

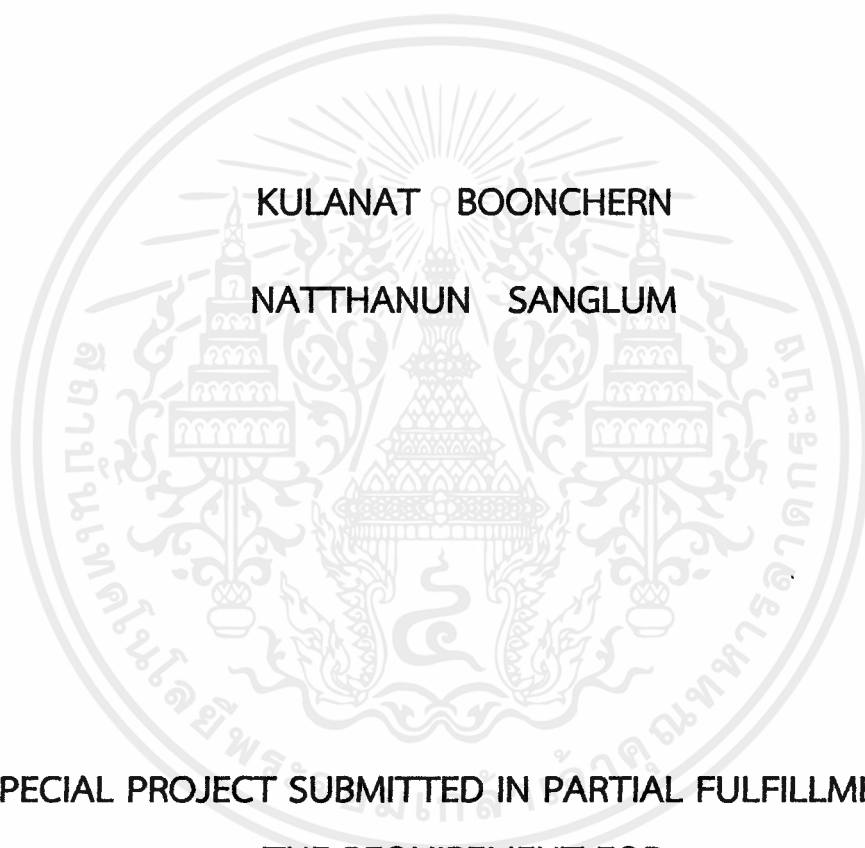
การสังเคราะห์และการประเมินฤทธิ์อัลลีโลพาที  
ของอนุพันธ์ไฮดราโซนแซนโทกซิลิน  
SYNTHESIS AND ALLELOPATHY EVALUATION OF  
XANTHOXYLINE HYDRAZONE DERIVATIVES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# SYNTHESIS AND ALLELOPATHY EVALUATION OF XANTHOXYLINE HYDRAZONE DERIVATIVES



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT 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 อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การสังเคราะห์และการประเมินฤทธิ์อัลลีโลพาตีของอนุพันธ์ไฮดรอกซีแซนโทกซิลิน

Synthesis and Allelopathy Evaluation of Xanthoxyline

Hydrazone Derivatives

ชื่อนักศึกษา นางสาวกุลณัฐ บุญเชิญ รหัสนักศึกษา 58050441  
นางสาวณัฐนันท์ แสงล้ำ รหัสนักศึกษา 58050469

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ประจำปี  
การศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน ประธานกรรมการ	การุณย์ สาดอ่อน
ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการ	ณวสิทธิ์ โชติแสง
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	พัชนี เจริญยิ่ง

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

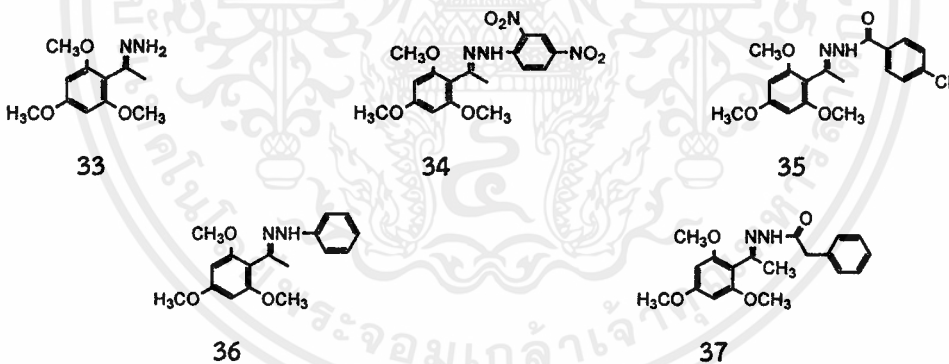
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การสังเคราะห์และการประเมินฤทธิ์อัลลีโลพาตีของอนุพันธ์ไฮดราโซน แซนทอกซิลิน
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกุลณัฐ บุญเชิญ นางสาวณัฐนันท์ แสงล้ำ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

### บทคัดย่อ

อนุพันธ์ไฮดราโซนแซนทอกซิลินชนิดใหม่ 33-37 ได้ถูกสังเคราะห์จากแซนทอกซิลิน 1 มีผลได้ระดับดีถึงปานกลาง อนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ถูกนำมาประเมินฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ได้แก่ ผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) ที่ระดับความเข้มข้น 400 200 100 50 และ 25 ppm



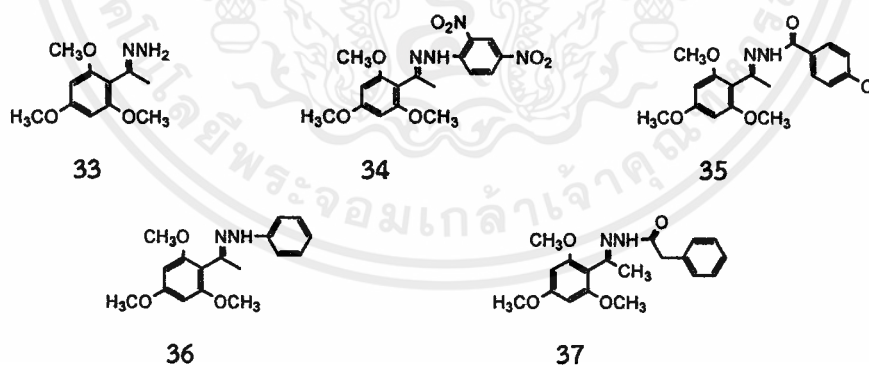
จากผลการทดลองพบว่า สาร 37 มีผลต่อพืชทดสอบทั้งสองชนิดมากที่สุดโดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 37 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ที่ 77.14 เปอร์เซ็นต์ และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวลำต้นและความยาวรากได้ที่ 80.40 และ 85.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนหญ้าข้าวนกพบว่า สาร 37 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกได้ที่ 45.71 เปอร์เซ็นต์ และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวลำต้นและความยาวรากได้ที่ 70.00 และ 81.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** อนุพันธ์ไฮดราโซน การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโต

<b>Title</b>	Synthesis and Allelopathy Evaluation of Xanthoxylone Hydrazone Derivatives	
<b>Students</b>	Miss Kulanat Boonchern	Student ID 58050441
	Miss Nutthanun Sanglum	Student ID 58050469
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)	
<b>Department</b>	Chemistry	
<b>Faculty</b>	Science	
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
<b>Academic Year</b>	2018	
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Patchanee Charoenying	

### Abstract

A new hydrazones of xanthoxylone **33-37** were synthesized from xanthoxylone **1** in good to moderate yields. The hydrazone derivatives **33-37** were evaluated on seed germination and seeding growth with the tested plants namely: Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) and Chinese amaranth (*Amaranthus tricolor* L.) at concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400 ppm.



The results found that at the highest concentration 400 ppm compound **37** inhibited seed germination of Chinese amaranth by 77.14 % and exhibited the inhibitory effects on shoot and root length by 80.4 and 85.7 %, respectively. As for Barnyardgrass, compound **37** inhibited seed germination of Barnyardgrass by 45.71 % and exhibited the inhibitory effects on shoot and root length by 70.00 and 81.80 %, respectively.

