาศ ฤดูกาล ศัตรูพืช เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วศัตรูพืชมักหมายถึง ปัจจัยทางชีวภาพ (Biotic factors) ในกสิกรรมหรือเกษตรกรรม ที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชปลูก เป็นสาเหตุให้ผลผลิตทางการกสิกรรมหรือการเกษตรลดลง หรือหมายถึงสิ่งมีชีวิตซึ่งทำให้พืชปลูกเสียหายและลดจำนวนลง ศัตรูพืชที่สำคัญชนิดแรกได้แก่ แมลงศัตรูพืช (insect pest) โดยแบ่งตามระยะเวลาการเข้าทำลายพืชปลูกได้ 2 ประเภทคือ แมลงศัตรูพืชประเภทที่เข้าทำลายตั้งแต่ระยะปลูกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และแมลงศัตรูพืชประเภททำลายผลผลิตในโรงเก็บเกี่ยว (stored insect pest) ชนิดที่สองได้แก่ โรคพืช (plant diseases) แบ่งเป็น 2 สาเหตุคือ โรคที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต (pathogenic disease) เช่น เชื้อรา (fungi) เชื้อแบคทีเรีย (bacteria) ไส้เดือนฝอย เป็นต้น และโรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต (non-pathogenic disease) เช่น ขาดธาตุอาหาร ธาตุอาหารเป็นพิษ ดินเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น และศัตรูพืชลำดับสุดท้ายได้แก่ วัชพืช โดยวัชพืช (weed) คือ พืชที่ขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการให้ขึ้น โดยพืชนั้นไม่มีประโยชน์ จะก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชปลูก มนุษย์ และสภาพแวดล้อม ซึ่งวัชพืชจะมีคุณสมบัติในการขยายพันธุ์ แพร่พันธุ์ได้ดี และทนทานต่อสภาพแวดล้อม การป้องกัน ควบคุมหรือกำจัด

เรื่องปัญหาของวัชพืชคือ วัชพืชนั้นรบกวนการเจริญเติบโตของพืชปลูกที่เป็นผลผลิตทางการเกษตรทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยวัชพืชจะแย่งอาหาร น้ำ และแสงสว่าง ทำให้พืชปลูกไม่เจริญเติบโต ให้ผลผลิตน้อย คุณภาพต่ำและปัญหาอีกมากในการทำกสิกรรม ทั้งการขัดขวางทางน้ำ การเก็บเกี่ยว และอาจเป็นแหล่งหลบซ่อนอาศัยของโรค แมลง และสัตว์ศัตรูพืช เราจึงจำเป็นต้องทำการกำจัดวัชพืชออกจากพื้นที่ วิธีการกำจัดนั้นมีหลากหลายรูปแบบ ทั้งการใช้สิ่งมีชีวิต เช่น แมลง แต่อาจจะส่งผลเสียหายต่อผลผลิต การใช้แรงงานคนจำนวนมากในการถอนหรือถางวัชพืชเหล่านั้น หรือการใช้รถพรวนดินเพื่อดึงถอนรากวัชพืช แต่การใช้แรงงานคนในการกำจัดวัชพืชนั้นมีความสิ้นเปลืองอย่างมากตามขนาดของการเกษตร และในบางประเทศที่หาแรงงานได้น้อย สิ่งมีชีวิตอีกชนิดที่เริ่มเป็นที่น่าสนใจในการใช้กำจัดวัชพืชนั่นคือพืชที่ก่อให้เกิดปรากฏการณ์อัลลีโลพาที (Allelopathy)

อัลลีโลพาที (Allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ชนิดหนึ่ง เกิดจากพืชชนิดหนึ่งปลดปล่อยสารพิษหรือสารอัลลีโลเคมีคอล (allelochemical) ออกไปทำอันตรายแก่พืชข้างเคียง ซึ่งอาจทำให้พืชข้างเคียงตายได้ สารที่ปลดปล่อยออกมาเป็นสารธรรมชาติ โดยพืชที่สร้างสารพิษขึ้นมาเรียกว่า พืช

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ปลดปล่อยสารพิษ (donor plant) ปัจจุบันนิยมใช้สารอัลลีโลเคมีคอลในการกำจัดวัชพืชมากขึ้น เนื่องจากใช้แรงงานน้อย ประหยัดต้นทุน กำไรที่ได้กลับมามากขึ้น อย่างไรก็ตามการที่สารอัลลีโลเคมีคอลนั้นมีปริมาณเพียงเล็กน้อยในพืช อีกทั้งความยากลำบากในกระบวนการแยกสารและทำให้สารอัลลีโลเคมีคอลบริสุทธิ์ดังนั้นในปัจจุบันนักวิจัยจึงหันมาศึกษาการปรับปรุงหมู่ฟังก์ชันของสารอัลลีโลเคมีคอลและสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เพื่อให้ได้สารกำจัดวัชพืชในปริมาณที่มาก รวมทั้งมีความเชื่อว่าสารกำจัดวัชพืชที่สังเคราะห์จากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ อาจจะมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์กำจัดวัชพืช

เช่นกัน ในโครงงานพิเศษนี้เราสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสารกลุ่มออโรน (Aurones) ต่อพืชทดสอบ โดยออโรนนั้นเป็นกลุ่มสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายและน่าสนใจ ซึ่งผลการศึกษาและความรู้ที่ได้ในการวิจัยครั้งนี้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการแก้ไขปัญหาเรื่องสารเคมีที่ใช้ปราบวัชพืชในอนาคตอีกด้วย

1.2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1. สังเคราะห์สารประกอบออโรนจากปฏิกิริยาการปิดวงของชาลโคนที่มีโครงสร้างแตกต่างกัน

1.2.2. ศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของออโรนที่สังเคราะห์ได้

1.3. สมมติฐานของงานวิจัย

สารประกอบออโรนเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งฟลาโวนอยด์บางชนิดมีฤทธิ์ในการปราบวัชพืช ดังนั้นเราจึงสนใจนำออโรนมาทดสอบฤทธิ์ในการปราบวัชพืช

1.4. ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1. สังเคราะห์สารประกอบออโรนจากสารตั้งต้นชาลโคนโดยใช้ปฏิกิริยาการปิดวงที่มี $Hg(OAc)_2$ เป็นสารตัวกลางในการทำปฏิกิริยา

1.4.2. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต่อพืชทดสอบของสารประกอบออโรนที่ สังเคราะห์ได้

1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ความรู้ที่ได้จากการทำวิจัยในครั้งนี้ สามารถทำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงสารเคมีที่ใช้ปราบวัชพืชกลุ่มใหม่ในอนาคตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. วัชพืช (Weeds) [1]

คำว่าวัชพืช (Weeds) มีรากศัพท์มาจากคำว่า “วัชชะ” แปลว่า สิ่งที่ควรละทิ้ง และคำว่า “พืช” รวมคำทั้ง 2 เข้าด้วยกัน จะได้คำว่า “วัชพืช” แปลว่า พืชที่ควรละทิ้ง นอกจากความหมายที่แปลจากรากศัพท์แล้วนั้น วัชพืชยังมีความหมายหรือคำจำกัดความทางด้านการกสิกรรมหรือการเกษตรว่า วัชพืช คือ พืชที่ขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการให้ขึ้น โดยพืชนั้นไม่มีประโยชน์ โดยจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชปลูก มนุษย์ และสภาพแวดล้อม ซึ่งวัชพืชจะมีคุณสมบัติในการขยายพันธุ์ แพร่พันธุ์ได้ดี และทนทานต่อสภาพแวดล้อม การป้องกัน ควบคุมหรือกำจัด ดังนั้นจึงมีวัชพืชหลายชนิดที่ไม่ว่าจะขึ้นในสถานที่ใด ก็อาจถูกเรียกว่าวัชพืช ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไป ตัวอย่างเช่น หญ้าคา (*Imperata cylindrica*) ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra*) และผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) เป็นต้น หรืออาจมีพืชบางชนิด ซึ่งโดยปกติเป็นพืชทั่วไป แต่บางสภาพและโอกาสอาจเป็นวัชพืช ซึ่งในกรณีนี้มักพิจารณาถึงคุณประโยชน์ หรือโทษ และสภาพการขึ้นของพืชชนิดนั้นๆ เป็นหลัก เช่น ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) หากนำไปใช้บริโภค จะเป็นพืชปลูกทั่วไป แต่หากไปขึ้นในแปลงพืชปลูกอื่นๆ จะเรียกว่าวัชพืช เป็นต้น

การจำแนกประเภทของวัชพืชออกเป็นกลุ่ม มีหลักการพิจารณาหลายแบบ เช่น การพิจารณาตามชีพจักร เป็นการพิจารณาโดยอาศัยช่วงการมีอายุของวัชพืช แบ่งออกเป็น วัชพืชล้มลุก (Annual weed) และ วัชพืชยืนต้น (perennial weed) การพิจารณาตามลักษณะต้น โดยจำแนกตามลักษณะเนื้อไม้ อาจแบ่งออกเป็น herbaceous weed และ woody weed การพิจารณาตามนิเวศวิทยา เช่น วัชพืชบก (land weed) และวัชพืชน้ำ (aquatic weed) การพิจารณาตามวงศ์ เช่น ตระกูลกก (Cyperaceae) ตระกูลถั่ว (Leguminoseae) ฯลฯ การพิจารณาตามลักษณะทางสรีรวิทยา จำแนกออกเป็นสองกลุ่ม ได้แก่ พวก C3 weed และ C4 weed สุดท้ายเป็นการพิจารณาตามลักษณะใบ ซึ่งได้นิยมนำมาใช้จำแนกวัชพืชมากที่สุด

การพิจารณาตามลักษณะใบ ได้แก่ วัชพืชใบกว้าง (Broadleaf weed) หรือวัชพืชใบเลี้ยงคู่ (dicotyledonous weed) มีลักษณะที่สำคัญคือ ลำต้นอาจมีกิ่งก้านสาขามากมาย ใบมีขนาดกว้าง เส้นใบเป็นร่างแห (net) ขอบใบมีลักษณะแตกต่างกันไป วัชพืชใบแคบ (narrowleaf weed) หรือวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledonous weed) เป็นวัชพืชตระกูลหญ้า (grass weed) มีลักษณะที่สำคัญคือ ลำต้นกลวง โดยอาจมีข้อ (node) และปล้อง (internode) ใบมีขนาดความยาวมากกว่าความกว้าง มีกาบใบ เส้นใบขนานไปกับตัวใบทางเดียวกัน และมีองค์ประกอบของ ligule และ collar และลักษณะสุดท้ายนั้นคือ วัชพืชตระกูลกก (Cyperaceae) ที่เรียกว่า sedge ลำต้นไม่มีข้อ และไม่มีปล้อง ดูคล้ายกับวัชพืชใบเลี้ยงแคบ แต่แตกต่างกันโดยวัชพืชตระกูลกก ใบจะไม่มี ligule และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

auricle ส่วนของ leaf sheath จะอยู่รอบๆ ต้น ซึ่งลำต้นจะมีลักษณะเป็นเหลี่ยม โดยวัชพืชทั้งสามแบบอาจแบ่งย่อยตามชีพจักรได้เป็น วัชพืชล้มลุก หรือวัชพืชข้ามปี หรืออาจมีการนำวิธีจำแนกอื่นๆ มาพิจารณาร่วมด้วย

2.2. ยาปราบวัชพืช [1-4]

ยาปราบวัชพืช หรือสารกำจัดวัชพืช หมายถึง สารเคมีใดๆ ตามที่นำมาใช้ เพื่อฆ่า ทำลาย ควบคุม หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช ทั้งในขณะที่วัชพืชงอกขึ้นมาแล้วหรือยังเป็นเมล็ดอยู่ ตลอดจนส่วนต่างๆ ของวัชพืชที่ขยายพันธุ์ได้ทั้งใต้ดินและบนดิน โดยกำจัดพืชที่ไม่ต้องการในการกสิกรรมหรือการเกษตร ควบคุมวัชพืชในแปลง และใช้จัดการพื้นที่รกร้าง โดยยาปราบวัชพืชนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทยที่มีการทำการเกษตรเป็นส่วนใหญ่

ปัจจุบันมียาปราบวัชพืชที่ถูกนำมาใช้ในการเกษตรมากมายหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและข้อจำกัดแตกต่างกันไป จึงต้องมีการจำแนก จัดกลุ่มยาปราบวัชพืชเพื่อความสะดวกในการใช้งานอย่างถูกต้องปลอดภัย ไม่เป็นอันตรายต่อพืชปลูกและสภาพแวดล้อม วิธีการจำแนกยาปราบวัชพืชมีหลายหลักการ มีหลักการที่นิยมใช้ในการพิจารณาดังนี้

การจำแนกตามขอบเขตของวัชพืชที่ถูกควบคุม แบ่งออกเป็น สารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลาย (Selective herbicide) และสารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย (nonselective herbicide) โดยประเภทเลือกทำลายสามารถแบ่งออกเป็นประเภท สารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลายใบแคบ มีฤทธิ์ในการควบคุมหรือทำลายเฉพาะวัชพืชหรือพืชใบแคบตระกูลหญ้าเท่านั้น ได้แก่ สาร fluazifop-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, fenoxaprop-p-ethyl, clethodim, propaquizafop และ quizalofop-p-tefuryl เป็นต้น สารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลายใบกว้าง (broadleaf herbicide) มีฤทธิ์ในการควบคุมหรือทำลายเฉพาะวัชพืชหรือพืชใบกว้างเท่านั้น ได้แก่ สาร fluroxypyr, 2,4-D, acifluorfen, fomesafen, lactofen, bentazon, bensulfuron-methyl และ metsulfuron-methyl เป็นต้น ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย มีคุณสมบัติในการทำลายวัชพืชหลายชนิดหรืออาจกล่าวได้ว่าทำลาย หรือควบคุมพืชทุกชนิด มักใช้ในพื้นที่ที่ ไม่มีการเพาะปลูก เช่น ริมถนน ทางรถไฟ และการใช้เตรียมพื้นที่ก่อนการลงพืชปลูก เป็นต้น สารกลุ่มนี้ได้แก่ glyphosate, paraquat และ glufosinate-ammonium เป็นต้น

การจำแนกตามองค์ประกอบโครงสร้างทางเคมี สามารถจำแนกได้ดังนี้

สารกำจัดวัชพืชประเภทอนินทรียสาร (Inorganic herbicide) คือสารเคมีที่ไม่มีธาตุคาร์บอน (carbon) เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล โดยสารกำจัดวัชพืชจำพวกนี้ต้องใช้ในอัตราสูง มีความเป็นพิษต่อสภาพแวดล้อม รวมทั้งสิ่งมีชีวิตมาก ปัจจุบันจึงมีการใช้สารเคมีประเภทนี้น้อยมาก ไม่นิยมใช้ในการเกษตรอีกต่อไป ชนิดของสารกำจัดวัชพืชที่ถูกจัดว่าเป็นพวกอนินทรียสาร ยกตัวอย่างเช่น พวกที่เป็นกรด (acid) และพวกที่เป็นเกลือ (salt) สารกำจัดวัชพืชพวกนี้มีคุณสมบัติ และการใช้งานที่แตกต่างกันไป แต่ส่วนใหญ่นั้น จะมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชต่ำ เมื่อเทียบกับพวกอินทรียสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารกำจัดวัชพืชประเภทอินทรียสาร (Organic herbicide) คือสารเคมีที่มีโมเลกุลประกอบไปด้วยธาตุคาร์บอนอย่างน้อย 1 อะตอมขึ้นไป นิยมนำมาใช้ในการกำจัดวัชพืชมากที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพดี เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมน้อย มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ เช่น ใช้ในอัตราต่ำ มีคุณสมบัติเลือกทำลายดีมาก

พืชและวัชพืชหลายชนิดมีสารอยู่ในตัวเอง และสามารถขับหรือปลดปล่อยสารนั้นออกมาแล้วมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียงหรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้ เรียกกระบวนการนี้ว่า Allelopathy และเรียกสารที่มีอยู่ในพืชนั้นว่าสาร allelopathic ถูกค้นพบโดย Molisch ในปี 1937 ซึ่งคุณสมบัตินี้มีผลได้ทั้งทางบวกหรือทางลบ คืออาจจะกระตุ้นหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของอีกพืชหนึ่ง

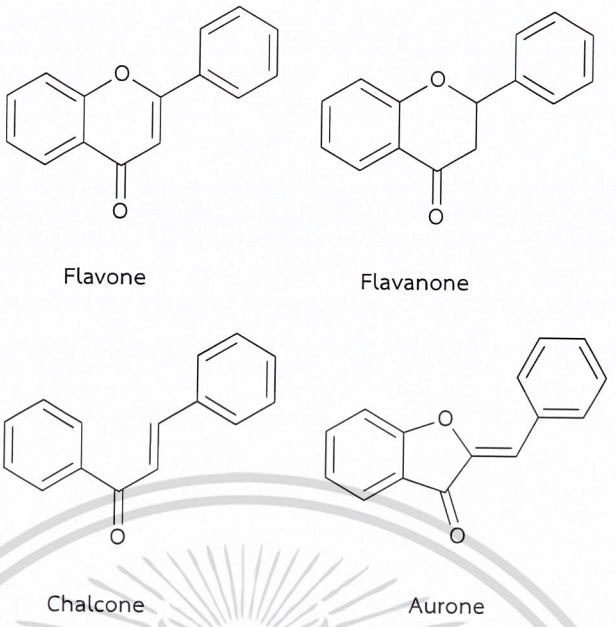
Allelopathy เป็นปรากฏการณ์ทางชีวเคมีระหว่างพืช รวมทั้งจุลินทรีย์และสัตว์ ที่มีการปลดปล่อยสารทุติยภูมิออกมา ซึ่งสารเหล่านี้มีผลต่อสิ่งมีชีวิตข้างเคียง ทั้งยับยั้งหรือกระตุ้นการเจริญเติบโตและปฏิกิริยาทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิตในสภาพแวดล้อมนั้นๆ สารที่ปลดปล่อยออกมาจะได้จากพืชที่มีชีวิตอยู่โดย การระเหย การชะล้างออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็น ราก ใบ ดอก ผล การสกัดจากพืช รวมถึงการย่อยสลายของซากด้วย

สารอัลลีโลเคมิคอล (Allelochemicals) เป็นสารผลิตภัณฑ์ทางเศรษฐกิจที่มีประโยชน์ยกตัวอย่างเช่น alkaloids และ terpene เป็นต้น บางชนิดช่วยป้องกันโรคและแมลงที่ทำลายพืชปลูกและส่วนมากมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืช สารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชมีอยู่ 5 กลุ่มใหญ่ คือพวก อัลคาลอยด์ (alkaloids), สเตอรอยด์ (steroids), เทอร์พีนอยด์ (terpenoids), อะซิโตจีนิน (acetogenins) และ ฟีนิลโพรเพน (phenylpropanes) สารหลายชนิดเป็นสารในกลุ่มอะโรมาติก รวมถึงสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารเหล่านี้เกิดจาก shikimate pathway นำไปเก็บไว้ที่ vacuole ในพืช การผลิตสารในพืชเหล่านี้ยังขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ สภาพดิน หรือฤดูกาลเป็นต้น

2.3. ออโรน (Aurone) [5-8]

ออโรนเป็นสารประกอบ Heterocyclic ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในดอกไม้ที่มีสีเหลือง เช่น ดอกลิ้นมังกร และดอกรักเร่ ซึ่งออโรนจัดเป็นสารที่ผลิตได้จากพืชเพื่อป้องกันการติดเชื้อ และโครงสร้างของออโรนจะมีลักษณะแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ คือ ฟลาโวนอยด์จะมีโครงสร้างเป็นหกเหลี่ยม แต่ออโรนมีโครงสร้างเป็นห้าเหลี่ยม ออโรนเป็นกลุ่มสารที่สำคัญที่ผลิตได้จากธรรมชาติ อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งพบมากในพืช โดยทั่วไปในผลไม้และดอกไม้เป็นแหล่งที่พบฟลาโวนอยด์ (flavonoids), ฟลาโวน (flavones), ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และชาลโคน (chalcones)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างโครงสร้างของ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids), ฟลาโวน (Flavones), ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) และชาลโคน (Chalcones)

หลายปีที่ผ่านมา ฟลาโวน และชาลโคนถูกศึกษาเพื่อนำไปรักษาหรือต้านโรคต่างๆมากมาย แต่ในทางชีวภาพของออโรนไม่ได้ถูกศึกษาอย่างละเอียด ซึ่งออโรนใช้ต้านมะเร็ง ต้านมาลาเรีย และต้านจุลินทรีย์เป็นหลัก ออโรนถูกสังเคราะห์จากชาลโคนโดยวิธีออกซิเดชั่น (Oxidation) ไซคลิเซชั่น (cyclisation) และรวมถึงวิธีที่ปรับปรุงใหม่ คือ enzyme aureusidin synthase ออโรนมีกิจกรรมทางเภสัชวิทยาหลากหลายรูปแบบ เช่น การต้านมะเร็ง การยับยั้งการกินอาหาร และต้านปรสิต เป็นต้น

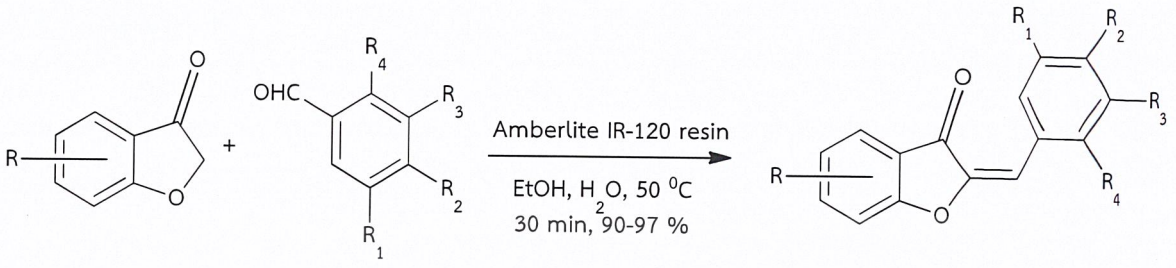
2.3.1. ตัวอย่างวิธีการสังเคราะห์ออโรน

2.3.1.1. วิธีการควบแน่น [6]

การควบแน่นของเบนโซฟูราโนน (Benzofuranone) ที่มีอะโรมาติกอัลดีไฮด์ (Aromatic aldehydes) ซึ่งอยู่ในเรซิน amberlite IR-120 ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (EtOH) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการก่อตัวของออโรนในระยะเวลาอันสั้น เริ่มแรกปฏิกิริยาของเบนโซฟูราโนน (benzofuran-3(2H)-one) กับพาราโบรโมเบนซาลดีไฮด์ (p-bromobenzaldehyde) ถูกทำปฏิกิริยาอยู่ในตัวเร่งกรดที่เป็นของแข็ง เช่น กรดซิลิกาซัลฟิวริก (silica sulfuric acid : SSA), ซิลิกาเจล (silica gel), เรซิน amberlite IR-120, แอมเบอร์ลิสต์-15 (amberlyst-15), nafion-NR50, โดเวก-50 (dowex-50) เพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ แต่ในตัวเร่งปฏิกิริยากรดซิลิกาซัลฟิวริก (silica sulfuric acid : SSA), ซิลิกาเจล (silica gel) และแอมเบอร์ลิสต์-15 (amberlyst-15) ให้ผลผลิตที่ไม่ดี (poor yield) ในขณะที่ในตัวเร่งปฏิกิริยา nafion-NR50, โดเวก-50 (dowex-50) ให้เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตที่ดี และในตัวเร่งปฏิกิริยาแอมเบอร์ลิสต์-15 (amberlyst-15) จะให้ผลผลิตดีมากที่สุด (excellent yield)

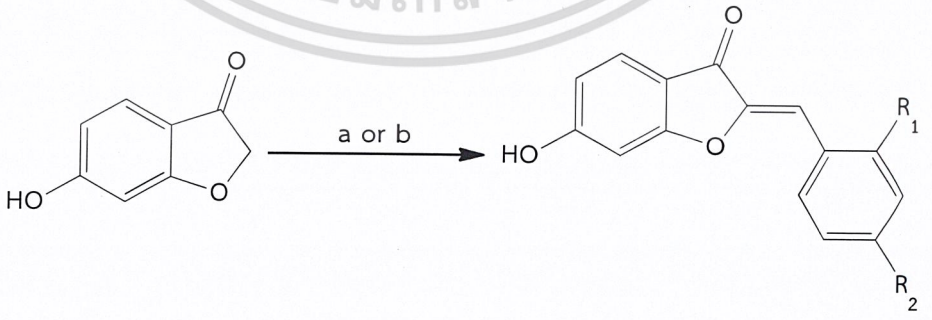


รูปที่ 2.2 การควบแน่นของเบนโซฟูราโนน (Benzofuranone)

ยกตัวอย่างการสังเคราะห์สารประกอบออโรนด้วยวิธีการควบแน่น ดังนี้

1. การสังเคราะห์ออโรนจาก 6-Hydroxybenzofuranone [11]

เติม 6-Hydroxybenzofuranone 1.5 กรัม 10 มิลลิโมล ลงในไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide : DMF) 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมโพแทสเซียมคาร์บอร์เนต (K_2CO_3) 30 มิลลิโมล และ alkyl halide (11 มิลลิโมล) 4.14 กรัม แล้วนำไปปั่นกวนเพื่อให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้ว นำสารที่ได้มากรองและระเหยสารละลายออกไป ภายใต้สุญญากาศ จากนั้นจะมีสารที่เหลือจากการกรองและระเหย ให้นำสารนั้นละลายด้วยกรด แล้วทำการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) 30 มิลลิลิตร จะได้สารที่แยกส่วนกันในกรวยกรอง ซึ่งจะแยกส่วนของชั้นออแกนิกนำมาทำให้แห้งด้วยแอนไฮดรัส โซเดียมซัลเฟต (anhydrous Na_2SO_4) จากนั้นก็ระเหยสารละลายภายใต้สุญญากาศอีกครั้ง แล้วทำการตกผลึกสารที่เหลือจากการระเหยด้วยสารละลายที่เหมาะสม ซึ่งท้ายที่สุดแล้วจะได้ benzofuranone เป็นผลึกของแข็งสีเหลือง



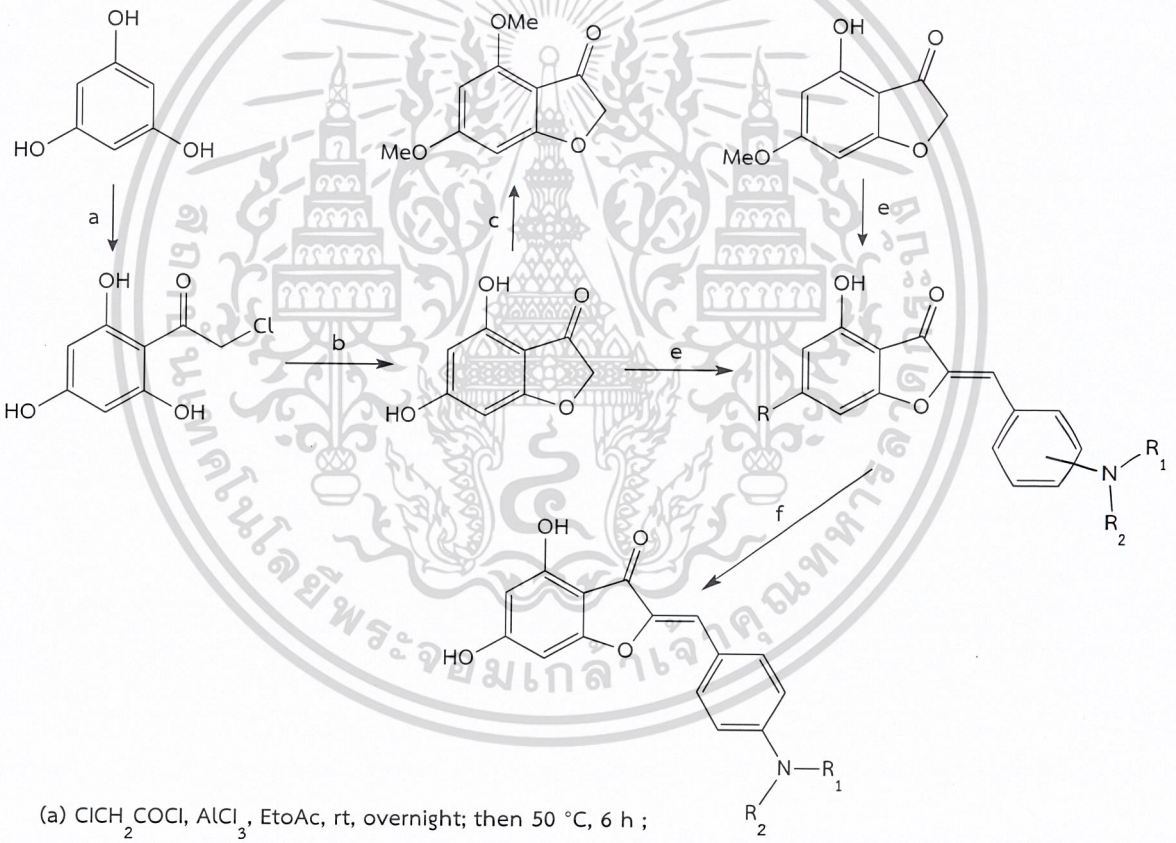
(a) ArCHO, DMF, EtOH, KOH, r.t. : (b) ArCHO, MeONa, MeOH, r.t. :, reflux

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจาก 6-Hydroxybenzofuranone

2. สังเคราะห์จาก 4-Hydroxy-6-methoxybenzofuran-3(2H)-one [12]

เติม 4-Hydroxy-6-methoxybenzofuran-3(2H)-one หรือ 4,6-dihydroxybenzofuran-3(2H)-one ลงในเอทานอล 3 มิลลิลิตร/มิลลิโมล จากนั้นเติมสารละลายน้ำของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 50% 5 มิลลิลิตร/มิลลิโมล แล้วเติมอนุพันธ์ของเบนซาลดีไฮด์ นำปั่นกวนทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นทำการทดสอบด้วย TLC เพื่อดูว่าสารตั้งต้นหมดแล้วหรือยัง หากหมดแล้วให้ทำขั้นตอนต่อไปคือ การกำจัดเอทานอลภายใต้ความดันที่ลดลง แล้วนำสารที่เหลือจากกการกำจัดเอทานอลมาเจือจางในน้ำกลั่นและทำให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 10% จากนั้นนำมาผสมกับสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ที่อิ่มตัวเพื่อปรับค่า pH ให้เป็น 7-8 เมื่อปรับ pH เสร็จแล้วนำสารมากรองและล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ได้อนุพันธ์ออโรนที่มีสีส้มถึงแดงเข้มเป็นของแข็ง



(a) $ClCH_2COCl$, $AlCl_3$, EtoAc, rt, overnight; then 50 °C, 6 h ;

(b) NaOAc, MeOH, reflux for 4 h ;

(c) Me_2SO_4, K_2CO_3, dimethoxyethane, reflux for 5 h ;

(d) $AlCl_3$, CH_2Cl_2. reflux for 5 h ;

(e) 2 - or 4 - substituted benzaldehyde, 50 % KOH , EtOH , rt , overnight ;

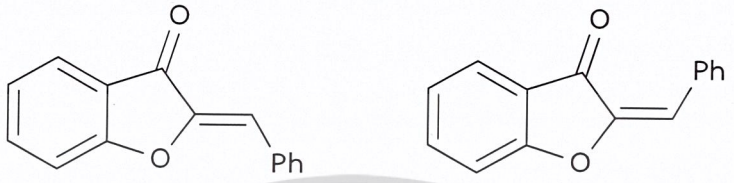
(f) H_2 , 10 % Pd/C THF , rt overnight .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

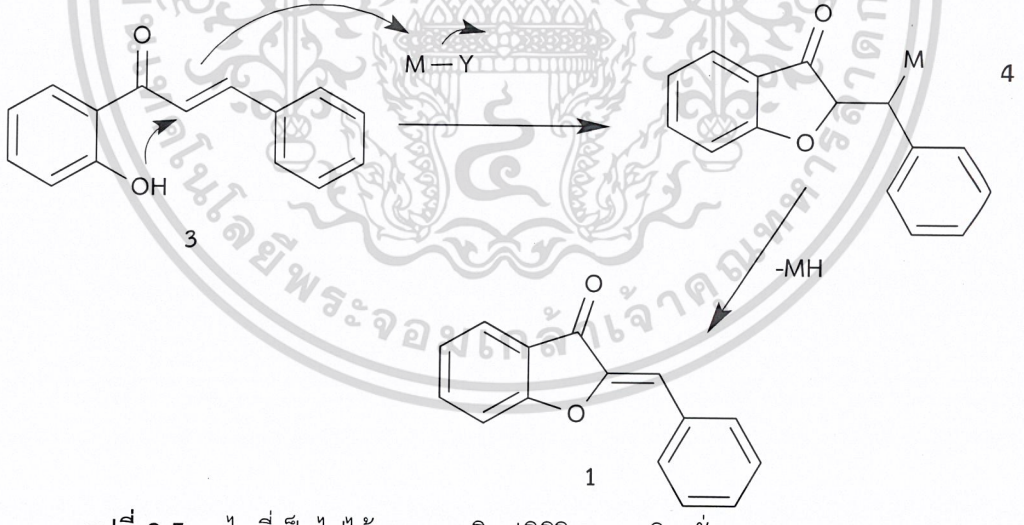
รูปที่ 2.4 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจาก 4-Hydroxy-6-methoxybenzofuran-3(2H)-one