**Keywords:** hydrazone derivatives, seed germination and seeding growth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้คำแนะนำแนวทาง ความรู้ในการทำโครงการพิเศษนี้ ตลอดจนช่วยแก้ปัญหาเกี่ยวกับการส่งเคราะห์สารและการดำเนินงานโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง และ ผศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ให้ความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับการดำเนินการวิจัยและตรวจสอบข้อมูลต่างๆ ในโครงการพิเศษฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้ความสะดวกและข้อมูลการจัดทำโครงการพิเศษให้ถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อนๆ รวมถึงผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทั้งหมด ที่คอยช่วยเหลือ เป็นกำลังใจและให้ข้อมูลเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์ต่อโครงการพิเศษตลอดการจัดทำโครงการพิเศษ

ขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่ให้ความสนับสนุนในการศึกษาและเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

ขอขอบคุณตัวผู้จัดทำโครงการพิเศษทั้งสองคน ที่อดทน ร่วมแก้ไขปัญหา ดำเนินการและร่วมทำให้โครงการพิเศษนี้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

คุณงามความดีของโครงการพิเศษฉบับนี้ขอมอบให้ผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับผู้จัดทำโครงการทุกคน

ณัฐนันท์ แสงล้ำ

กุลณัฐ บุญเชิญ

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	ช
คำย่อ/สัญลักษณ์	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีดำเนินงาน	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	4
2.2 สารกำจัดวัชพืช	4
2.3 อัลลีโลพาตี	5
2.4 ชนิดของสารอัลลีโลเคมีคอล	5
2.5 พืชกำจัดต้น	11
2.6 พืชที่ใช้ในการทดสอบอัลลีโลพาตี	12
2.7 โครมาโทกราฟี	13
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	26
3.2 ขั้นตอนการวิจัย	28
3.2.1 การทดลองที่ 1 การแยกแชนทอกซิลิน 1 จากผลกำจัดต้น	28
3.2.2 การทดลองที่ 2 การเตรียมสารตั้งต้นเพื่อใช้ในการเตรียมอนุพันธ์ไฮดราโซน	28
3.2.3 การทดลองที่ 3 การเตรียมอนุพันธ์ไฮดราโซน	29
3.2.4 การทดลองที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ของอนุพันธ์ไฮดราโซนต่อการออก	
และการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	
4.1 ผลการแยกแชนทอกซิลิน 1 จากผลกำจัดต้นแห้ง	33
4.2 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซนของแชนทอกซิลิน 1	33
4.2.1 การสังเคราะห์ (1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene)hydrazine	34
4.2.2 การสังเคราะห์ 1-(2,4-dinitrophenyl)-2-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene) hydrazine	35
4.2.3 การสังเคราะห์ 4-chloro-N'-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene) benzohydrazide	36
4.2.4 การสังเคราะห์ 1-phenyl-2-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene) hydrazine	38
4.2.5 การสังเคราะห์ N'-(1-(2,4-dimethoxy-6-methylphenyl)ethylidene)-2-phenylaceto hydrazide	39
4.3 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของสาร และอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ด้วยวิธี Vial Test	40
4.3.1 ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน และหญ้าข้าวนก	41
4.3.2 ผลของสาร 33-37 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก	44
4.3.3 ผลของสาร 33-37 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน	48
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	
5.1 การแยกแชนทอกซิลิน 1 จากผลกำจัดต้นแห้ง	51
5.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37	51
5.3 การทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของสาร และอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ด้วยวิธี Vial Test	52
5.3.1 การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสาร 32 ต่อของผักโขมจีน และหญ้าข้าวนก	52
5.3.2 การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตสาร 33-37 ต่อผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก	52
5.4 ข้อเสนอแนะ	54

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	61
ภาคผนวก ก	62



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของแซนทอกซิลิน 1	2
รูปที่ 2.1 ลักษณะทางกายภาพของกำจัดตัน	12
รูปที่ 2.2 Chromatogram ที่แสดงถึง Resolution ที่ดีของ Column	15
รูปที่ 2.3 การ Development ของแผ่น TLC	16
รูปที่ 2.4 การคำนวณค่า $R_f$	18
รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ COSY และ HMBC ของโครงสร้าง 31	22
รูปที่ 4.1 ผลของการยับยั้งต่อการเจริญเติบโตของราก (ก) ลำต้น (ข) และการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีน (ค)	42
รูปที่ 4.2 ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนโดยวิธี Vial Test	42
รูปที่ 4.3 ผลของการยับยั้งสาร 32 ต่อการเจริญเติบโตของราก (ก) ลำต้น (ข) และการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก (ค)	44
รูปที่ 4.4 ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก โดยวิธี Vial Test	44
รูปที่ 4.5 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก	46
รูปที่ 4.6 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของรากหญ้าข้าวนก	46
รูปที่ 4.7 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนก	47
รูปที่ 4.8 ผลของสาร 33-37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ต่อเมล็ดหญ้าข้าวนก ทดสอบโดยวิธี Vial Test	47
รูปที่ 4.9 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการงอกของเมล็ดผักโขมจีน	49
รูปที่ 4.10 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของรากผักโขมจีน	49
รูปที่ 4.11 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีน	50
รูปที่ 4.12 ผลของสาร 33-37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ต่อเมล็ดผักโขมจีน ทดสอบโดยวิธี Vial Test	50

## คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
UV	Ultraviolet-violet
R <sub>f</sub>	Rate of Flow
LC	Liquid Chromatography
MS	Mass Spectroscopy
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
FT-NMR	Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
DAD	Diode-Array Detection
ESI	Electrospray ionization
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cells
ppm	Part per million
IC <sub>50</sub>	50% Inhibitory Concentration
TLC	Thin Layer Chromatography
$\delta$	Chemical shift
V <sub>max</sub>	Maximum adsorption frequency
hr	hour

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

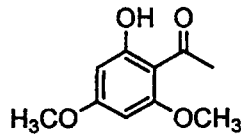
### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

เป็นเวลามากกว่า 50 ปี ที่สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Product) มีบทบาทในวงการแพทย์และเภสัชวิทยา เนื่องจากต้นกำเนิดของสารกลุ่มนี้ที่ถูกค้นพบจากสิ่งมีชีวิตทั้งพืช และสัตว์ ตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 1967 M.E. Wall และคณะ นำลำต้นของ Pacific yew มาสกัด พบสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญ คือ Taxol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง หรือการสกัดฟองน้ำทะเล Penares schzeii พบสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คือ Schulzeines มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase enzyme) [1] ประกอบกับความเชื่อที่ว่าสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตมากกว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา จึงเป็นเหตุจูงใจให้นักเคมีทดลองนำสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์อื่นๆ โดยการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้วยรีเอเจนต์ที่เหมาะสมหรือการเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (Primary metabolite) และเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ เป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด สารเหล่านี้ประกอบด้วย กรดอะมิโน (Amino acids) กรดไขมัน (Fatty acids) นิวคลีโอไทด์ (Nucleotides) น้ำตาล (Sugar) สารเมแทบอไลต์ปฐมภูมิมักจะเป็นสารตั้งต้น (Building Blocks/ Precursors) ในการผลิตเมแทบอไลต์ทุติยภูมิต่อไป เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ พบในสิ่งมีชีวิตบางจำพวก เท่านั้นและไม่จำเป็นต่อการดำรงชีพ แต่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารนั้นๆ เช่น อาจเป็นสารที่ใช้ในขบวนการป้องกันตัวเองจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น สารปฏิชีวนะ สารหอมระเหย หรือสารที่มีฤทธิ์ ทางยา เช่น มอร์ฟีน และโคเคน เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ สามารถแบ่งออกได้ 8 ประเภทตามโครงสร้าง ทั้งนี้เพื่อพัฒนาฤทธิ์ทางชีวภาพ สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ สารประกอบฟีนอลิก ประกอบไปด้วยโครงสร้างหลักที่มีหมู่ฟังก์ชัน ได้แก่หมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอนิล อีกทั้งความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายเช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น จึงเป็นแรงจูงใจให้นักเคมีอินทรีย์สนใจที่จะนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ชนิดใหม่ที่คาดว่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น

การปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันจัดเป็นการสังเคราะห์เลียนแบบธรรมชาติ เป็นวิธีที่น่าสนใจและเหมาะสมวิธีหนึ่ง เพื่อเสาะแสวงหาฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆ ของสารธรรมชาติ ในปัจจุบันจึงปรากฏงานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบต่างๆ ทั้งนี้เพื่อมุ่งเน้นถึงการศึกษา

ฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นการนำไปสู่การพัฒนาเป็นยารักษาโรค ซึ่งโครงการพิเศษนี้จะทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของแซนทอกซิลิน 1 (รูปที่ 1.1) เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของแซนทอกซิลิน 1

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเป็นแนวทางในการสังเคราะห์อนุพันธ์ชนิดใหม่จากแซนทอกซิลิน โดยการเลือกใช้สารเคมีเฉพาะในการทำปฏิกิริยา
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์อัลลีโลพาตีของสารอนุพันธ์ของแซนทอกซิลิน ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*, barnyard grass) และผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor*, Chinese amaranth)

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. สกัดแยกแซนทอกซิลินจากเมล็ดกำจัดต้น (*Zanthoxylum limonella* Alston)
2. ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ โดยการปรับปรุงหมู่ฟังก์ชันของแซนทอกซิลิน
3. ทดสอบฤทธิ์อัลลีโลพาตีของสารอนุพันธ์แซนทอกซิลินต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test

## 1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีดำเนินงาน

โครงการพิเศษจะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน กล่าวโดยสรุปดังนี้