2.3.1.2. วิธี Oxidative cyclisation ของการเปลี่ยน 2'-hydroxychalcones ให้เป็น aurones [13]

ออโรนเป็นสารที่หายากในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและที่สกัดได้จากพืชดอก, เฟิร์น, มอส และสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล



ปฏิกิริยาการปิดวงแบบออกซิเดชั่น (Oxidative cyclisation) โดยใช้สารตัวกลางโลหะทรานซิชั่น ของ 2'-hydroxychalcone เป็นปฏิกิริยาที่นิยมสำหรับการสังเคราะห์ออโรน ปฏิกิริยานี้เกิดผ่านการ coordinate ของเกลือโลหะทรานซิชั่นประเภท M-Y กับพันธะคู่ของ chalcone **3** ทำให้ α-carbon ไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับ 2'-hydroxy group ทำให้ได้ intermediate **4** ซึ่งโลหะจะถูกกำจัดแบบ E1BC (E1BC-type elimination) จะทำให้ aurone isomer 1 เสถียรมากขึ้น

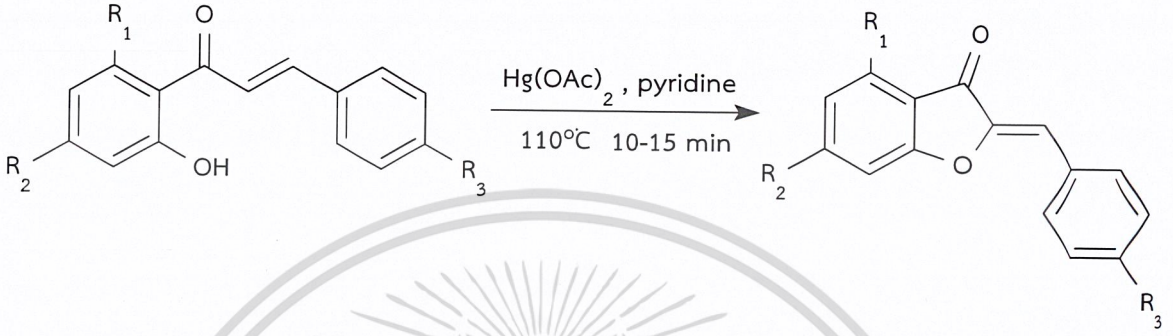


รูปที่ 2.5 กลไกที่เป็นไปได้ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ Chalcone **3**

มีนักวิจัยกลุ่มหนึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับเกลือโลหะทรานซิชั่น 3 ชนิด ได้แก่ Mercury(II) acetate ($Hg(OAc)_2$), Copper(II) bromide ($CuBr_2$) และ Thallium(III) nitrate ($Tl(NO_3)_3$) ซึ่งเป็นรีเอเจนต์ที่สำคัญและมีประโยชน์กับปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น aurone โดยจะทำการรีฟลักซ์ 2'-hydroxychalcone กับเมอร์คิวรีอะซิเตต ($Hg(OAc)_2$) ใน Pyridine จะได้ aurone **5** เป็นผลิตภัณฑ์เพียงตัวเดียวที่มีผลผลิตเท่ากับ 78%

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และภายใต้สภาวะปฏิกิริยาเดียวกันนี้จะทำให้ chalcone **7**, **8** และ **9** ถูกเปลี่ยนเป็น aurone **10**, **11** และ **12** ตามลำดับ เรียงจากค่าผลผลิตต่ำไปสูง แต่ปฏิกิริยานี้จะมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันเมื่อใช้ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide : DMSO) เป็นตัวทำละลายแทน Pyridine และเมื่อใช้กรดแอซิติกเป็นตัวทำละลายจะทำให้ได้ทั้ง Aurones และ Flavanones ผสมกัน



6 (R_1=R_2=R_3=H) **5** (78%)

7 (R_1=Br, R_2=CH_3, R_3=H) **10** (77%)

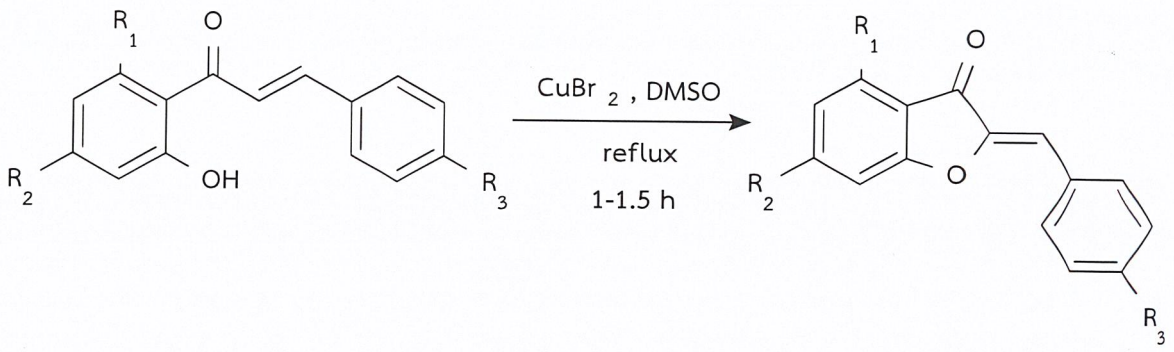
8 (R_1=H, R_2=CH_3, R_3=Cl) **11** (82%)

9 (R_1=Br, R_2=CH_3, R_3=OCH_3) **12** (87%)

รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น aurones โดยใช้ $Hg(OAc)_2$ ใน pyridine

Copper (II) bromide ได้ถูกพิสูจน์โดย Agrawal และ Soni ว่าเป็นสารตัวกลางที่มีประสิทธิภาพสำหรับการเปลี่ยน 2' –hydroxychalcone ไปเป็น aurones **13**, **18**, **19** และ **20** ซึ่งได้ผลผลิตประมาณ 72-80% รวมถึงการใช้ Copper (II) bromide สำหรับการเปลี่ยน chalcone **14**, **15**, **16** และ **17** ไปเป็น aurones **13**, **18**, **19** และ **20** ตามลำดับ แต่ปฏิกิริยานี้จะใช้เวลานานกว่าการใช้ Mercury (II) acetate มากถึง 4-5 เท่า และมีอีกวิธีที่ทดสอบโดย Ameta และคณะ ซึ่งได้ทำการรีฟลักซ์ 2' –hydroxychalcones และ Copper (II) bromide ในสารผสมไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF-H_2O) (4:1 v/v) แทนการใช้ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide : DMSO) ทำให้ได้ Aurone ที่มีผลผลิตต่ำกว่า 63-73%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

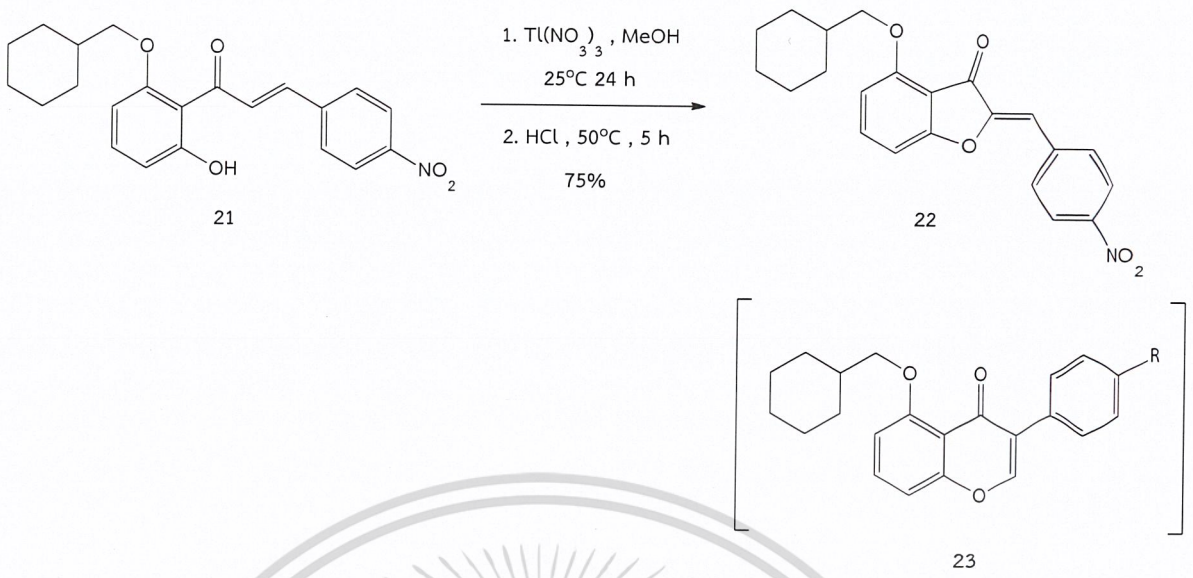


14 (R_1=R_2=R_3=H)	**13** (76%)
15 (R_1=Br, R_2=CH_3, R_3=H)	**18** (72%)
16 (R_1=H, R_2=CH_3, R_3=Cl)	**19** (80%)
17 (R_1=Br, R_2=CH_3, R_3=OCH_3)	**20** (70%)

รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น aurones โดยใช้ Copper(II) bromide

การใช้ Thallium(III)nitrate ในปฏิกิริยา oxidative rearrangement ของ 2'-hydroxy chalcones ได้ผลิตภัณฑ์เป็น isoflavones แต่ในปี ค.ศ. 1995 Thakker และ Cushman รายงานว่าการใช้ Thallium (III) nitrate ในปฏิกิริยา Cyclisation ของ 2' –hydroxychalcones ได้ผลิตภัณฑ์เป็น aurone เพียงตัวเดียว และเมื่อไม่นานมานี้ Thanigaimalai และคณะได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาเดียวกันนี้ คือเติม chalcone **21** ในเมทิลแอลกอฮอล์ (MeOH) กับ 2 โมลาร์แทลเลียมไนเตรต (2M Tl $(NO_3)_3$) จากนั้นนำไปปั่นกวนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเติม 2M HCl ตามภายหลัง นำไปปั่นกวนให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ทำให้ได้ aurone **22** ที่มีค่าผลผลิตเป็น 75% หลังจากนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แล้ว การแทนที่หมู่ไนโตร (-NO_2 group) ในโครงสร้างของ chalcone **21** ด้วยหมู่ดึงอิเล็กตรอน เช่น –Cl, -CHO, และ –CO_2Me จะได้ออโรนที่มีผลผลิตเท่ากับ 43% หรือต่ำกว่านั้น แต่เมื่อหมู่ไนโตร (-NO_2 group) ถูกแทนที่ด้วยหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น –OH, -OCH_2OCH_3 และ –OCH_3 จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็น isoflavone **23** เท่านั้น

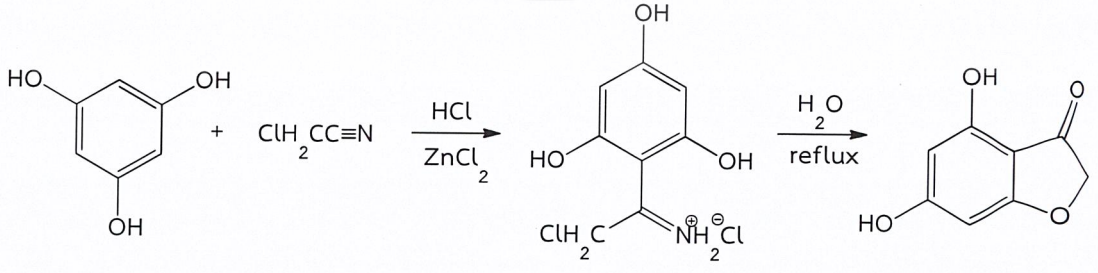
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ปฏิกิริยา Oxidtive cyclisation ของอนุพันธ์ 2'-hydroxychalcone ให้เป็น aurones โดยใช้ Thallium(III) nitrate

2.3.1.3. วิธีการสังเคราะห์ 4,6-Dihydroxybenzofuran-3(2H)-one [8]

เติม anhydrous $ZnCl_2$ (2.70 g, 19.8 mmol) ลงในสารผสมของ phloroglucinal (5.00 g, 39.7 mmol) และ chloroacetonitrile (4.0 mL, 63.0 mmol) ใน ether (165 mL) จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิ 0°C จะเกิดฟองแก๊สของกรดไฮโดรคลอริกระหว่างที่สารทำปฏิกิริยากันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งสารละลายไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิเย็นเป็นเวลา 1 คืน และจะเกิดฟองแก๊สของกรดไฮโดรคลอริกเป็นเวลา 2 ชั่วโมงอีกครั้ง จากนั้นสารละลายจะถูกวางไว้ในห้องที่เย็น 3 วัน จะได้ตะกอนของเกลือ iminium นำมากรองและล้างด้วยอีเทอร์ 3 ครั้ง แล้วนำเกลือที่ได้มาละลายในน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้สารเย็นจะได้ของแข็ง นำไปกรองและล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ทำให้แห้งจะได้สารผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์เป็นของแข็งสีแดง ซึ่งนำไปใช้ได้โดยไม่ต้องนำไปทำให้บริสุทธิ์อีกรอบ



รูปที่ 2.9 วิธีการสังเคราะห์ 4,6-Dihydroxybenzofuran-3(2H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2. ฤทธิ์ทางชีวภาพของ Aurones

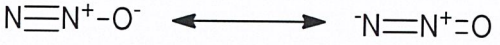
2.3.2.1. กิจกรรมการยับยั้งซีดีเคไคเนส (CDK Kinase inhibitor activity) [14]

มะเร็งเกิดจากข้อบกพร่องของวัฏจักรเซลล์ ซึ่งถ้าไม่สามารถควบคุมการทำงานของ CDK ได้ จะทำให้การแบ่งแยกเซลล์เกิดความไม่แน่นอนซึ่งสิ่งเหล่านี้สามารถนำไปสู่การเกิดโรคมะเร็งได้ ด้วยเหตุนี้การพัฒนาสารยับยั้ง CDK ทุกประเภท จะกำหนดเป้าหมายรักษาเฉพาะเซลล์มะเร็ง

Flavopiridol มีศักยภาพสูงและมี selectivity ต่ำในการยับยั้งทั้ง CDK1 CDK2 และ CDK4 ซึ่งการสังเคราะห์และการศึกษาสารเหล่านี้หลายๆ ชนิด โดยเฉพาะออโรนส์ที่ทำการศึกษาแล้ว พบว่ามีออโรนเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถนำมาเทียบเท่ากับฟลาโวไพริดอลได้ และมี selectivity สูงในการยับยั้ง CDK1 เมื่อเทียบกับ CDK2 และ CDK4 แล้ว ในขณะเดียวกัน Sphinngosine kinase (SphK) จะควบคุมการสังเคราะห์ไขมันที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งส่งผลให้เกิดการเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ ทำให้ในปัจจุบัน ยังไม่อนุญาตให้มีการพัฒนายาต้านมะเร็ง เนื่องจากตัวยับยั้งมีจำนวนจำกัด แต่ยังมีเป้าหมายในการศึกษาสารประกอบหลายประเภท เช่น 3’ , 4’ –dihydroxy aurone ซึ่งสามารถยับยั้ง Sphinngosine kinase ได้ การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มี 3’ , 4’ –dihydroxy aurone ซึ่งแสดงผลปานกลาง แต่การเติบโตของเซลล์มะเร็งที่ทดสอบกับหนูลดลง ซึ่งผลลัพธ์เหล่านี้มีแนวโน้มที่สามารถยืนยันได้ว่า Sphinngosine kinase เป็นสารที่ยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งได้

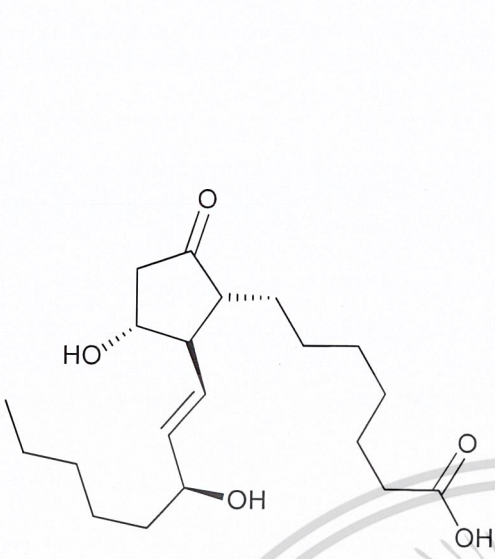
2.3.2.2. กิจกรรมการต้านแผลอักเสบของออโรน (Anti-Inflammatory Activity of Auroes) [14]