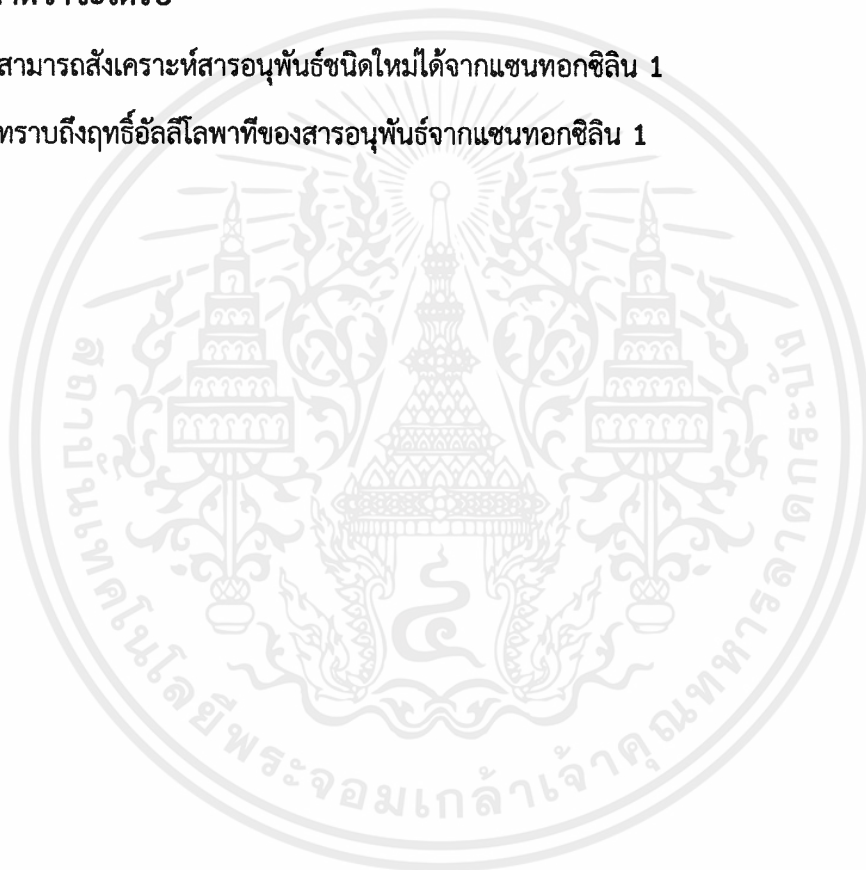
**ขั้นตอนที่ 1** การเตรียมแซนทอกซิลิน 1 ทำโดยการสกัดแยกจากผลกำจัดต้นจากบริษัทไร่ทิพย์ นำผลกำจัดต้นบดพอละเอียด และทำการสกัดแซนทอกซิลินด้วยการหมักในตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยวิธี Sequential extraction โดยเรียงลำดับความมีขี้ขี้ดังนี้ ได้แก่ เฮกเซน และเอทิล แอซิเตต ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน และสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต ตามลำดับ

แขนทอกซิลิน 1 จะถูกสกัดแยกจากผลกำจัดต้นอยู่ในสารสกัดหยาบเอทิลแอลกอฮอล์ จากนั้นนำชั้นเอทิล แอลกอฮอล์มาทำการแยกแขนทอกซิลิน 1 ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี

**ขั้นตอนที่ 2** นำแขนทอกซิลิน 1 มาทำการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ หมู่เมทิลคีโตนให้เป็นไฮดราโซน ด้วยการเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ไฮดราโซน โดยดัดแปลงวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซนของแขนทอกซิลิน 1 ด้วยวิธีของ Mohareb และ Al-Omran [2]

### 1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสังเคราะห์สารอนุพันธ์ชนิดใหม่ได้จากแขนทอกซิลิน 1
2. ทราบถึงฤทธิ์อัลลีโลพาตีของสารอนุพันธ์จากแขนทอกซิลิน 1



## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือ Bioactive compounds หรือสารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ มักพบในผัก ผลไม้และธัญพืชต่างๆ ที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์ของมะเร็ง พบได้ในอาหารที่สามารถปรับกระบวนการเผาผลาญและทำให้เกิดการส่งเสริมสุขภาพที่ดีขึ้นได้ มีประโยชน์หลายด้านเช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระ มีการยับยั้งหรือเหนี่ยวนำเอนไซม์ มีการเหนี่ยวนำและการยับยั้งการแสดงออกของยีน[3] และสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบของยา ย่อมไม่ต้องการให้ยาามีผลกับส่วนที่ดีของร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรค หรือ ส่วนเกิน (มะเร็ง) ที่เราต้องการขจัดเท่านั้น สารใดก็ตามถ้ามีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการ เราก็จะจัดสารนั้นให้อยู่ในพวกสารพิษ (toxic substance)

ในการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จะต้องอาศัยเครื่องมือในการทดสอบฤทธิ์ และวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาว่าองค์ประกอบใดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนั้นอาจยังต้องมีการปรับปรุงโครงสร้างของสารบางส่วนเพื่อให้สารนั้นมีประสิทธิภาพที่ดี[4]

### 2.2 สารกำจัดวัชพืช

การใช้สารเคมีในการกำจัดวัชพืช ก่อให้เกิดผลตกค้างในพืชและในดิน ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เป็นปัญหากระทบต่อห่วงโซ่อาหาร สิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศ ปัจจุบันมีการศึกษาและนำสารจากพืชต่างๆมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีในการเกษตร สารที่พืชสร้างขึ้นและปลดปล่อยสู่ธรรมชาติที่เรียกว่าสารอัลลีโลเคมี (allelochemical substance) เป็นสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่มีผลทั้งทางด้านยับยั้ง และ กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชอื่นได้ในระบบนิเวศเกษตร จึงมีการศึกษาผลทางอัลลีโลพาตี (allelopathy) ทั้งในพืชปลูกต่อพืชปลูก วัชพืชต่อวัชพืช และ วัชพืชต่อพืชปลูก เพื่อนำมาพัฒนาใช้ทางการเกษตร[5]

## 2.3 อัลลีโลพาตี

อัลลีโลพาตี (Allelopathy) เป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมีระหว่างพืชรวมทั้งจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลทั้ง ในด้านการยับยั้งและการกระตุ้นปฏิกิริยาทางเคมีทำให้เกิดผลกระทบต่อ การเติบโตและพัฒนาการ ของพืช และจุลินทรีย์[6] หรืออัลลีโลพาตีเป็นผลกระทบของพืชชั้นสูงชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการงอก การเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะส่งผลดีในด้านการกระตุ้น หรือส่งผลเสียในด้านการยับยั้ง การเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชชนิดอื่นรวมทั้งจุลินทรีย์[7] หรืออัลลีโลพาตี หมายถึง วิธีการที่พืช ชนิดหนึ่งทำอันตรายกับกับพืชอีกชนิดหนึ่ง มีความเฉพาะเจาะจง ตรงข้ามกับการอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิตที่ ต้องพึ่งพาอาศัยกัน และเรียก สารเคมีที่พืชปลดปล่อยออกมาว่า สารอัลลีโลเคมีคอล (allelochemical) ต่อมา Fitter[8] และ Inderit และ Duke[9] ให้ความหมายของอัลลีโลพาตีว่า เป็นกลไกการอยู่รอดหรือการ ตายโดยสารอัลลีโลเคมีคอลที่ปลดปล่อยออกมาจากพืชมีผลต่อพืชและมีบทบาทสำคัญต่อ การ จัดการระบบนิเวศในธรรมชาติ International Allelopathy Society (IAS) ให้คำจำกัดความ ของอัล ลีโลพาตีว่า เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่พืช สาหร่าย รา และแบคทีเรียสร้างขึ้น แล้วสารเหล่านั้นมีผลต่อระบบชีววิทยาและการเกษตร พืชแต่ละชนิด จะผลิตและปลดปล่อยสารไม่เหมือนกัน ปรากฏการณ์อัลลีโลพาตี สามารถพบได้ทั่วไปโดยเฉพาะระบบ นิเวศการเกษตร[10]

## 2.4 ชนิดของสารอัลลีโลเคมีคอล

สารอัลลีโลเคมีคอลในพืชส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ เช่น phenolic acid, coumarins, terpenoids, flavanoids, alkaloids, Cyanogenic glycosides และ glucosinoplates เป็นต้น

Mitchell และคณะ [11] กล่าวว่าสารประกอบจากพืชที่มีความเป็นพิษจะแสดงบทบาท ทางอัล ลีโลพาที่อย่างชัดเจน ตัวอย่างสารจากพืชที่มีความเป็นพิษ เช่น triketone, leptospermone สกัดได้จาก *Canisterman citrinus* ปัจจุบันมีการนำไปผลิตเป็นยากำจัดวัชพืชในเชิงการค้าชื่อว่า mesoterone