ยาแก้ปวดและยาต้านการอักเสบเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่เคยใช้ในการรักษาโรคมากมาย อีกทั้งยังช่วยบรรเทาความเจ็บปวดและการอักเสบ ซึ่งยาเหล่านี้สามารถหาได้ตามท้องตลาดทั่วไป การอักเสบเป็นหนึ่งสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดกลไกการปกป้องการบุกรุกของเชื้อโรค ซึ่งเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Immune cell) ที่อยู่ในแผลอักเสบจะปล่อยไซโตไคน์ (cytokines), ไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) และโปรสตาแกลนดินส์ (prostaglandins) ออกมาเป็นจำนวนมากเมื่อถูกเชื้อโรคกระตุ้นที่แผลอักเสบ และนอกจากนี้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นของไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) อาจทำให้เกิดพยาธิในสภาวะต่างๆ เช่น การอักเสบ, สารก่อมะเร็ง และทำให้ระบบในร่างกายติดเชื้อ ในขณะเดียวกันการป้องกันเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการอักเสบเป็นวิธีที่ดีมากสำหรับการยับยั้งโรคอักเสบแบบเฉียบพลันและโรคเรื้อรังต่างๆ

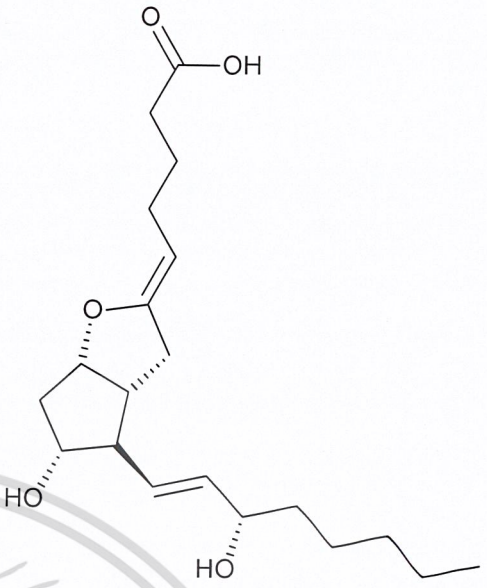


ไนตรัสออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

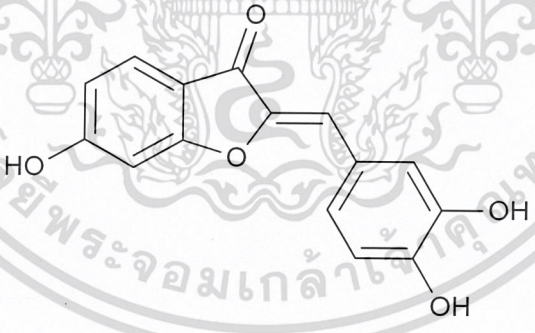


Prostaglandin E1 (PGE1)



Prostaglandin I2 (PGI_2)

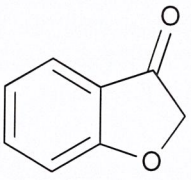
ซัลฟูเรทิน (Sulfuretin) เป็นยาที่ลดปริมาณการผลิตไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) และโปรสตาแกลนดินส์ (prostaglandins) จากนั้นก็มีการค้นพบยาที่สามารถนำมาใช้ลดความเป็นพิษนี้เช่นกัน จึงพบว่ามีอนุพันธ์ของชาลโคน (chalcones) บางตัวสามารถต้านการอักเสบหรือป้องกันอาการแพ้ได้



sulfuretin

อนุพันธ์ของเบนโซฟูแรโนน (Benzofuran-3-one) ถูกรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและยับยั้งอาการตาอักเสบ โดยอนุพันธ์ของเบนโซฟูแรโนน (benzofuran-3-one) จะถูกเผาผลาญอย่างรวดเร็วหลังจากออกฤทธิ์แล้ว ข้อเท็จจริงนี้ชี้ให้เห็นว่าชาลโคน (chalcones) อาจเป็นสารต้านการอักเสบแบบไม่มีสารพิษตกค้างในร่างกาย ด้วยเหตุนี้ เราจึงมีความพยายามที่จะพัฒนายาต้านการอักเสบอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น จึงมีการสังเคราะห์และทดสอบออโรนขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



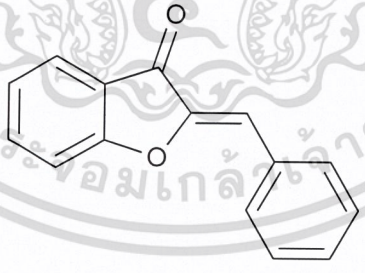
benzofuran-3-one

2.3.2.3. ป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบ (Anti-hepatitis) [7,9,14]

ไวรัสตับอักเสบซี (Hepatitis C virus : HCV) เป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก องค์กรด้านสุขภาพโลกได้ประเมินว่ามีผู้ติดเชื้อไวรัสนี้ประมาณ 120-140 ล้านคนทั่วโลก ในขณะที่มีอีก 3-4 ล้านคนติดเชื้อใหม่ทุกปี

โครนิกเอชซีวี (Chronic HCV) คือไวรัสที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของตับและพังผืดซึ่งไม่มีการรักษาด้วยยาต้านไวรัสที่เหมาะสม ทำให้นำไปสู่การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีนี้สามารถรักษาได้ โดยมี 2-เบนซิลิดีนเบนโซฟูแรโนน (2-benzylidenebenzofuran-3-ones) เป็นออโรนแม่แบบใหม่สำหรับการต้านไวรัสตับอักเสบซี (hepatitis C virus) และส่งผลให้การยับยั้ง RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) มีศักยภาพมากขึ้น, ลดความเป็นพิษของเชื้อ, ทำให้ออโรนเป็นสารต้านไวรัสตับอักเสบซีที่ออกฤทธิ์ได้โดยตรง

อนุพันธ์ของออโรนจำนวน 37 ตัวถูกสังเคราะห์ขึ้นและนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซี จากนั้นเขียนผลสรุปอนุพันธ์ที่น่าจะมีแนวโน้มในการต้านเชื้อ รวมถึงอนุพันธ์ที่ลดความเป็นพิษของเชื้อ ซึ่งอนุพันธ์เหล่านี้จะถูกบันทึกไว้เพื่อนำไปวิจัยเป็นยาต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในอนาคต



2-benzylidenebenzofuran-3-ones

2.3.2.4. กิจกรรมการต้านเชื้อมาลาเรียของออโรน (Antimalarial Activity of Aurones) [10,14]

มาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของโลกที่มีผลกระทบต่อเศรษฐกิจอย่างรุนแรงในประเทศที่โรคมาลาเรียแพร่ระบาด โรคมาลาเรียนี้ได้ทำร้ายชีวิตผู้คนมากกว่า 1.5 ล้านคนต่อปี ในปัจจุบันการวิเคราะห์อภิมานในทางสถิติ (Meta-analysis) แสดงให้เห็นหลักฐานที่น่าสนใจคือ ปรสิตของโรคมาลาเรียที่ดื้อยานั้นกำลังเติบโตอย่างต่อเนื่อง ซึ่งปัญหานี้เกิดขึ้นเนื่องจากการแพร่กระจาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของปรสิตที่มีความทนทานต่อยาต้านมาลาเรีย ดังนั้นการพัฒนายาตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพและราคาถูกจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการกำจัดปัญหานี้

ประสิทธิภาพในการรักษาโรคของออโรน (Aurones) ได้รับการศึกษาอย่างละเอียดเมื่อเร็วๆ นี้และมีการรายงานว่าออโรนสามารถต้านมาลาเรียได้ เนื่องจากออโรนสามารถทำหน้าที่เป็นสารยับยั้ง (modulators) การทำงานของโปรตีนที่ผลักยาออกจากเซลล์มะเร็ง (ABC transporters) และสร้างการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholeneterase) และโมโนเอมีนออกซิเดส ชนิดบี (MAO-B) อนุพันธ์ของออโรนจำนวน 44 ชนิดถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยปฏิกิริยาการควบแน่นของอัลดอล (Aldol condensing) ของเบนโซฟูราโนน (benzofuranones) และอนุพันธ์ของเบนซาลดีไฮด์ (benzaldehydes) โดยเน้นถึงประโยชน์ของออโรนซึ่งเป็นสารตัวหลักสำหรับกระบวนการสังเคราะห์โดยใช้วิธี palladium catalyzed เพื่อเร่งให้เกิดสารประกอบสำหรับเพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพของอนุพันธ์ออโรนที่มีแนวโน้มเป็นสารต้านมาลาเรีย มีการสังเคราะห์สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของออโรนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติประมาณ 35 ตัว แล้วทำการทดสอบในด้านการต้านราเมือกชนิดพลาสโมเดียม (Plasmodial) ในหลอดทดลอง ซึ่งอนุพันธ์เหล่านี้มีหลายตัวที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียของหมู่ย่อยไมโครโมลาร์ (Submicromolar) กับสายพันธุ์ที่ทนต่อคลอโรควิน (Chloroquine) ของพลาสโมเดียม ฟัลซิปารัม (Plasmodium falciparum) สายพันธุ์ FcB1-Columbia ที่เพาะเลี้ยงในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 4,6-dimethoxy-40-ethylazaaurone มีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อโดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

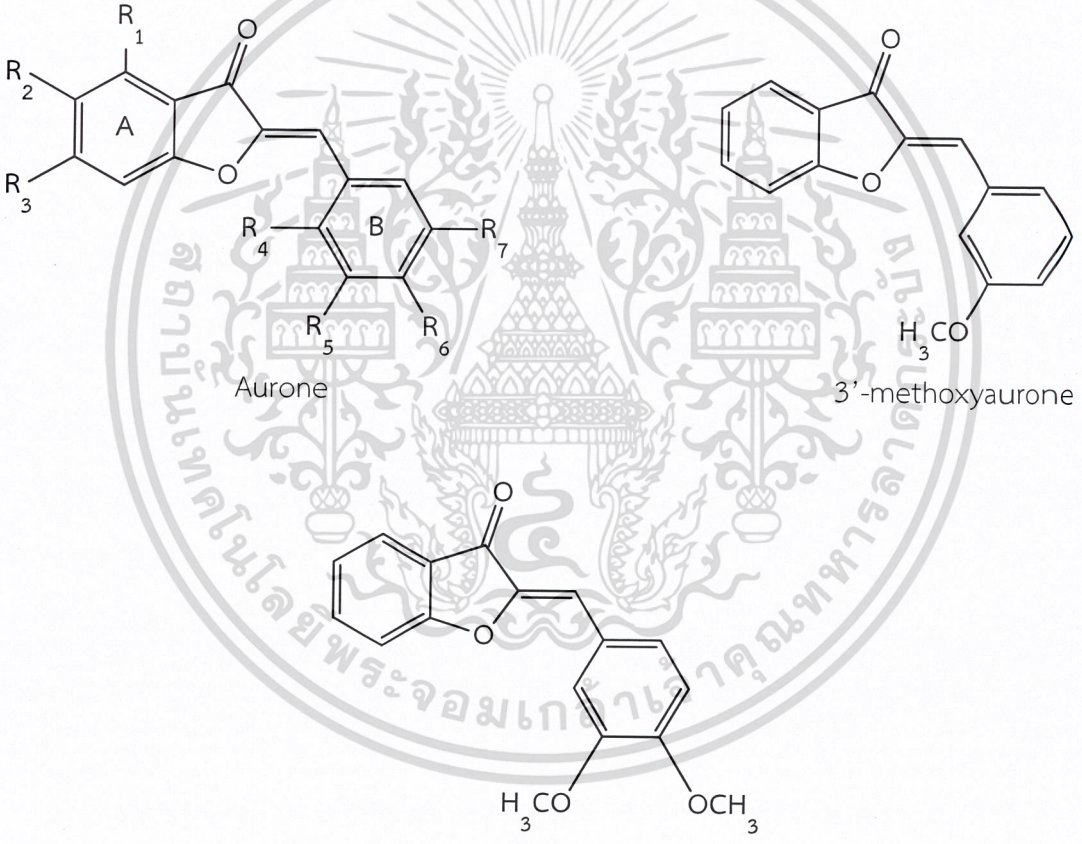
2.3.2.5. ออโรนเป็นสารที่มีความปลอดภัยทางโภชนาการ (Aurones as Nutrition security) [14]

ความสำคัญของยาและสารเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติของสารเหล่านี้มีความเป็นไปได้ที่น่าสนใจในการสำรวจศักยภาพทางเภสัชวิทยาและทางชีวภาพของสารเหล่านี้ว่าเป็นการสังเคราะห์และการผลิตโมเลกุลที่มีคุณค่าต่อมนุษย์ ออโรน (Aurone) เป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ที่เรียกว่าเป็นสารที่ให้สีเหลืองในดอกไม้ (Anthochlor pigments) ซึ่งความปลอดภัยทางโภชนาการขึ้นอยู่กับความปลอดภัยด้านอาหาร โดยพิจารณาจากการเข้าถึงของสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ไม่ใช่แค่นับจำนวนแคลอรี ผลิตภัณฑ์ยาสำหรับการรักษาโรคที่ได้จากพืชนั้น แสดงให้เห็นถึงสิ่งที่ดี โดยการทดลองทางคลินิก (Clinical trials) และอื่นๆ อีกมากมายซึ่งผ่านการตรวจสอบมาแล้ว ระบบการผลิตยารักษาโรคจากพืชนั้นสามารถขยายได้ง่ายและใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งปัจจุบันใช้ในการผลิตชีวบำบัด หน่วยงานต่างๆ ทั่วโลกกำลังพัฒนากฎระเบียบทางการเกษตรและการผลิตที่จำเป็นเพื่อให้มั่นใจในความปลอดภัย, ความมั่นคง, และประสิทธิภาพของยาที่ทำจากพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.6. การกำจัดแมลงของออโรน (Insect Antifeedant Assay) [18]

การทดสอบการกำจัดแมลงของออโรนทำได้โดยการเตรียมใบมันเทศสด แช่ในอะซิโตนที่มีสารประกอบที่ต้องการทดสอบฤทธิ์การกำจัดแมลง และแช่ในอะซิโตนที่เป็นตัวแปรควบคุม เมื่อเตรียมใบไม้เสร็จแล้วจะปล่อยหนอนแมลงลงในจานเพาะเชื้อ จะเห็นว่าใบไม้ถูกแมลงกินไปบางส่วน จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับใบไม้ที่ใช้อ้างอิง พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงของออโรนที่มีหมู่เมทอกซี่ (Methoxy group) เป็นหมู่แทนที่มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงดีกว่าออโรนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นหมู่แทนที่ที่วง A หรือ B ซึ่งออโรนที่มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงมากที่สุดคือ 3'-methoxyaurone และ 3'4'-dimethoxyaurone

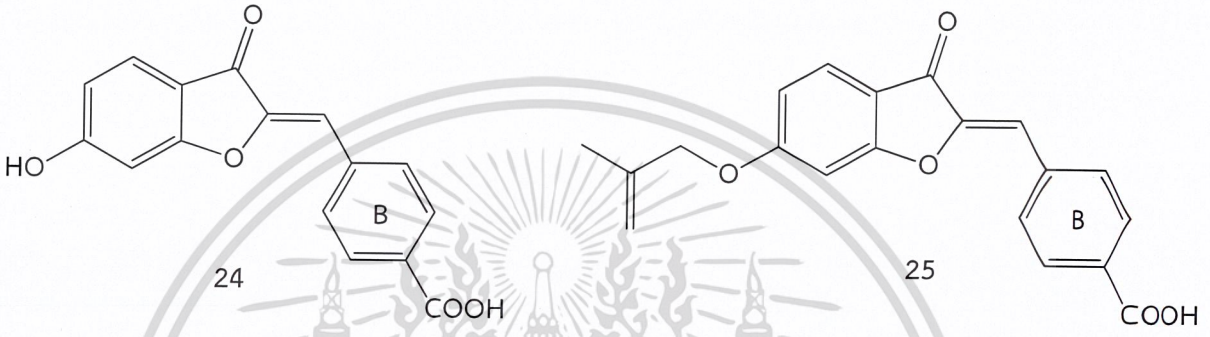


2.3.2.7. กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ Xanthine Oxidase ของออโรน [7,11]

การยับยั้งเอนไซม์ Xanthine Oxidase (XO) คือจุดมุ่งหมายที่จะพัฒนาในการบำบัดโรคเก๊าท์ได้ ในปี 2017 Muzychka และคณะ ได้ทำการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของออโรนที่มีหมู่คาร์บอกซิเลตเป็นหมู่แทนที่ แล้วทำการประเมินความสามารถของอนุพันธ์ออโรนในการยับยั้งเอนไซม์ xanthine oxidase ภายในหลอดทดลอง และได้ผลที่ยอมรับได้ สารประกอบอนุพันธ์ของออโรนที่มีกลุ่มของกรดคาร์บอกซิลิกในตำแหน่งที่ 4 ของวง B มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ xanthine

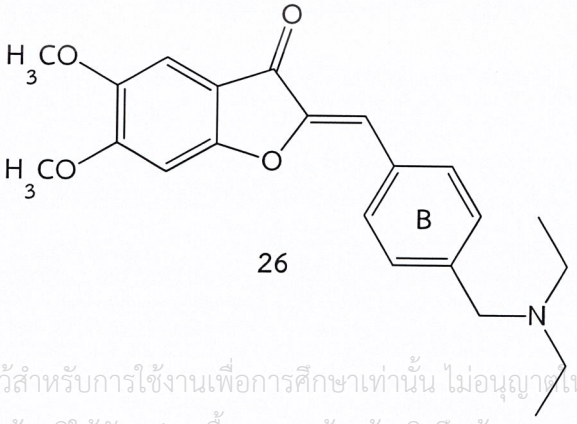
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oxidase เป็นอย่างมาก ซึ่งสารประกอบออโรนที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ xanthine oxidase ได้จะมีค่าความเข้มข้นที่ 50% (IC_{50}= 50%) ในหน่วยไมโครโมลาร์ อนุพันธ์ของออโรนที่สามารถออกฤทธิ์ได้มากที่สุดจะแสดงค่า IC50 ที่ 68 และ 46 nM ซึ่งคือสารประกอบ 4-[*(Z)*-(6-Hydroxy-3-oxo-1-benzofuran-2(3H)-ylidene) methyl]benzoic acid **(24)** และ 4-[*(Z)*-{6-[(2-methylprop-2-en-1-yl)oxy]-3-oxo-1-benzofuran-2(3H)-ylidene}methyl]benzoic acid **(25)** ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับยามาตรฐานอ้างอิง คือ febuxostat (IC50 = 10 nM)



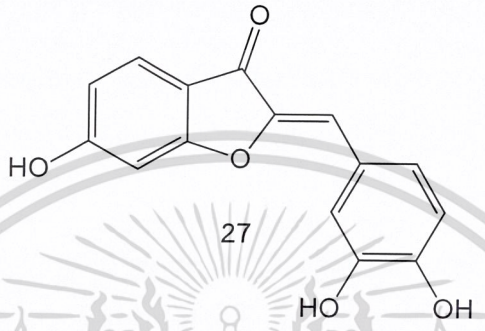
2.3.2.8. กิจกรรมการต้านโรคอัลไซเมอร์ของออโรน [7,15]

โรคอัลไซเมอร์เป็นความผิดปกติเกี่ยวกับระบบประสาท และเป็นหนึ่งในสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการเสื่อมสภาพจิตในผู้สูงอายุ การยับยั้ง Acetylcholine esterase (AchE) ยังคงเป็นปัจจัยหลักที่ถูกพัฒนามากที่สุดในกลุ่มยาสำหรับการรักษาอาการอัลไซเมอร์ อนุพันธ์ออโรนหลายตัวได้ถูกสังเคราะห์ และศึกษาฤทธิ์การยับยั้ง AchE สารประกอบออโรนที่ถูกทดสอบส่วนใหญ่ มีผลการยับยั้ง AchE สูงและยังมีความจำเพาะเจาะจงกับ AchE นอกจากนี้ยังพบว่าที่ตำแหน่งพันธะคู่แบบเอ็กโซไซคลิก (exocyclic double bond) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ และสารประกอบออโรน **26** ที่มีหมู่แทนที่ 4-diethylaminomethyl ในวง B มีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อแทนที่ในตำแหน่งที่ 3



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

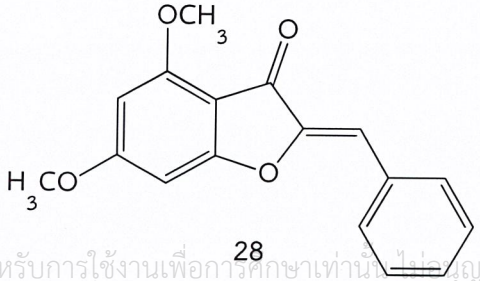
CDK5 อยู่ในตระกูลของ serine/threonine cyclin-dependent kinase (CDK) ซึ่งเชื่อกันว่าการลดลงของ CDK5 มีส่วนทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับระบบประสาท กิจกรรมของ *(Z)*-2-(3,4-dihydroxy benzylidene)-6-hydroxybenzofuran-3(2H)-one **(27)** ถูกศึกษาโดย Shrestha และคณะ พบว่าสารประกอบนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง CDK5 ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้



27

2.3.2.9. การยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของออโรน [8]

เตรียมสารทดสอบด้วยการละลายออโรนใน DMF 100 µL เติม Tween-20 ประมาณ 2-3 หยด เติมน้ำแล้วนำไปปั่นกวน จากนั้นนำเมล็ดผักกวางตุ้งแช่ในน้ำกลั่น 4 ชั่วโมง ก่อนจะนำวางบนกระดาษกรองที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ เติมสารยับยั้ง 2 mL ลงไปในจานเพาะเชื้อ ซึ่งในแต่ละจานจะมีจำนวนเมล็ดผักกวางตุ้ง 15 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปวางทิ้งไว้ในห้องมืดที่มีอุณหภูมิ 28±1°C เป็นเวลา 65 ชั่วโมง วัดความยาวรากของเมล็ดพืชแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ต่อมานำเมล็ดพืชจำนวน 10 เมล็ดใส่ลงในถ้วยขนาด 50 mL โดยมีกระดาษกรองวางไว้ที่ก้นถ้วย แล้วเติมสารยับยั้งที่เตรียมไว้ลงในถ้วยปริมาณ 5 mL จากนั้นนำถ้วยวางทิ้งไว้ในห้องที่มีแสงสว่างที่อุณหภูมิ 28±1°C เป็นเวลา 65 ชั่วโมง วัดความสูงของต้นพืชที่งอกแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยจะทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำในวัชพืชทั้งสองชนิด ผลการทดลองที่ได้คือสารยับยั้งสามารถยับยั้งผักกวางตุ้งได้ดีกว่าหญ้าข้าวนก สารที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดคือ *(Z)*-2-phenylmethylene-4,6-dimethoxy-3(2H)-benzofuranone **(28)**



28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1. วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1. พืชทดสอบ

1. เมล็ดหญ้าข้าวนก *(Echinochloa crus-galli (L.) Beauv)*
2. เมล็ดผักโขมจีน *(Amaranthus tricolor L.)*

3.1.2. สารเคมีทั่วไป

1. 10% กรดไฮโดรคลอริก (10% Hydrochloric acid) บริษัท Italmar
2. 2-ไทโอฟีนคาร์บอกซาลดีไฮด์ (2-Thiophenecarboxaldehyde) บริษัท Acros Organic
3. อะซิโตน (Acetone) เกรดการค้า บริษัท Italmar
4. เบนซาลดีไฮด์ (Benzaldehyde) บริษัท Acros Organics
5. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) บริษัท Italmar
6. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagents
7. น้ำกลั่น (Distilled water) เกรดการค้า
8. เอทานอล (Ethanol) เกรดการค้า บริษัท Italmar
9. เอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate) เกรดการค้า บริษัท Italmar
10. เฮกเซน (Hexane) เกรดการค้า บริษัท Italmar
11. เมทานอล (Methanol) เกรดการค้า บริษัท Italmar
12. เอน-เมทิล-2-ไพโรลคาร์บอกซาลดีไฮด์ (N-Methyl-2-pyrrole carboxaldehyde) บริษัท Acros Organics
13. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide) เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagents
14. ซิลิกาเจล (Silica gel)
15. โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate) บริษัท Italmar
16. โซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate) บริษัท Italmar
17. แซนทอกซิลีน (Xanthoxyline)
18. เมอร์คิวรี อะซิเตต (Mercury(II) Acetate) บริษัท Carlo Erba Reagents
19. ไพริดีน (Pyridine) บริษัท Carlo Erba Reagents
20. 0.1% ทวีน (0.1% Tween® 80)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร

1. กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 บริษัท GE Healthcare
2. กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
3. กรวยแยก (Separatory funnel)
4. กระบอกตวง (Cylinder) ยี่ห้อ Witeg บริษัท Witeg Labortechnik GmbH
5. ขวดก้นกลม (Round bottom flask) บริษัท Schott Duran
6. ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
7. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
8. ขวดลดความดัน (Suction flask) ยี่ห้อ Pyrex® บริษัท Corning Inc.
9. คอนเดนเซอร์ (Condenser)
10. คอลัมน์แก้ว (Glass column)
11. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)
12. เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer) รุ่น ES53B ยี่ห้อ LabTech บริษัท Labtech S.r.l
13. เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น ME204 บริษัท Mettler Toledo
14. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในช่วงอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared spectrophotometer; FT-IR)
15. เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) บริษัท Millipore
16. เครื่องหาโครงสร้างของสารอินทรีย์ (Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance spectrometer,F NMR)
17. ช้อนตักสาร (Spatula)
18. ฐานตั้ง (Stand)
19. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)
20. เตาให้ความร้อน (Hot plate) บริษัท Thermo Fisher Scientific
21. ที่จับ (Clamp)
22. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic Bar)
23. บีกเกอร์ (Beaker) ยี่ห้อ Pyrex® บริษัท Corning Inc.
24. แผ่น TLC (Thin-layer Chromatography) บริษัท Merck KGaA
25. ไมโครปิเปต (Micropipette)
26. หลอดแคพิลลารี (Capillary tube)
27. หลอดทดลอง (Test tube)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28. หลอดหยด (Dropper)
29. ห่วงวงแหวนเหล็ก (Iron ring)

3.1.4. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

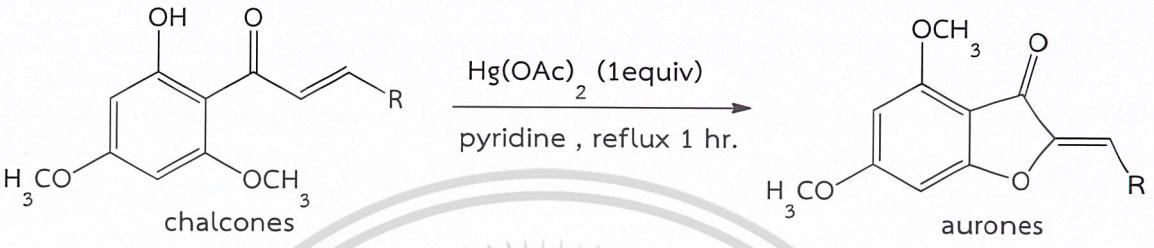
1. ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
2. เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง
3. ช้อนตักสาร (Spatula)
4. ฐานตั้ง (Stand)
5. เตาให้ความร้อน (Hot plate)
6. ที่คีบ (Forceps)
7. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
8. บิวเรต (burette)
9. บีกเกอร์ (Beaker)
10. ฟอยล์ (Foil)
11. ไมโครปิเปต (Micropipette)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2. วิธีการดำเนินงานทดลอง

ชาลโคนที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในงานวิจัยนี้เตรียมโดย ผศ.ดร.ณวสิทธิ์จากปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ระหว่าง xanthoxyline และ aromatic aldehydes ในสภาวะเบส

3.2.1. การสังเคราะห์ Aurones จาก chalcones



รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์ aurones จาก chalcones

ทำการชั่ง Mercury (II) acetate 0.3 mmol ใส่ขวดก้นกลมขนาดเล็กแล้วละลาย mercury (II) acetate ด้วย pyridine 2 mL ทำการชั่งชาลโคนปริมาณ 0.3 mmol ใส่ขวดก้นกลมขนาด 50 mL จากนั้นเติมสารชาลโคนที่ชั่งมาลงในขวดก้นกลมที่มีสารละลาย mercury (II) acetate ผสม pyridine อยู่แล้ว ทำการรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อรีฟลักซ์สมบูรณ์แล้ว (ตรวจสอบด้วย TLC) หยุดปฏิกิริยาโดยการใส่เกล็ดน้ำแข็งประมาณ 20 g เติมสารละลาย 10% hydrochloric acid เติม ethyl acetate เทของผสมลงกรวยแยกขนาด 50 mL เขย่าเพื่อทำการสกัด ตั้งทิ้งไว้ให้ของผสมแยกชั้น ไขชั้นของกรดทิ้ง จากนั้นล้างชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำกลั่น (3 x 10 mL) ล้าง ethyl acetate ด้วยน้ำเกลืออิ่มตัว 10 mL เก็บชั้น ethyl acetate ไว้ กรองสารละลายชั้น ethyl acetate ที่ได้โดยการกรองด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก ระเหย ethyl acetate ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน จากนั้นแยกออโรนให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ 40% ethyl acetate ใน hexane เป็นเฟสเคลื่อนที่ ชั่งน้ำหนักและหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% yield) ยืนยันโครงสร้างออโรนที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR

3.2.2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช

3.2.2.1. การเตรียมสารละลายออโรนที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 µM

ชั่งสารประกอบออโรน 16 µmol และปิเปต Tween® 80 ปริมาตร 0.02 mL (หรือชั่ง 21.5 mg, ความหนาแน่นของ Tween® 80 = 1.076 g/cm^{-3}) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 mL ผสมสารทั้ง 2 ตัวให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 mL ทำการปั่นกวนให้สารละลายในน้ำกลั่นประมาณ 3-5 นาที สารละลายที่ได้ คือ สารละลายออโรน ที่ความเข้มข้น 800 µM จากนั้นแบ่งครึ่ง

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารละลายออโรน 800 µM ที่ได้ เจือจางด้วยสารละลาย 0.1% Tween® 80 ให้ได้สารละลายออโรนที่ความเข้มข้น 400 µM

3.2.2.2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสารละลายออโรนต่อพืชทดสอบ

ปิเปตสารละลายออโรนที่เตรียมได้จาก 3.2.2.1 ปริมาตร 0.5 ml เติมลงใน vial ขนาดเล็ก (4.5 cm × 2 cm) ที่มี Germination paper อยู่ จากนั้นวางเมล็ดพืชทดสอบจำนวน 10 เมล็ด ลงบน Germination paper ในvial แล้วปิด vial ด้วย Parafilm® เก็บ vial ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้น ทำการเก็บผลการทดลอง โดยนับจำนวนเมล็ดที่งอก วัดความยาวต้นและรากของผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก นำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) การงอกและการเจริญเติบโตของพืช โดยในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

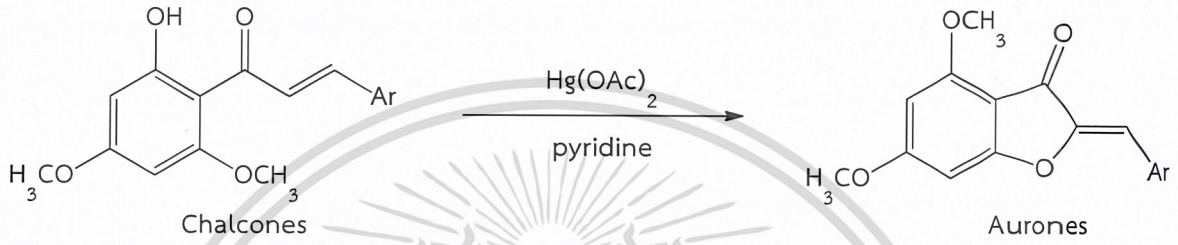
$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left(\frac{\text{Aurone}}{\text{control}}\right) \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

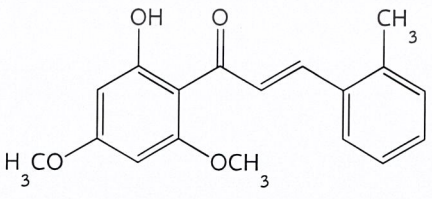
4.1. ผลการสังเคราะห์ออโรนจากชาลโคน



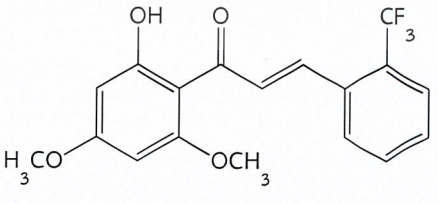
รูปที่ 4.1 การสังเคราะห์สารประกอบออโรนจากชาลโคนด้วยปฏิกิริยาการปิดวง