Olafsdotter และคณะ[12] กล่าวว่าอัลลีโลพาตีสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช ใน แปลงข้าว โดยพบว่า อัลลีโลพาตีมีอยู่ในสารสกัดจากใบข้าว และฟางข้าว ในฟางข้าวที่สลายตัว แล้ว และ พบในดินที่เคยปลูกข้าวด้วย แม้มีรายงานเกี่ยวกับกรดฟีนอนลิกว่าเป็นสารอัลลีโลเคมีคอล แต่ก็ยังมีข้อ ถกเถียงในเรื่องของความเข้มข้นของกรดฟีนอนลิกที่มีปริมาณสูงในน้ำท่วมขัง (submerged) สูงกว่าดินใน สภาพปกติ (aerobic Soil) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าต้นกล้าข้าว พันธุ์ปลูกที่ปรับตัวเข้ากับบริเวณที่ น้ำท่วมขังแล้วนั้น ไม่มีระดับของความทนทานต่อ *p*-hydroxybenzoic acid มากไปกว่าต้นกล้าพันธุ์ที่ ปรับตัวเข้ากับพื้นที่ดอน นอกจากนั้นอัตราที่ ต้นข้าวปลดปล่อยกรดฟีนอนลิกเข้าสู่สารละลายที่เพาะเลี้ยง

ไม่เพียงพอถึงระดับที่เป็นพิษในดิน ดังนั้นกรดฟีนอลิกอาจจะเป็นเพียงแค่ 1 ในองค์ประกอบของสารผสม ซึ่งเกิดขึ้นในเวลาเดียวกันกับ การเกิดอัลลีโลพาตี นอกจากนั้นอัลลีโลพาตีของใบและต้นข้าวนี้ประกอบด้วย *p*-hydroxybenzoic, vanillic, *p*-coumaric as ferulic acid[13,12] Kato-Noguchi[14] ได้ศึกษาสารอัลลีโลเคมีคอลใน peas (*Pisum sativum* L.) พบว่า เป็นสารชนิด pisatin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ cress (*Lepidium sativum* L.) และ lettuce (*Lactuca sativa* L.) เมื่อพืชสร้างสารอัลลีโลเคมีคอลขึ้นมาแล้วอาจมีการปลดปล่อยสารออกสู่สิ่งแวดล้อม อย่างต่อเนื่องจนเกิดการสะสมในปริมาณที่เพียงพอที่จะส่งผลกระทบต่อพืชและจุลินทรีย์ได้

สามารถแบ่งอัลลีโลพาตีออกเป็นกลุ่มได้ดังนี้ [6,7,15]

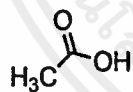
1. กลุ่มแอลกอฮอล์โซ่ตรง (straight-chain alcohols) แอลิฟาติก (aliphatic) แอลดีไฮด์ (aldehydes) และคีโตน (ketone)

1.1 กลุ่มแอลกอฮอล์โซ่ตรง (straight-chain alcohols)

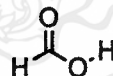
1.2 กลุ่มแอลิฟาติก (aliphatic)

1.3 กลุ่มแอลดีไฮด์ (aldehydes) และคีโตน (ketone)

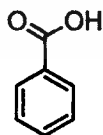
2. กลุ่มแอโรมาติก (aromatic acid) เช่น Acetic acid 2, Formic acid 3, Benzoic acid 4 และ Cinnamic acid 5 เป็นต้น



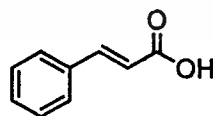
Acetic acid 2



Formic acid 3

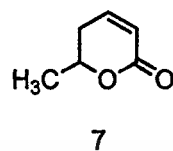
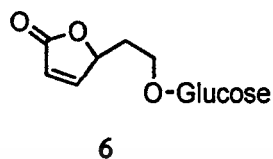


4

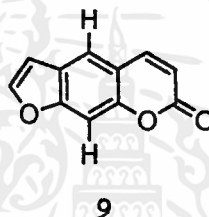
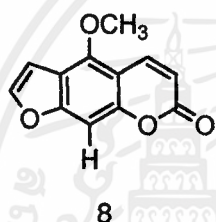


5

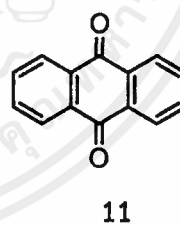
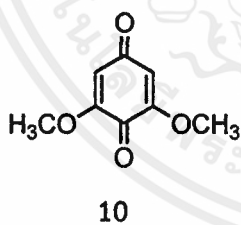
3. กลุ่มน้ำตาลแลคโตนไม่อิ่มตัว (simple unsaturated lactones) เช่น Parasodic acid 6 และ Ranucolin 7



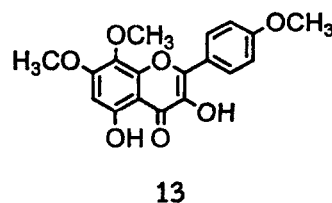
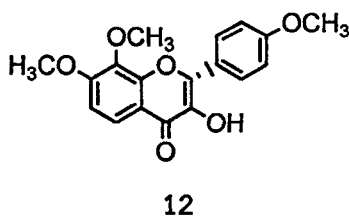
4. กลุ่มคูมาลิน (coumarins) เช่น Coumarin Bergaplen 8 และ Coumarin psoralen 9



5. กลุ่มควิโนน (quinones) เช่น 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone 10 และ Anthraquinone 11

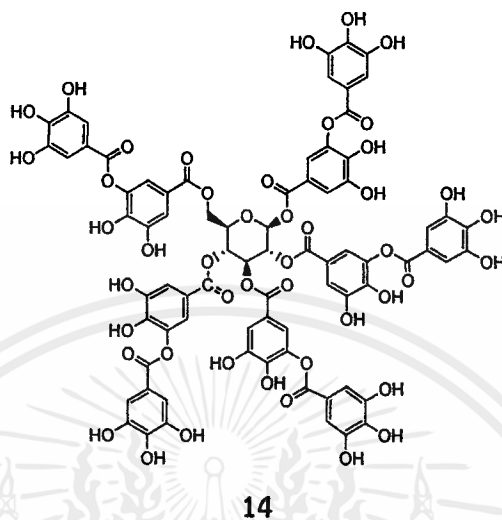


6. กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น Heliannones B 12 และ Tanbutin 13



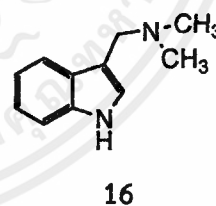
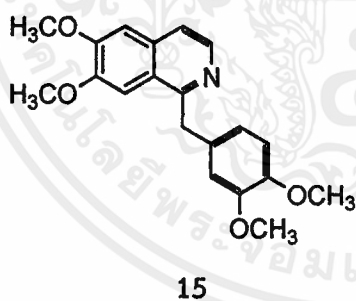
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. กลุ่มแทนนิน (tannins) เช่น Tannic acid 14

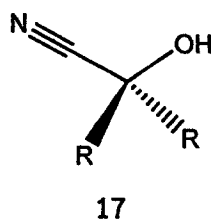


8. กลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids) และไซยาโนไฮดริน (cyanohydrins)

8.1 กลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids) เช่น papaverine 15 และ Sparteine 16



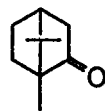
8.2 กลุ่มไซยาโนไฮดริน (cyanohydrins) เช่น Cyanohydrine 17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

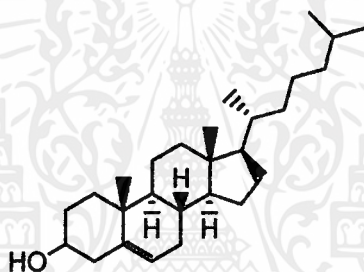
## 9. กลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสเตียรอยด์ (steroids)

### 9.1 กลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เช่น Champhor 18



18

### 9.2 กลุ่มสเตียรอยด์ (steroids) เช่น Cholesterol 19

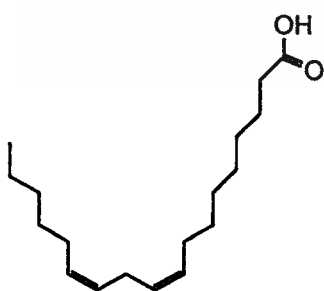


19

## 10. กลุ่มก๊าซพิษ (toxic gas)

## 11. กลุ่มกรดไขมันโซ่ยาว (long-chain fatty acid) และพอลิอะเซทิลีน (polyacetylene)

### 11.1 กลุ่มกรดไขมันโซ่ยาว (long-chain fatty acid) เช่น Linoleic acid 20 และ Oleic acid 21



20



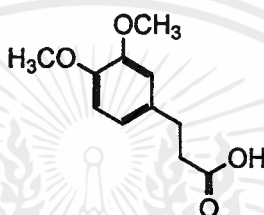
21

## 11.2 กลุ่มพอลิอะเซทิลีน (polyacetylene) เช่น cis-Polyacetylene 22



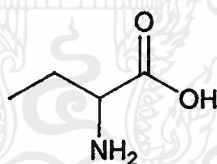
22

## 12. กลุ่มกรดซินนามิกและอนุพันธ์ (cinnamic acids and derivatives) เช่น Ferulic acid 23



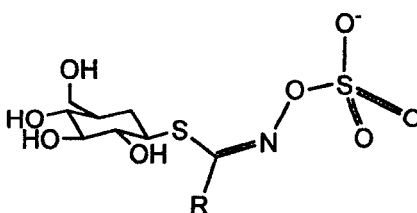
23

## 13. กลุ่มกรดอะมิโน (amino acid) และพอลิเปปไทด์ (polypeptides) เช่น Aminobutanoic acid 24



24

## 14. กลุ่มซัลไฟด์ (sulfides) และมัสตาร์ดอยด์ไกลโคไซด์ (mustard oil glycosides) เช่น Glucosinolate 25

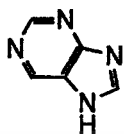


25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 15. กลุ่มพิวรีน (purines) และนิวคลีโอไซด์ (nucleosides)