ออโรนสามารถสังเคราะห์ได้โดยการประยุกต์ใช้วิธีของ Detsi [20] ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการปิดวงของชาลโคน ทำได้โดยการเติมชาลโคนลงในสารละลาย เมอร์คิวรี อะซิเตต (mercuric acetate) ในไพริดีน (pyridine) นำไปปั่นกวนเพื่อให้สารละลายเข้ากันที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งสารให้เย็นตัวลง หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 10% กรดไฮโดรคลอริก (10% HCl) จะได้ตะกอนที่เป็นของแข็ง แล้วนำไปสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) เมื่อทำการสกัดแล้วให้ทำการกำจัดน้ำออกจากสารผลิตภัณฑ์โดยการเติมแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) ทิ้งสารละลายไว้ให้แห้ง จะได้ของแข็งสีเหลืองอ่อน นำไปทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยการตกผลึกใหม่หรือใช้เทคนิค column chromatography

โดยชาลโคน **29-34** มีโครงสร้างดังนี้

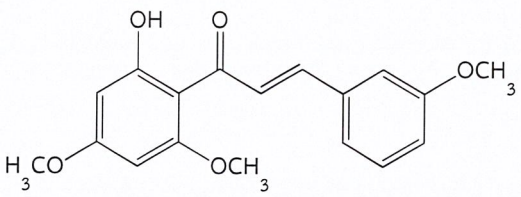


29

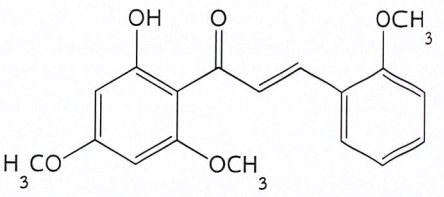


30

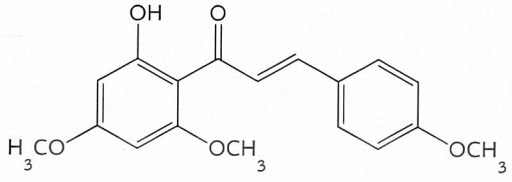
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



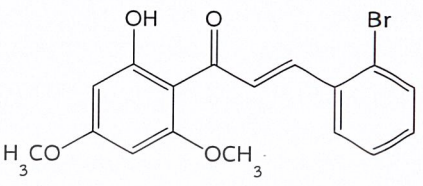
31



32

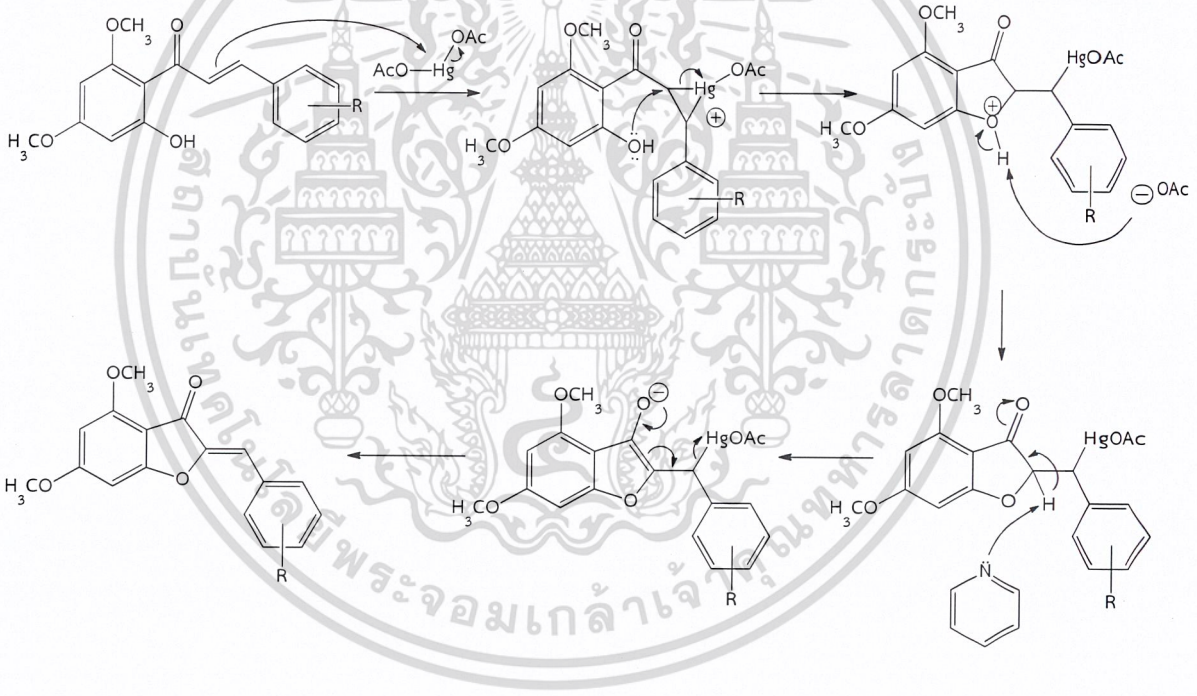


33



34

กลไกการเกิดปฏิกิริยาการปิดวงของชาลโคนเป็นออโรน เป็นดังนี้



35 R = 2-CH_3

36 R = 2-CF_3

37 R = 3-OCH_3

38 R = 2-OCH_3

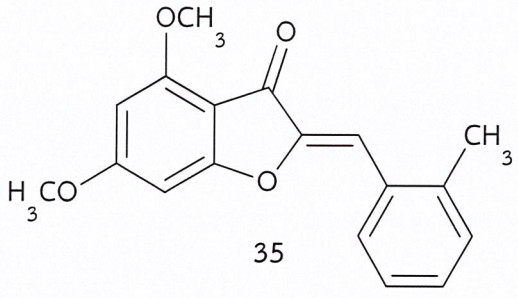
39 R = 4-OCH_3

40 R = 2-Br

รูปที่ 4.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการปิดวงจากสารประกอบชาลโคนเป็นออโรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

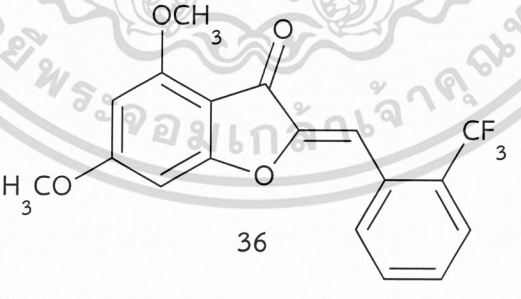
(Z)-4,6-Dimethoxy-2-(2-methylbenzylidene)benzofuran-3(2H)-one (35)



35

สาร **35** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **29** (89.49 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ จะได้สารประกอบออโรน **35** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 55.6 R_f = 0.38 (40% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 3007 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2970 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2943 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1737 (C=O), 1589 (C=C ของพันธะคู่), 1213 (C-O ของอีเทอร์) ; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.17 – 8.13 (1H, m, Ar**H**), 7.32 – 7.20 (3H, m, Ar**H**), 6.98 (1H, s, C=C**H**), 6.36 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 6.12 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 3.95 (3H, s, OCH_3), 3.90 (3H, s, OCH_3), 2.49 (3H, s, CH_3); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 180.56 (C=O), 169.08 (C), 168.9 (C), 159.41 (C), 147.96 (C), 138.71 (C), 131.04 (C), 130.70 (CH), 130.52 (CH), 129.18 (CH), 126.15 (CH), 107.63 (CH), 105.23 (C), 93.99 (CH), 89.19 (CH), 56.15 (OCH_3), 56.05 (OCH_3), 20.21 (CH_3).

(Z)-4,6-Dimethoxy-2-(2-(trifluoromethyl)benzylidene)benzofuran-3(2H)-one (36)



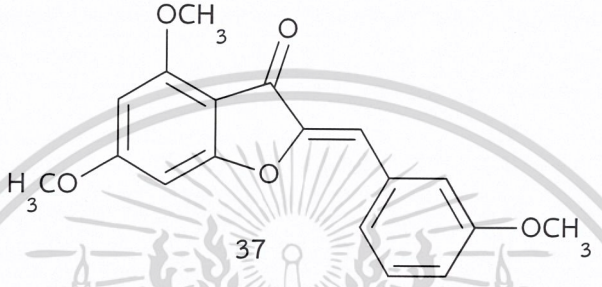
36

สาร **36** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **30** (105.69 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ จะได้สารประกอบออโรน **36** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 59.1 R_f = 0.35 (40% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 3007 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2970 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2943 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1697 (C=O), 1583 (C=C ของพันธะคู่), 1217 (C-O ของอีเทอร์), 1082 (C-F stretching) ; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.28 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, Ar**H**), 7.72 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar**H**), 7.62 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, Ar**H**), 7.44 (1H, t, *J*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

= 7.7 Hz, ArH), 7.06-7.02 (1H, m, C=CH), 6.34 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, ArH), 6.13 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, ArH), 3.95 (3H, s, OCH_3), 3.90 (3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 179.98 (C=O), 169.20 (C), 169.16 (C), 159.63 (C), 148.89 (C), 132.14 (CH), 131.71 (CH), 130.68 (C), 129.04 (q, *J* = 30.3 Hz, C), 128.47 (CH), 126.12 (d, *J* = 5.5 Hz, CH), 123.95 (q, *J* = 273.95 Hz, C), 104.88 (CH), 94.19 (CH), 89.37 (CH), 56.24 (OCH_3), 56.12 (OCH_3).

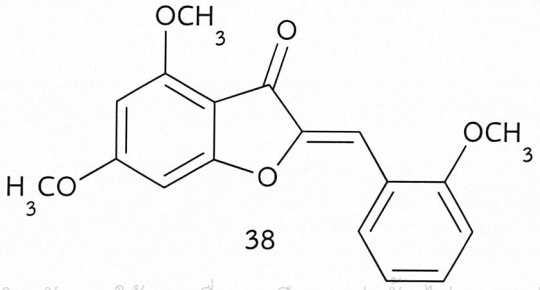
(Z)-4,6-Dimethoxy-2-(3-methoxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one (37)



37

สาร **37** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **31** (94.29 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ จะได้สารประกอบออโรน **37** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 80.05 R_f = 0.36 (40% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 3003 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2941 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2837 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1691 (C=O), 1585 (C=C ของพันธะคู่), 1215 (C-O ของอีเธอร์) ; ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.45 – 7.40 (2H, m, ArH), 7.37 – 7.31 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, ArH), 6.95 – 6.90 (1H, m, ArH), 6.73 (1H, s, C=CH), 6.37 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, ArH), 6.12 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, ArH), 3.95 (3H, s, OCH_3), 3.91 (3H, s, OCH_3), 3.87 (3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 180.60 (C=O), 169.04 (C), 159.66 (C), 159.39 (C), 147.93 (C), 133.76 (C), 129.66 (CH), 123.81 (CH), 116.16 (CH), 115.05 (CH), 110.59 (CH), 105.14 (C), 94.05 (CH), 89.23 (CH), 56.17 (OCH_3), 56.09 (OCH_3), 55.28 (OCH_3).

(Z)-4,6-Dimethoxy-2-(2-methoxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one (38)

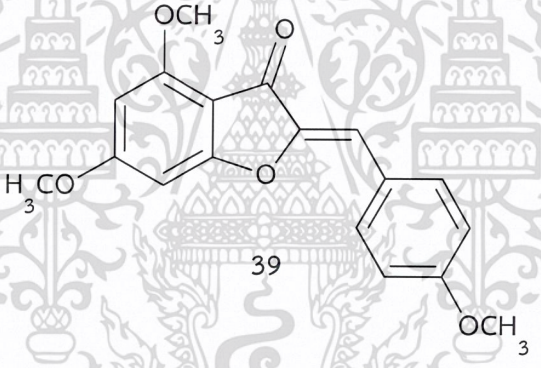


38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร **38** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **32** (94.29 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ จะได้สารประกอบออโรน **38** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 74.4 R_f = 0.31 (40% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 2970 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2941 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2837 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1691 (C=O), 1585 (C=C ของพันธะคู่), 1155 (C-O ของอีเธอร์) ; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) **δ** 8.28 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, Ar**H**), 7.06 – 7.00 (3H, m, Ar**H**), 6.94 - 6.89 (1H, d, C=C**H**), 6.37 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 6.12 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 3.95 (3H, s, O**CH**$_3$), 3.90 (3H, s, O**CH**$_3$), 3.89 (3H, s, O**CH**$_3$); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) **δ** 180.63 (C=O), 168.88 (C), 168.70 (C), 159.34 (C), 158.50 (C), 147.89 (C), 131.56 (CH), 130.79 (CH), 121.54 (C), 120.63 (CH), 110.67 (CH), 105.40 (C), 104.91 (CH), 93.91 (CH), 89.15 (CH), 56.16 (CH_3), 56.04 (CH_3), 55.50 (CH_3).

***(Z)*-4,6-dimethoxy-2-(4-methoxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one (39)**

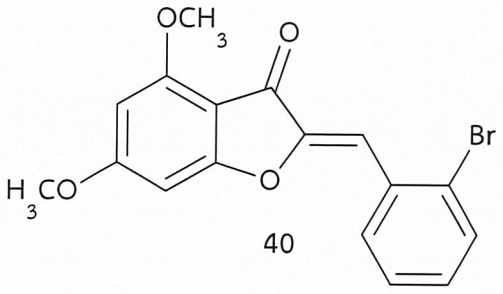


39

สาร **39** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **33** (94.29 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ จะได้สารประกอบออโรน **39** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 84.4 R_f = 0.33 (40% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 3005 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2939 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2839 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1691 (C=O), 1587 (C=C ของพันธะคู่), 1244 (C-O ของอีเธอร์) ; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) **δ** 7.85 – 7.81 (1H, m, Ar**H**), 6.97 – 6.94 (3H, m, Ar**H**), 6.76 (1H, s, C=C**H**), 6.38 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.13 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 3.96 (3H, s, O**CH**$_3$), 3.91 (3H, s, O**CH**$_3$), 3.86 (3H, s, O**CH**$_3$); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) **δ** 180.62 (C=O), 168.80 (C), 168.69 (C), 160.55 (C), 159.32 (C), 146.77 (C), 132.86 (CH), 125.31 (C), 114.33 (CH), 110.98 (CH), 105.46 (C), 93.91 (CH), 89.14 (CH), 56.17 (CH_3), 56.05 (CH_3), 55.33 (CH_3).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*Z*)-2-(2-Bromobenzylidene)-4,6-dimethoxybenzofuran-3(2H)-one (40)



40

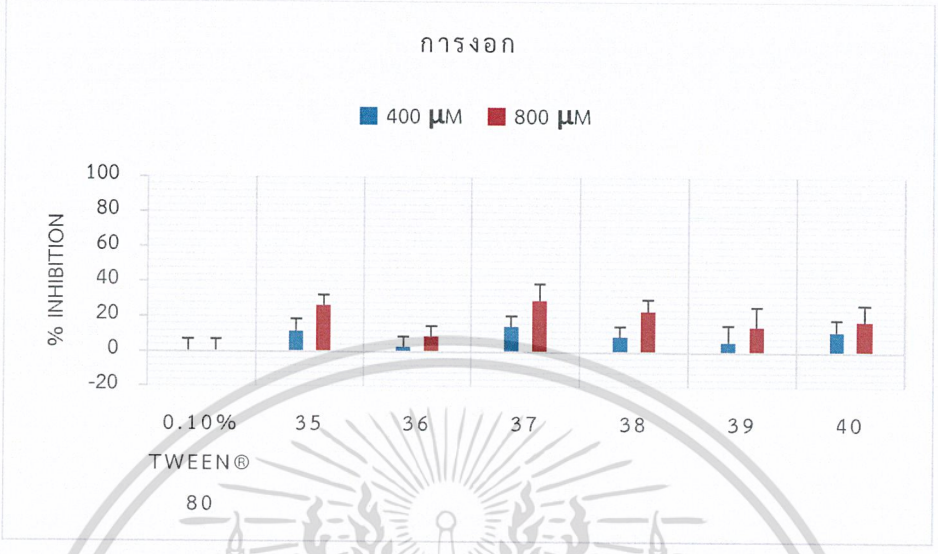
สาร **40** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก ชาลโคน **34** (108.96 mg, 0.30 mmol) จากนั้นทำสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้สารประกอบออโรน **40** ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 31.4 R_f = 0.44 (40% ethylacetate /hexane); IR (ATR) cm^{-1} ; 3728 (overtone ของ C=O), 3007 (C-H stretch ของพันธะคู่), 2970 (C-H stretch ของอะโรมาติก), 2843 (C-H stretch ของหมู่เมทิล), 1691 (C=O), 1581 (C=C ของพันธะคู่), 1207 (C-O ของอีเธอร์), 500-600 (C-Br) ; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.22 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, Ar**H**), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, Ar**H**), 7.38 (1H, td, *J* = 7.7, 0.8 Hz, Ar**H**), 7.18 (1H, td, *J* = 7.8, 1.6 Hz, Ar**H**), 7.15 (1H, s, C=C**H**), 6.35 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 6.12 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Ar**H**), 3.95 (3H, s, O**C**H_3), 3.90 (3H, s, O**C**H_3); ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 180.18 (C=O), 169.07 (C), 169.02 (C), 159.52 (C), 148.65 (C), 133.25 (CH), 132.36 (C), 131.94 (CH), 130.14 (CH), 127.45 (CH), 126.04 (C), 108.46 (CH), 105.02 (C), 94.15 (CH), 89.31 (CH), 56.21 (CH_3), 56.11 (CH_3).