### 15.1 กลุ่มพิวรีน (purines) เช่น Purine 26



26

## 16. กลุ่มไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides)

### 2.5 พืชกำจัดตัน

พืชกำจัดตัน หรือ มะแขว่น [17] เป็นเป็นเครื่องเทศชนิด ใช้ปรุงรสที่ให้รสเผ็ดในขณะเดียวกันก็มีกลิ่นหอมเหมือนมะกรูดผสมมะนาว มะแขว่นเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Z. limonella* (Dennst.) Alston ชื่อสามัญในภาษาไทยเรียกว่า “กำจัดตัน” พืชที่อยู่ในวงศ์นี้ในประเทศไทยมีรายงานอยู่ 4 ชนิด คือ หมักก้ากตอยสุเทพ (*Z. acanthopodium* DC.) หมักก้าก (*Z. armatum* DC.) กำจัดตัน (*Z. limonella* (Dennst.) Alston) และกำจัดหน่วย (*Z. nitidum* Roxb DC.) สำหรับกำจัดหน่วยหรือตันงูเห่า (*Z. nitidum*) ในทางตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดียใช้ทำยาสีฟัน แก้ปวดท้อง ลดไข้ แก้ไขข้ออักเสบ แก้ฝีหนอง และยังสามารถนำมาใช้เป็นยากำจัดแมลงและยาฆ่าแมลง งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนว่ามะแขว่นมีฤทธิ์ต้านอาการอักเสบ ทำให้หมดความรู้สึกหรือทำให้เกิดการตื่นตัวซึ่งขึ้นอยู่กับขนาดที่ใช้ (ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย) เปลือกของผลมีคุณสมบัติเป็นยาฝาดสมานและกระตุ้นการทำงานของระบบย่อยอาหาร นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากผลมะแขว่นมีผลทำให้เกิดการบีบตัวและหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ หลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจ กล้ามเนื้อของระบบทางเดินอาหาร ซึ่งส่งผลดีต่อระบบหมุนเวียนโลหิต ระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจ สารสกัดหยาบจากผลมะแขว่นมีสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิดและสามารถยับยั้งการเจริญของเนื้ออกในสัตว์ทดลองได้ ในส่วนกำจัดหน่วยหรืองูเห่า (*Z. nitidum*) สารสกัดหยาบตลอดโรฟอร์มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง (*Plasmodium falciparum*) และเชื้อวัณโรค (*microbectrium tuberculosis*) ประเทศอินเดียให้ความสำคัญกับพืชในสกุลนี้เป็นอย่างมากได้มีการศึกษาวิจัยจนถึงระดับดีเอ็นเอ (DNA) ที่สามารถใช้ตรวจเอกลักษณ์และองค์ประกอบของสารสำคัญในสมุนไพรชนิดนี้ก่อนที่จะนำมาปรุงเป็นยา



รูปที่ 2.1 ลักษณะทางกายภาพของกำจัดตัน  
(ที่มา ; <http://rspg.svc.ac.th/Wiki/index.php>)

## 2.6 พืชที่ใช้ในการทดสอบอัลลิโลพาตี

การเลือกพืชทดสอบเป็นสิ่งจำเป็นในการทำงานวิจัย ซึ่งมักจะพิจารณาลักษณะของการเลือกทำลายหรือ ความจำเพาะของสารแต่ละชนิดเป็นสำคัญ แต่โดยทั่วไปแล้วการเลือกพืชทดสอบที่นำมาใช้ในการทดลองเพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพนั้น นิยมเลือกพืชที่มีความไวฤทธิ์ของสารเคมีสูงและให้ผลการทดลองที่ชัดเจนในช่วงเวลาอันสั้นภายในระยะเวลาประมาณหนึ่งสัปดาห์ [18] ในการทดลองนี้ได้ทำการทดลอง 1 วิธี คือการทดสอบ Vial test ซึ่งพืชที่นำมาทดสอบคือ หญ้าข้าวนก และ ผักโขม

### หญ้าข้าวนก

ชื่อวิทยาศาสตร์

*Echinochloa crus-galli* (L.) T. Beauv.

ชื่อสามัญ

barnyard grass

ชื่ออื่น

หญ้าคอมมิวนิสต์, หญ้าพุ่มพวง

ประเภท/ชีพจักร

หญ้า/อายุปีเดียว

ลักษณะทางชีววิทยา ใบอ่อนจะเป็นคลื่นสีเขียวอ่อนถึงสีเขียว เส้นใบสีเขียวอ่อน ใบจะยาวกว่าใบข้าว ดอกเป็นช่อ ออกดอกได้ตลอดปีเมื่ออายุ 2-3 เดือน ชอบขึ้นในสภาพดินชื้นแฉะความชื้นตั้งแต่ 50 % สามารถออกได้น้ำได้ลึก 1-2 เซนติเมตร การชงน้ำไว้ประมาณ 3-7 วัน จะสามารถทำลายการพักตัวของเมล็ดได้ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพน้ำขัง

## ผักโขม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Amaranthus tricolor* L

ชื่อสามัญ Chinese amaranth

ชื่ออื่น ผักโขมสวน/ผักโขมสี

ประเภท/ชีพจักร พืชล้มลุก/อายุปีเดียว

ลักษณะทางชีววิทยา พืชกลุ่มนี้บางชนิดขึ้นเองเป็นวัชพืช ทุกชนิดใบกินเป็นอาหารได้ นับเป็นผักใบเขียวที่แพร่หลายทั้งในเขตศูนย์สูตรและเขตอบอุ่นเหนือ ลำต้นตรงมีสีเขียว มีการแตกกิ่งสาขา ใบเดี่ยวรูปไข่ค่อนข้างสามเหลี่ยม แตกใบแบบสลับ ขอบใบเรียบ ดอกผักโขมออกเป็นช่อตามซอกใบมีสีม่วงปนเขียว เมล็ดมีจำนวนมากสีน้ำตาลเกือบดำ

## 2.7 โครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟี (chromatography) เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการแยกสารประกอบ ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาโดยชาวรัสเซียชื่อ Mikhail Tsvet ในปี ค.ศ.1906 โดยเรียกเทคนิค นี้ว่า โครมาโทกราฟี (chromatography = writing with color) มาจากภาษากรีก (khroma = สี, graphein = วาดกราฟ, เขียน) เนื่องจากใช้ครั้งแรกในการแยกสารสี ของพืช (pigments)

การแยกสารผสมโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีนั้นจะอาศัยการกระจายตัวของ สารตัวอย่างระหว่างเฟสสองเฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้มากในปัจจุบัน และมีกลไก (mechanism) ที่เกิดขึ้นในโครมาโทกราฟี 2 กระบวนการ [19] คือ

1. กระบวนการดูดซับ (adsorption) กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อเฟสอยู่กับที่ เป็นของแข็งที่เรียกว่า LSC (liquid-solid chromatography) เช่น อลูมินา ซิลิกา เจล การดูดซับที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของของแข็ง

2. กระบวนการแบ่งส่วน (partition) กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อเฟสอยู่กับที่ เป็นของเหลวเรียกว่า LLC (liquid-liquid chromatography) การแยกส่วนของสาร ขึ้นอยู่กับสภาพละลายได้สัมพัทธ์ (relative solubility) ของโมเลกุลต่างๆในของเหลวที่เป็นเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่

เทคนิคโครมาโทกราฟีสามารถประยุกต์ใช้ได้ทั้งคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งจะทำให้ส่วนผสมของสารตัวอย่างแยกตัวออกจากกันเป็นโซนๆ ปัจจุบัน ได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการขึ้นมา

วิเคราะห์หลายวิธีการด้วยกัน ถ้าจัดแบ่งตาม ลักษณะของวิธีการทำโครมาโทกราฟี จะแบ่งได้ 2 ประเภท คือ

### 1. Column Chromatography

วิธีนี้เราใช้คอลัมน์แก้วบรรจุตัวดูดซับ (Absorbent) ซึ่งชุ่มอยู่ด้วยตัวทำละลาย (Solvent) ชนิดหนึ่ง เอาสารผสมที่ต้องการแยก (Solute) ซึ่งละลายอยู่ในตัวทำละลายอันเดียวกันข้างต้นมาหยดลงบน ตัวดูดซับ แล้วจึงเติมตัวทำละลายตามลงมา ตัวทำละลายจะค่อย ๆ ชะสารที่ต้องการจะแยกให้เคลื่อน ที่ลงไป (elute) ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน จนในที่สุดจะได้แถบสีของแต่ละสารแยกออกจากกัน (ในกรณีที่สารเหล่านั้นมีสีในตัวเอง)

ถ้าสารเหล่านั้นไม่มีสีจำเป็นต้องใช้วิธีอื่นเพื่อหาว่าแต่ละแถบของสารอยู่ส่วนไหนของคอลัมน์ เช่น อาจตรวจด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต หรือสเปกโตรมิเตอร์อินฟราเรดบางชนิดไปบนตัวดูดซับสำหรับตรวจหาสารหรือเคลือบตัว ดูดซับด้วยสารฟลูออเรสเซนต์ เมื่อสารอยู่ที่ตำแหน่งใดตรงนั้นจะมีสี เพราะสารไปบังการเรืองแสง หรืออาจตรวจด้วย เครื่อง Detector ก็ได้

การแยกสารในสารผสมออกจากกันได้ เนื่องจากแต่ละสารถูกดูดซับไว้โดยตัวดูดซับในอัตราที่ไม่เท่ากัน สารที่ ถูกดูดซับไว้มากกว่า ย่อมเคลื่อนลงมาช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับน้อยกว่า จากหลักการนี้เราสามารถแยกสารหลายชนิดออก จากกันได้ หรือ แยกสารมีขั้วต่างกันออกจากกันได้ สารที่มีขั้วมากจะ ถูกดูดไว้แน่นและถูกชะได้ยากกว่าสารที่มีขั้วน้อยกว่า [20]

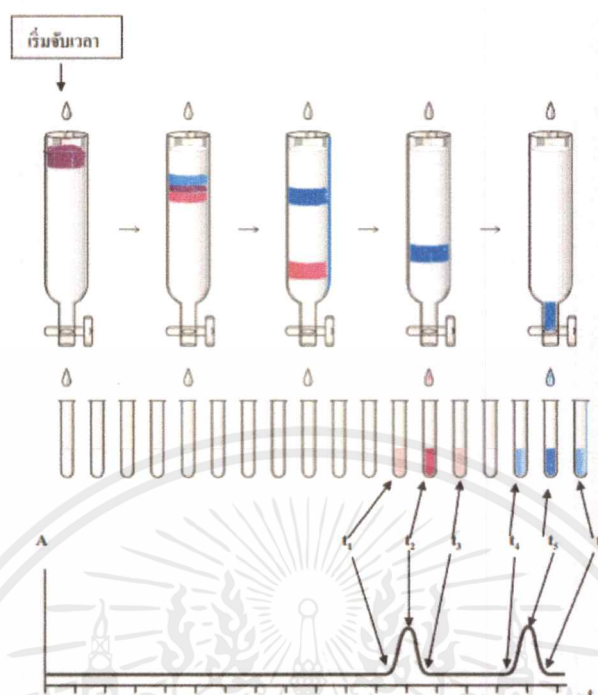
การแยกสารผสมออกจากกันได้ชัดเจน และห่างกันในเวลาไม่มากนัก แสดงถึงประสิทธิภาพ ของ Column (Resolution) ที่มีความสามารถแยกสาร 2 ชนิดออกจากกัน ประสิทธิภาพของ Column สามารถหาได้ โดยความสัมพันธ์ ดังนี้

$$\text{Resolution } (R_s) = \frac{2\Delta Z}{(W_A + W_B)}$$

เมื่อ  $\Delta Z$  เป็นระยะห่างระหว่างสองยอด Peak ที่ได้จากการแยก

$W_A$  เป็นความกว้างของฐาน Peak A

$W_B$  เป็นความกว้างของฐาน Peak B



รูปที่ 2.2 Chromatogram ที่แสดงถึง Resolution ที่ดีของ Column

(ที่มา ; หนังสือปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี หน้า 61)

## 2. Thin-layer chromatography หรือ TLC

เป็นแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกแข็ง (ขนาด 5 x 10 ซม หรือ 5 x 20 ซม ) เคลือบด้วยตัวดูดซับเป็นชั้นบางๆ (หนาขนาด 0.25-0.3 มม.) ตัวดูดซับที่ใช้กับ TLC มีขนาด อนุภาคเล็กกว่าที่ใช้ในคอลัมน์โครมาโตกราฟี ชนิดของตัวดูดซับที่ใช้ก็เช่นเดียวกับที่ใช้กับ คอลัมน์โครมาโตกราฟี ได้แก่ ซิลิกาเจล อะลูมินา คีเซลกัวร์ (Kieselguhr) และผงเซลลูโลส เป็นต้น ตัวดูดซับเหล่านี้มักมีสารเรืองแสงผสมอยู่ เพื่อใช้ตรวจสอบตำแหน่งของสารโดยมอง ภายใต้แสง UV วิธีการของ TLC แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

### 1) การเตรียมแผ่นTLC

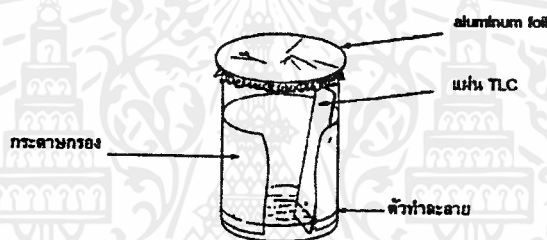
นำตัวดูดซับมาผสมกับน้ำทำเป็นสเลอรรี่ (slurry) สัดส่วนของตัวดูดซับกับตัวทำละลาย ทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต นำสเลอรรี่ที่ผสมกันดีแล้วมาเคลือบเป็นชั้นบางๆ บนแผ่น แก้วหรือแผ่นพลาสติกที่สะอาดและแห้ง ตัวดูดซับมักมีตัวยึด (binder) เช่น calcium sulfate (Plaster of Paris) หรือ แป้งผสมอยู่เล็กน้อยเพื่อให้ตัวดูดซับยึดกับแผ่นแก้วหรือพลาสติก แผ่น TLC อาจเตรียมในห้องปฏิบัติการก่อนใช้หรือซื้อแผ่น TLC ที่ผลิตสำเร็จรูปมาใช้

## 2) การจุดสารตัวอย่างบนแผ่น TLC

ใช้หลอดแคปิลลารี(capillary)ขนาดเล็กมาจุดสารละลายของสารตัวอย่าง แล้วจุดบน แผ่น TLC ควรจุดให้ห่างจากขอบล่างประมาณ 1.5 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของจุดไม่ควรเกิน กว่า 2 มิลลิเมตร รอให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้งก่อนทำขั้นตอนต่อไป

## 3) Development ของ แผ่น TLC (Development of TLC plate)

นำแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างแล้วมาวางในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยให้ตำแหน่งจุดอยู่เหนือตัวทำละลาย ภายในภาชนะแก้วควรใส่กระดาษกรอง และปิดฝาภาชนะให้สนิท เพื่อให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย ซึ่งจะช่วยให้ตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นด้านบนได้เร็วขึ้น เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นไปจนเกือบถึงขอบบน ให้นำแผ่น TLC ออกพร้อมกับขีดแนวของตัวทำละลาย (solvent front) ก่อนที่ตัวทำละลายจะแห้งระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่มีส่วนสำคัญต่อการคำนวณค่า  $R_f$



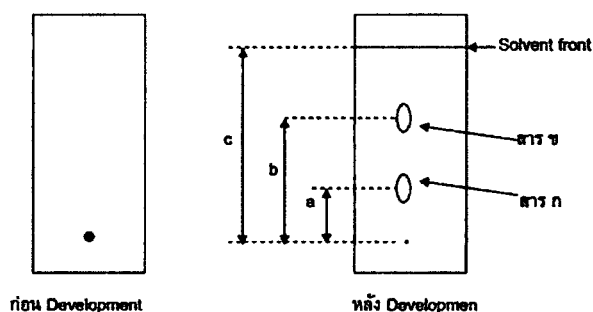
รูปที่ 2.3 การ Development ของแผ่น TLC

(ที่มา ; E-book เรื่อง Preparative Thin-layer Chromatography (PLC) มหาวิทยาลัยรามคำแหง หน้า 46)

## 4) การตรวจหาจุดบนแผ่น TLC (Visualization)

การตรวจหาตำแหน่งของจุดบนแผ่น TLC จะง่ายมากถ้าเป็นสารประกอบที่มีสี แต่ถ้าเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี มีวิธีการตรวจหาได้หลายวิธีดังนี้

1. มองแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มืด สารประกอบที่เกิดฟลูออเรสเซนส์ จะเกิด ความสว่างมากภายใต้แสง UV เครื่องที่ให้กำเนิดแสง UV เรียกว่า Ultraviolet lamp ตัวดูดซับมักมีสารเรืองแสงซึ่งเป็นสารผสมของ cadmium sulfide และ zinc sulfide ปนอยู่ ดังนั้นเราจะสังเกตเห็นแสงสีเขียวสว่างทั่วแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มืด ถ้าสารตัวอย่างดูดกลืนแสง UV แสง UV ตรงตำแหน่งที่



$$R_f (\text{สาร ก}) = \frac{a}{c}$$

$$R_f (\text{สาร ข}) = \frac{b}{c}$$

### รูปที่ 2.4 การคำนวณค่า $R_f$

(ที่มา ; E-book เรื่อง Preparative Thin-layer Chromatography (PLC)

มหาวิทยาลัยรามคำแหง หน้า 48)

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2000 A. Islama และคณะ [22] ได้ทำการศึกษาเรื่อง Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Z. budrunga* เป็นการสกัดปิโตรเลียม (อีเทอร์) คลอโรฟอร์ม และเมทานอลจากเปลือกของ *Z. budrunga* ได้ถูกนำมาประเมินคุณสมบัติด้านการต้านเชื้อรา ด้านเชื้อแบคทีเรียและความเป็นพิษในเซลล์

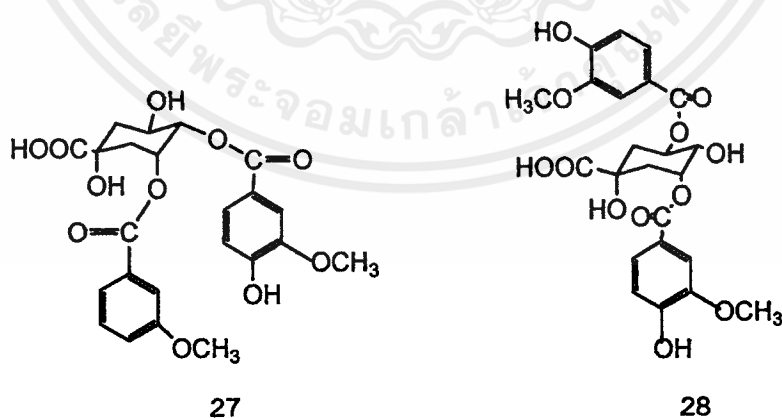
ในปี 2001 A. Navarrete และคณะ [23] ได้ทำการศึกษาเรื่อง Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Z. liebmannianun* โดยสกัดเอทานอลดิบจากใบของ *Z. liebmannianun* ซึ่งมีผลยับยั้งการสืบพันธุ์ในระยะ trophozoites ของ *Entamoeba histolytica* a ( $IC_{50}$  3.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ *Giardia lamblia* ( $IC_{50}$  58.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นอกจากเอทานอลแล้วยังได้ asarinin, hyperin,  $\beta$ -sitosterol และ  $\beta$ -sitosterol glucoside ในบรรดาทั้งหมด asarinin มีการ active กับ  $IC_{50}$  มากที่สุดสำหรับ *E. histolytica* 19.86 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ *G. lamblia* 35.45 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารตัวอื่นๆมีผลปานกลาง จากผลการศึกษา พบว่าสารสกัดเอทานอลและสารบริสุทธิ์ตัวอื่นๆของ *Z. liebmannianun* พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเอทานอลพบว่าสารบริสุทธิ์มีฤทธิ์ต้านเชื่อน้อยกว่า ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้สนับสนุนการใช้อย่างแพร่หลายในการรักษาโรคหิววัด ในการแพทย์พื้นบ้านเม็กซิกัน

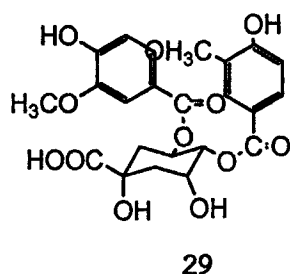
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี 2002 M.T. Rahmana และคณะ [24] ในทำการศึกษาเรื่อง Antinociceptive and antidiarrhoeal activity of *Z. rhetsa* โดยทำการสกัดเมทานอลจาก *Z. rhetsa* Roxb จากเปลือกของลำต้น ให้นำหนักทางปากที่ปริมาณ 250 และ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าอาการการหดเกร็งในช่องท้องลดลงอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากกรดแอสติติก และอาการอุจจาระร่วงจากน้ำมันระหุ่งในหนูลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

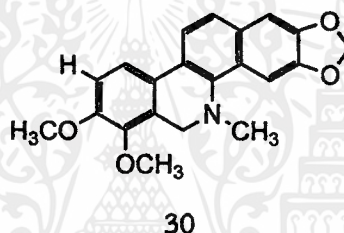
ในปี 2003 M. Curini และคณะ [25] ได้ทำการศึกษาเรื่อง Antifungal activity of some Cuban Zanthoxylum species โดยทำการสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นของ *Z. fagara*, *Z. elephantiasis* และ *Z. martinicense* ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิดต่างๆ แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้นำมาใช้ในคุณสมบัติต้านพยาธิแผนโบราณมาอย่างยาวนาน โดยสายพันธุ์ที่ศึกษานำมาใช้ในการรักษาโรคท้องร่วง ไข้ ปวดหูและโรคเกี่ยวกับฟัน

ในปี 2004 Monique Tits และคณะ [26] ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ LC/MS/NMR ของ isomeric divanilloylquinic acids จากเปลือกกรากของ *Fagara zanthoxyloides* Lam เป็นการนำระบบ Gradient HPLC ควบคู่กับ DAD/UV, MS/MS และ NMR เพื่อใช้ในการตรวจหาโครงสร้างใหม่สามโครงสร้างของ isomeric divanilloylquinic acids จากกรากของ *Fagara zanthoxyloides* ที่เก็บได้ใน Burkina Faso ได้แก่ : 3,4-O-divanilloylquinic acid 27, 3,5-O-divanilloylquinic acid 28 และ 4,5-O-divanilloylquinic acid 29 โดยเรียกชื่อสารประกอบเหล่านี้ว่า burkinabins A-C โดยอาจมีประโยชน์ในการรักษาโรคเซลล์เม็ดเลือดแดงรูปเคียว เนื่องจาก *Fagara zanthoxyloides* สามารถเป็นตัวเร่งให้ไม่เกิดการระบุนอกลักษณะของสารประกอบอะโรมาติก ด้วยสารประกอบกลุ่มของกรดคาร์บอกซิลิก





ในปี 2005 M.T. Martin และคณะ [27] ได้ทำการศึกษาเรื่อง การสกัด Benzo phenanthridine alkaloids 30 ชนิดจากเปลือกของลำต้นของ *Z. madagascariense* ถูกนำมาระบุเอกลักษณ์ด้วยเครื่อง NMR spectroscopy ได้ผลดังรูป



ในปี 2006 W. Zhang และคณะนักวิจัย [28] ได้ทำการศึกษาเรื่อง การวิเคราะห์สารแอลคาลอยด์ 9 ชนิดใน *Z. nitidum* ได้แก่ Berberubine, Coptisine, Sanguinarine, Nitidine, Chelerythrine, Liriodenine, 6,7,8-Trimethoxy-2,3-thylenedioxybenzophenatridine, Oxyavicine และ Dihydrochelerythrine นำมาระบุเอกลักษณ์เฉพาะโดยใช้ Liquid Chromatography - (HPLC-DAD-ESI-MS) และได้มีการพัฒนาวิธีการ HPLC-UV เพื่อให้สามารถแยกสารแอลคาลอยด์นี้ได้พร้อมกันด้วย 70% เมทานอล ของ *Z. nitidum* การแยกโดยโครมาโตกราฟีนี้ใช้คอลัมน์ Agilent C18 (ความยาว 5 ไมโครเมตร, 4.6 มิลลิเมตร และยาว 250 มิลลิเมตร) เป็นระบบ gradient โดยใช้ acetonitrile-0.1% formic buffer (ปรับค่า pH 4.5 ด้วย triethylamine จะได้ค่าความเป็นเส้นตรง  $r^2 > 0.9997$  และ ค่า recovery 98.3% ถึง 101.1% ซึ่งถือว่าเป็นที่ยอมรับได้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) ของ alkaloids เหล่านี้อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.6 ถึง 1.5 นาโนกรัม ผลการทดลองพบว่าสารแอลคาลอยด์ใน *Z. nitidum* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0.03 มิลลิกรัม/กรัม ถึง 3.34 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งวิธีการนี้ ทำได้ง่ายมีประสิทธิภาพและเหมาะสมสำหรับการควบคุมคุณภาพของยาจีนแผนโบราณ (TCM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี 2007 E. Yamazaki และคณะนักวิจัย [29] ได้ทำการศึกษาเรื่อง สารต้านอนุมูลอิสระโดยสกัดจากผลพริกไทยญี่ปุ่น (*Z. piperitum* DC.) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากผลพริกไทยญี่ปุ่นมีค่าเท่ากับสาร  $\alpha$ -Tocopherol และมีความเสถียรภายใต้การให้ความร้อน สารประกอบหลักที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญจากสารสกัดเมทานอล คือ Hyperoside (quercetin-3-O-galactoside) และ Quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside) จากการตรวจสอบโดย HPLC, Mass spectrometry, UV/Vis spectroscopy และ TLC พบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ Hyperoside และ Quercitrin ซึ่งเป็นสารสกัดจากผลพริกไทยญี่ปุ่น ได้รับการประเมินผลโดยใช้วิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)) เป็นผลให้ hyperoside และ quercitrin ขั้บอนุมูลของ DPPH ออกมาอย่างรุนแรงโดยดูจากค่า  $IC_{50}$  จาก 16 และ 18 ไมโครโมล ตามลำดับ ข้อสังเกตเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า Hyperoside และ Quercitrin ในผลพริกไทยญี่ปุ่น มีสารต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่ง