4.2. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ aurones และอนุพันธ์

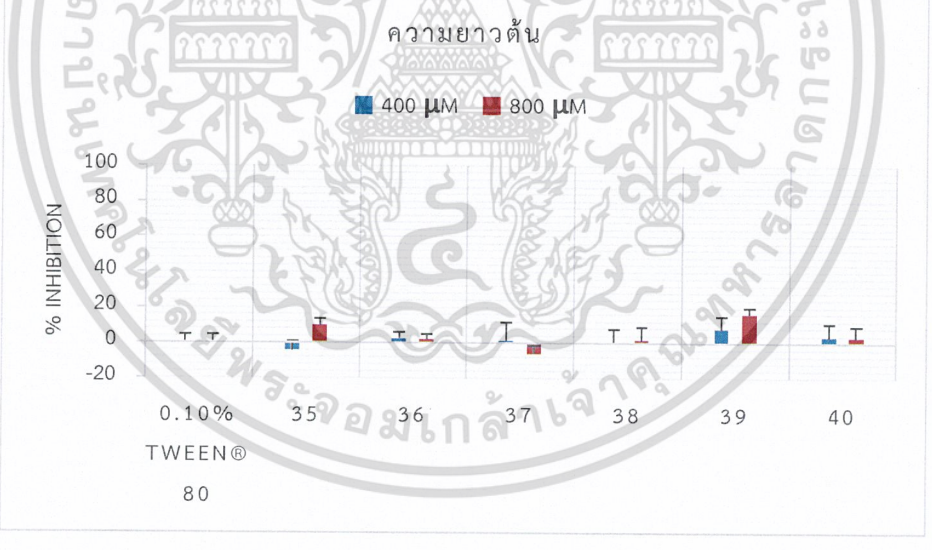
ผลการวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสารประกอบออโรนและอนุพันธ์ **35-40** โดยทำการศึกษาสารประกอบออโรนและอนุพันธ์กับพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ ผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor*) เป็นพืชทดสอบใบเลี้ยงคู่ และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) เป็นพืชทดสอบใบเลี้ยงเดี่ยว ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM ตามลำดับ โดยมีสารละลาย 0.10% Tween® 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) และเป็นตัวแปรควบคุมในการทดสอบ ผลการทดลองพบว่าสารประกอบออโรนและอนุพันธ์ **35-40** ที่ความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM มีฤทธิ์ในการยับยั้งเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบเลย แต่พบว่าที่ความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM สารประกอบออโรน **35 36 37** และ **40** มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของรากในพืชใบเลี้ยงคู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ Aurones และอนุพันธ์ต่อผักโขมจีน

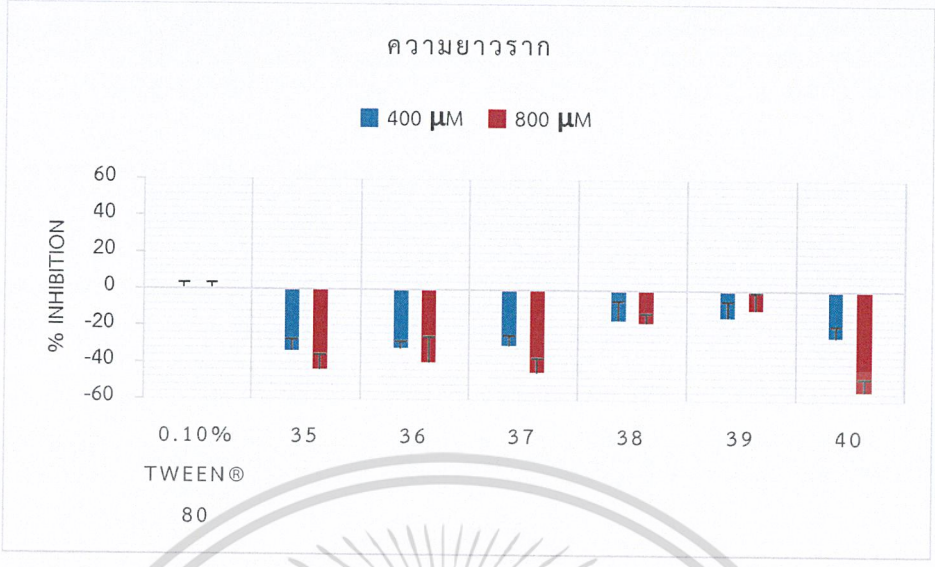


รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีน



รูปที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นของผักโขมจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



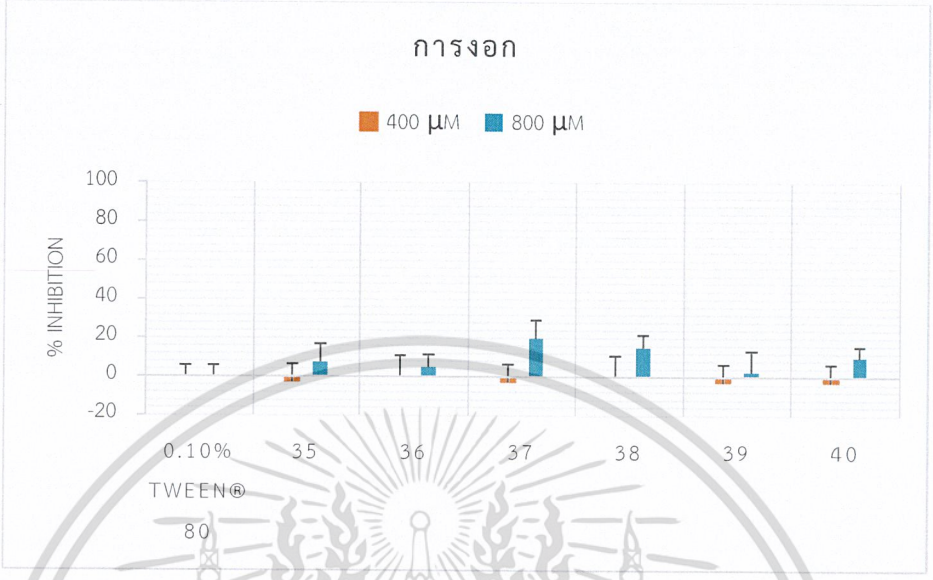
รูปที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรากของผักโขมจีน

ผลการยับยั้งของสารละลายออโรนที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM ต่อผักโขมจีน (พืชทดสอบใบเลี้ยงคู่) พบว่าสารประกอบออโรนและอนุพันธ์ส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของผักโขมจีน มีเพียงสารประกอบออโรน **35 37** และ **38** ความเข้มข้น 800 µM ยับยั้งการงอกของผักโขมจีนที่ 26% 29% และ 24% ตามลำดับ (รูปที่ 4.1-4.3) ในส่วนของความยาวต้นพบว่าสารประกอบออโรนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งความยาวต้น มีเพียง สารประกอบออโรน **39** ความเข้มข้น 800 µM เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเพียงเล็กน้อย ในส่วนของความยาวรากนั้นพบว่า สารประกอบออโรน **35 36 37** และ **40** มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของรากในพืชใบเลี้ยงคู่ที่ความเข้มข้น 400 µM เป็น 34% 32% 30% และ 25% ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 800 µM เป็น 44% 40% 45% และ 55% ตามลำดับ

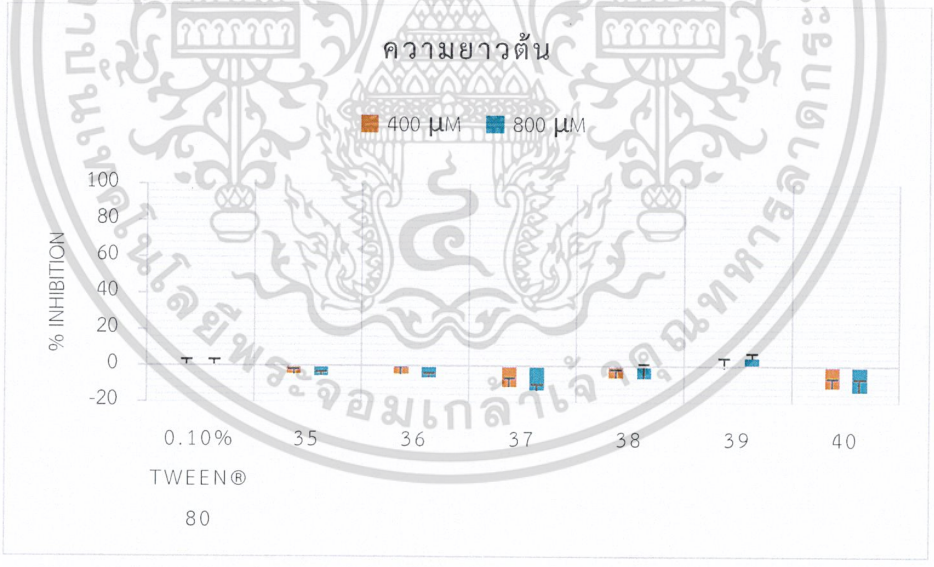
รูปที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตในผักโขมจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านวัชพืชของ Aurones และอนุพันธ์ต่อหญ้าข้าวนก

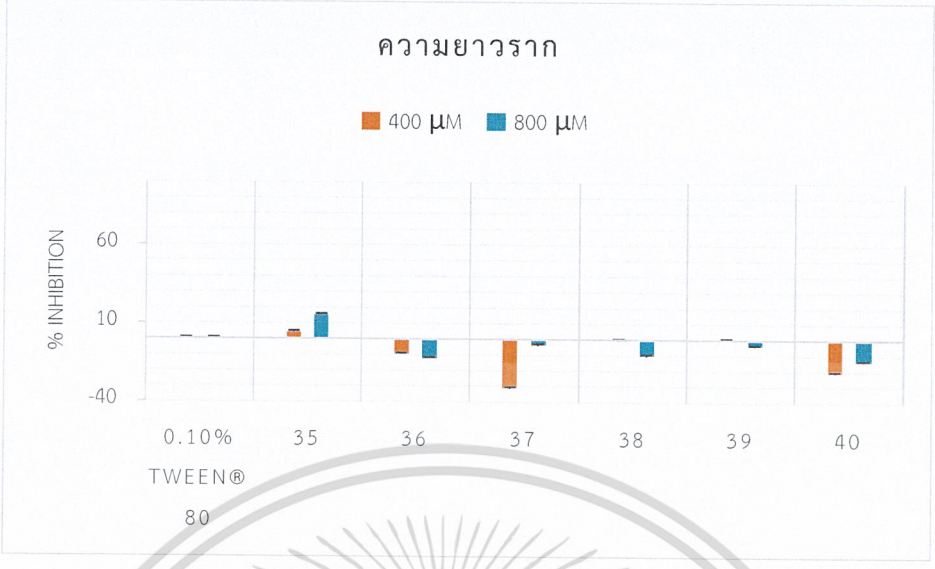


รูปที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกในหญ้าข้าวนก



รูปที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของลำต้นในหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของรากในหญ้าข้าวนก

ผลการยับยั้งของสารละลายออโรนที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM ต่อหญ้าข้าวนก (พืชทดสอบใบเลี้ยงเดียว) พบว่าสารประกอบออโรนและอนุพันธ์ส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก มีเพียงสารประกอบออโรน **37** และ **38** ความเข้มข้น 800 µM ยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกได้เล็กน้อยที่ 20% และ 15% ตามลำดับ (รูปที่ 4.4-4.6) ในส่วนของความยาวต้นพบว่า สารประกอบออโรนที่ความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งความยาวต้นของหญ้าข้าวนก ในส่วนของความยาวรากนั้นพบว่า สารประกอบออโรน **37** และ **40** มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของรากในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ความเข้มข้น 400 µM เป็น 31% และ 21% ตามลำดับ

รูปที่ 4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตในหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1. สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์สารประกอบออโรน **35-40** จากปฏิกิริยาการปิดวงของชาลโคน **29-34** โดยใช้ Mercury (II) acetate เป็นโลหะตัวกลางช่วยในการปิดวง โดยพบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตต่ำ-ปานกลาง จากนั้นนำสารประกอบออโรนที่สังเคราะห์ได้มาทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2 ชนิด คือ ผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก พบว่าสารประกอบออโรนและอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบเลย แต่พบว่าที่ความเข้มข้น 400 μM และ 800 μM สารประกอบออโรน **35 36 37** และ **40** มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของรากในพืชใบเลี้ยงคู่ได้บ้าง ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นที่ใช้ให้การทดสอบกับพืชทดสอบไม่เพียงพอที่จะสามารถแสดงฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้

5.2. อภิปรายผลการวิจัย

จากวัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ สังเคราะห์สารประกอบออโรนจากปฏิกิริยาการปิดวงของชาลโคนที่มีโครงสร้างแตกต่างกันแล้วทำการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งของออโรนที่สังเคราะห์ได้ และจากสมมุติฐานของงานวิจัยที่ว่า สารประกอบออโรนเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ในการปราบวัชพืช ดังนั้นเราจึงสนใจนำออโรนมาทดสอบฤทธิ์ในการปราบวัชพืช

ผลการวิจัยพบว่า สารประกอบออโรนและอนุพันธ์ **35-40** ที่ความเข้มข้น 400 μM และ 800 μM มีฤทธิ์ในการยับยั้งเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบเลย แต่พบว่าที่ความเข้มข้น 400 μM และ 800 μM สารประกอบออโรน **35 36 37** และ **40** มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของรากในพืชใบเลี้ยงคู่ ซึ่งไม่สอดคล้องกับสมมุติฐานที่ตั้งไว้

ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งวัชพืชนั้น ได้ทำการทดลองกับพืชเพียง 2 ชนิด ที่ความเข้นข้น 2 ค่า นั่นคือ 400 μM และ 800 μM อาจไม่ครอบคลุมเพียงพอที่จะสรุปได้ว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นไม่มีฤทธิ์กับพืชชนิดอื่น ที่ความเข้มข้นนอกเหนือจากที่ทำการทดลองได้ ควรนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบในวัชพืชชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไป และการทดสอบกับพืชที่สภาวะต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง การเตรียมเมล็ดพืช และการเตรียมสารละลายออโรนโดยมีตัวแปรควบคุมแตกต่างกัน อาจมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตในส่วนต่างๆของพืชแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ M. Zhang (2012) ที่ได้ทำการทดลองโดย เตรียมสารทดสอบด้วยการละลายออโรนใน DMF และ Tween-20 ละลายในน้ำ เตรียมเมล็ดพืชโดยแช่ในน้ำกลั่น 4 ชั่วโมง ก่อนจะนำวางลงบนกระดาษกรองที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ จากนั้นควบคุมสภาวะการทดลองโดยทดลองในห้องมืดที่มีอุณหภูมิ 28±1°C และในห้องที่มีแสงสว่างที่อุณหภูมิ 28±1°C ซึ่งได้ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชที่ 60 – 80 เปอร์เซ็นต์โดยประมาณ

5.3. ข้อเสนอแนะ

1. ขั้นตอนการตกผลึกใหม่อาจทำให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตลดลง ควรหาวิธีการหรือสภาวะทดลองใหม่ที่ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงขึ้น

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งวัชพืชนั้น ได้ทำการทดลองกับพืชเพียง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 ค่า นั่นคือ 400 µM และ 800 µM อาจไม่ครอบคลุมเพียงพอที่จะสรุปได้ว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นไม่มีฤทธิ์กับพืชชนิดอื่น ที่ความเข้มข้นนอกเหนือจากที่ทำการทดลองได้ ควรนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบในวัชพืชชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] รองศาสตราจารย์ ดร. พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. **วัชพืชศาสตร์**. พิมพครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ลินคอร์น.

[2] สุชาดา สานุสันต์. 2562. **Allelopathy : อีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมวัชพืช**. [Online]. Available : https://dspace.bru.ac.th

[3] Molish,H. 1937. **Der einfuluss einer pflanze auf die andere, allelopathic** cited by E.L.Rice. Allelopathy. 2nd ed : Academic Press. Imc. , Orlando. 422p

[4] D. Soltys, U. Krasuska, R. Bogatek and A. Gniazdowska. 2013. **Allelochemicals as bioherbicides-present and perspectives**. [Online]. Available : https://www.intechopen.com/books/herbicides-current-research-and-case-studies-in-use/allelochemicals-as-bioherbicides-present-and-perspectives

[5] T. Nakayama, T. Sato, Y. Fukui, K. Yonekura-Sakakibara, H. Hayashi, Y. Tanaka, T. Kusumi and T. Nishino. 2001. "**Specificity analysis and mechanism of aurone synthesis catalyzed by aureusidin synthase, a polyphenol oxidase homolog responsible for flower coloration.**" FEBS : 107-111.

[6] H. Chen, X. Dong Qi and P. Qui. 2014. "**A novel synthesis of aurones: their in vitro anticancer activity against breast cancer cell lines and effect on cell cycle, apoptosis and mitochondrial membrane potential.**" BDPS : 501-510.

[7] G.S. Hassan, H.H. Georgey, R.F. George and E.R. Mohamed. 2018. "**Aurones and furoaurones: biological avtivities and synthesis.**" B-FOPCU : 121-127.

[8] M. Zhang, X. Hua Xu, Y. Cui, L. Guan Xie and C. Hua Kong. 2012. "**Synthesis and herbicidal potential of substituted aurones.**" Pest Manag Sci. 68. : 1512-1522.

[9] A. Meguellati, A.A. Boumendjel and M. Peuchmaur. 2014. "**B-ring modified aurones as promising allosteric inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase.**" Eur. J. Med. Chem. 80. : 579-592.

[10] M.P. Carrasco, A.S. Newton, L. Gonçalves, A. Góis, M. Machado, J. Gut, F. Nogueira, T. Hänscheid, R.C. Guedes, D.J.V.A. Santos, P.J. Rosenthal and R. Moreire. 2014.

เอกสารนี้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"Probing the aurone scaffold againt plasmodium falciparum: design, synthesis and antimalarial activity." Eur. J. Med. Chem. 80. : 523-534.

[11] O.V. Muzychka, O.L. Kobzar, A.V. Popova, M.S. Frasinyuk and A.I. Vovk. 2017. "Carboxylated aurone derivatives as potent inhibitors of xanthine oxidase." Bioorg. Med. Chem. 25. : 3606-3613.

[12] Y. Li, X.M. Qiang, L. Luo, Y.X. Li, G.Y. Xiao, Z.G. Tan and Y. Deng. 2016. "Synthesis and evaluation of 4-hydroxyl aurone derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease." Bioorg. Med. Chem. 24. : 2342-2351

[13] I. B Masesae. 2015. "A comprehensive review of the oxidative cyclisation of 2'-hydroxychalcones to aurones and flavones." IJCS : 53-59.

[14] A.R. Mahesh, S.Y. Mshelia and V.J. Samuel. 2016. "Therapeutic activities of aurone, an appositely active molecule." CPS : 668-682.

[15] S.V. Jagtap and A.A. Khan. 2016. "Synthesis and biological activities of aurones." Int. J. Pure App. Biosci. 4. : 137-155.

[16] R. Sheng, Y. Xu, C. Hu, J. Zhang, X. Lin, J. Li, B. Yang, Q. He and Y. Hu. 2009. "Design, synthesis and AChE inhibitory activity of indanone and aurone derivertives." Eur. J. Med. Chem. 44. : 7-17

[17] S. Shrestha, S. Natarajan, J.H. Park, D.Y. Lee, J.G. Cho, G.S. Kim, Y.J. Jeon, S.W. Yeon, D.C. Yang and N.I. Baek. 2013. "Potential neuroprotective flavonoids-based inhibitors of CDK5/p25 from rhus parviflora." Bioorg. Med. Chem. Lett. 23. : 5150-5154.

[18] M. Roussaki, S.C. Lima, A.M. Kypreou, P. Kefalas, A.C. Silva and A. Detsi. 2012. "Aurones: a promising heterocyclic scaffold for the development of potent antileishmanial agent." Int. J. Med. Chem. : 1-8

[19] M. Morimoto, H. Fukumoto, T. Nozoe, A. Hagiwara and K. Komai. 2007. "Synthesis and insect antifeedant activity of aurones against spodoptera litura larvae." J. Agric. Food Chem. 55. : 700-705.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

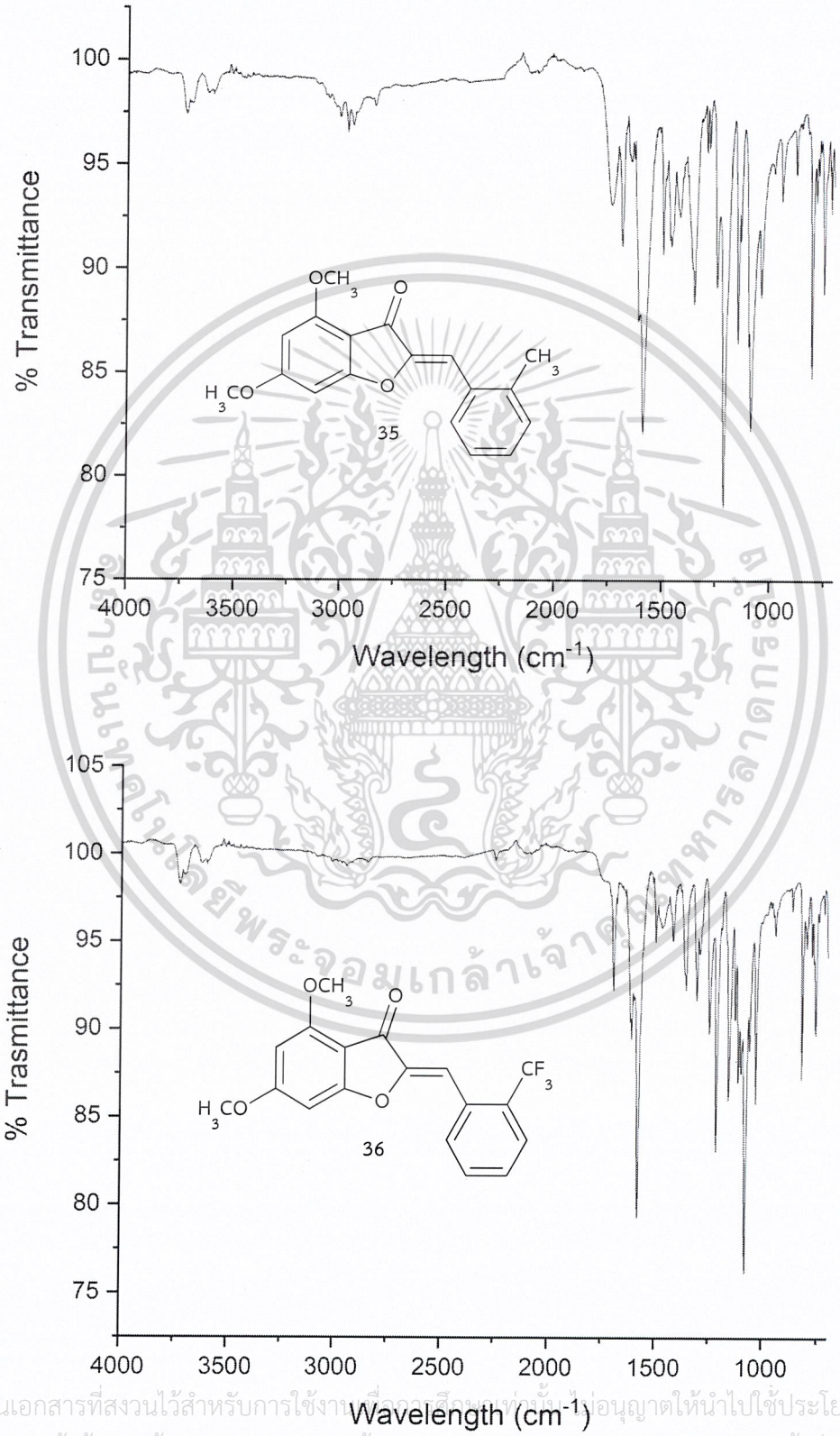
[20] A. Detsi, M. Majdalani, C.A. Kontogiorgis, D.H. Litina and P. Kefalas. 2019. **"Natural and synthetic 2'-hydroxy-chalcones and aurones: synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity."** Bioorg. Med. Chem. 17. : 8073-8085.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

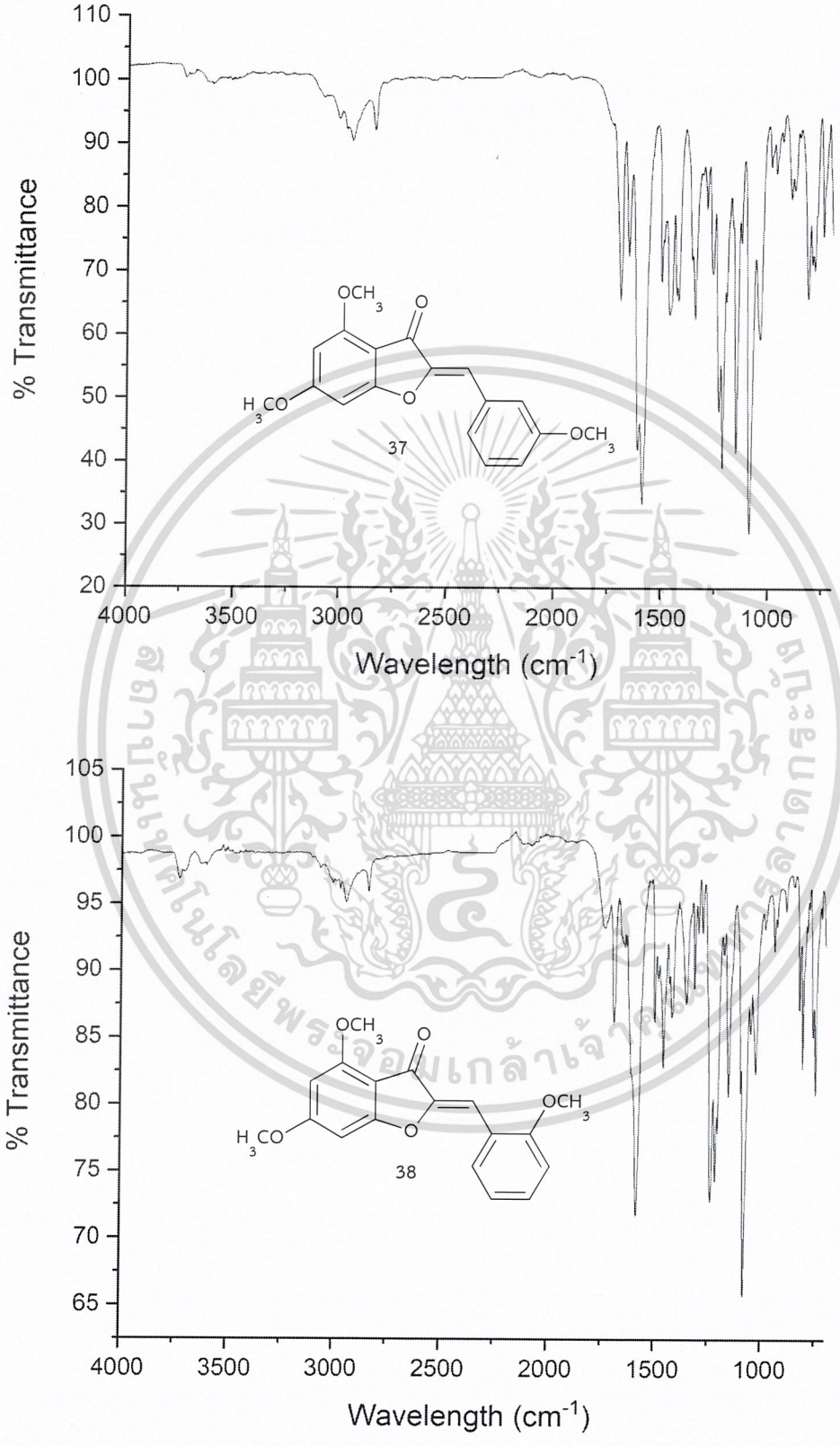
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

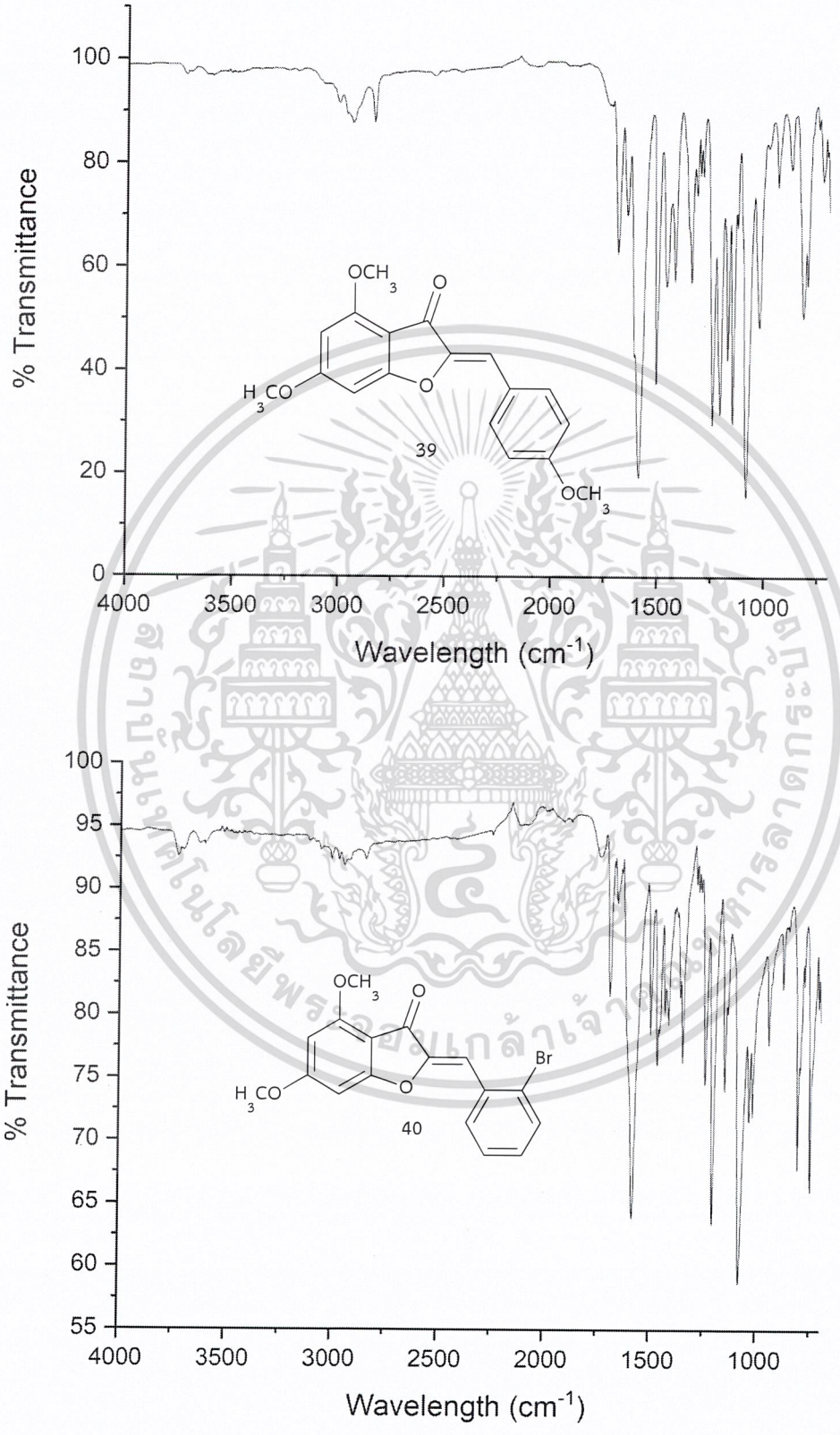
IR spectra ของออโรน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้