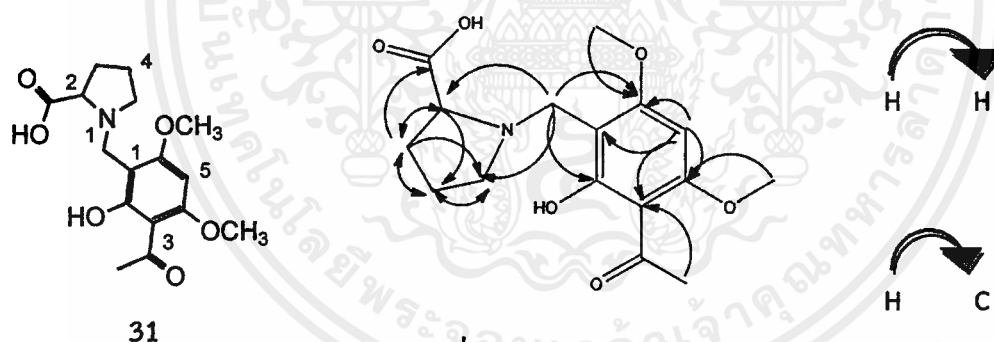
ปี 2008 J. Zhang และคณะ[30] ได้มีการพัฒนาเทคนิคการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ด *Z. bungeanum* ที่มีกรดไขมันอิสระสูง (free fatty acids: FFA) ทำให้ค่าความเป็นกรดของ ZSO ลดลงเหลือ 1.16 มิลลิกรัม KOH/กรัม จาก 45.51 มิลลิกรัม KOH/กรัม โดยการทำปฏิกิริยา acid-catalyzed-esterification ด้วยกรดเพียงขั้นตอนเดียวโดยใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอลกับน้ำมัน 24: 1, 2% ของกรดซัลฟูริก ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 80 นาที ในระหว่างการทำปฏิกิริยา FFA ถูกเปลี่ยนเป็น fatty acid methyl esters ซึ่งยืนยันจากสเปกตรัม  $^1H$  NMR เมื่อเทียบกับขั้นตอนการ two-step pretreatment กับ one-step pretreatment นี้สามารถลดต้นทุนการผลิตของ ZSO biodiesel โดยปฏิกิริยา Alkaline-catalyzed transesterification เปลี่ยน ZSO ให้เป็น ZSO biodiesel ได้ถึง 98 เปอร์เซ็นต์

ในปี 2009 D. G. Kang และคณะนักวิจัย[31] ได้ทำการศึกษาเรื่อง ผลกระทบของ *Z. schinifolium* บน TNF- $\alpha$ -induced vascular inflammation ในเซลล์บุผนังหลอดเลือดดำบริเวณสะดือของมนุษย์ โดย Pro-inflammatory cytokines ทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์เยื่อภายในเพื่อตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของโมเลกุลของการยึดเกาะที่นำไปสู่การอักเสบของหลอดเลือดและการพัฒนาของหลอดเลือด ในการศึกษาครั้งนี้ได้ประเมินสารสกัดเอทานอลของ *Z. schinifolium* (EZS) เพื่อตรวจสอบว่ายับยั้งการแสดงออกของโมเลกุลของการยึดเกาะของเซลล์ในเซลล์ endothelial venus (HUVEC) ของมนุษย์

ในปี 2010 M. Teerarak และคณะ[32] ได้ทำการแยกสารสกัดเอทิล แอซิเตตจากผล *Z. limonella* Alston ด้วยวิธี Bioassay-guided fractionation ได้สารประกอบฟีนอลิกที่มีชื่อว่า xanthoxyline 1 เมื่อนำ xanthoxyline 1 มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของ Chinese amaranth (*A. tricolor* L.) และ Barnyardgrass (*E. crus-galli* (L.) Beauv.) ภายใต้สภาวะ

ของห้องปฏิบัติการ ที่ระดับความเข้มข้น 2500 โมลาร์ xanthoxyline 1 มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของ Chinese amaranth ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของเมล็ดของหญ้าข้าวหนวดอย่างมีนัยสำคัญได้ 43.59% และยับยั้งความยาวและความกว้างของรากอย่างมีนัยสำคัญได้ 71.56% และ 87.48% ตามลำดับ การตรวจวัดหากกลไกความเป็นพิษของ xanthoxyline 1 โดยนำวิธี cytogenetic bioassay มาใช้ โดยใช้รากของ *Allium cepa* L. (หัวหอม) โดยทำให้มีความเข้มข้นต่างกันตั้งแต่ 15.625 ถึง 125 โมลาร์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งจากการศึกษาเซลล์รากของหัวหอมแสดงให้เห็นว่ามีการลดลงของ mitotic index (การศึกษาความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม) ในราก ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ xanthoxyline 1 ในทำนองเดียวกันระยะของ mitotic index ก็ถูกเปลี่ยนแปลงในต้นหอมที่ป่นด้วย xanthoxyline 1 การวิเคราะห์นี้แสดงให้เห็นการรบกวนใน late prophase, sticky metaphase, c-mitosis, non-oriented chromosome ที่ metaphase, sticky anaphase, delayed anaphase และ diagonal ที่ telophase สำหรับรากของหัวหอมที่สัมผัสกับ Xanthoxyline 1

ในปี 2011 O. J. Patino และ L. E. Cuca [33] ได้ทำการศึกษารื่อง Monophyllidin 31 ของอนุพันธ์ใหม่ L-proline alkaloid จาก *Z. monophyllum* และทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีด้วยเทคนิค COSY และ HMBC



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ COSY และ HMBC ของโครงสร้าง 31

ในปี 2012 M. Zameer และคณะ[34] ได้ทำการศึกษา เรื่องการประเมินผลสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของ *Cannabis sativa* L. และ *Z. alatum* Roxb ที่มีต่อไส้เดือนฝอยรากปม (against root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*) การศึกษานี้ได้ดำเนินการเพื่อประเมินศักยภาพในการฆ่าเชื้อโรคของศัตรูพืช 2 ชนิดคือ *C. sativa* L. และ *Z. alatum* Roxb (*Rutaceae*) ที่มีผลต่อการสูญเสียผลผลิตมหาศาลของแตงกวา ใบของ *C. sativa* และ *Z. alatum* ถูกรวมอยู่ในดินในอัตราส่วน 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมของดิน หลังจากการสลายตัวแล้วเมล็ดพันธุ์แตงกวา (พันธุ์ Royal Sluis) จะถูกหว่านและฉีดวัคซีนด้วยตัวอ่อนระยะเวลา 2000 วินาทีของระยะแรกในสัปดาห์

หลังพืชเจริญเติบโตขึ้น ข้อมูลเกี่ยวกับตัวแปรการเจริญเติบโตและการทำลายเชื้อไส้เดือนฝอยปมหลังจากบันทึกการฉีดวัคซีน 6 สัปดาห์ พืชทั้งสองชนิดลดการทำลายของไส้เดือนฝอยปมและเพิ่มเกณฑ์การเจริญเติบโตของพืชอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการตรวจไม่ได้รับการรักษาตามการวิจัย การลดจำนวนของกอลล์, รังไข่, ความอุดมสมบูรณ์ของไส้เดือนฝอยและการสะสมที่เกิดจาก *C. sativa* สูงกว่าเมื่อเทียบกับ *Z. alatum* การลดลงของตัวแปรเหล่านี้จะถูกบันทึกด้วยปริมาณ 20 กรัมของการเติม *C. sativa* และ *Z. alatum* ลงในดินเป็นสารทดแทนสารอินทรีย์สามารถทำงานได้ดีและสามารถนำไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างสมบูรณ์เพื่อแทนที่การบำบัดทางเคมีแบบดั้งเดิมและหลีกเลี่ยงมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม

ในปี 2013 L.N. Misra และคณะนักวิจัย[35] ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ cytotoxic และองค์ประกอบทางเคมีของพืช *Zanthoxylum* 2 ชนิดของแคเมอรูน ได้แก่ *Z. lepreurii* (Syn. *Fagara lepreurii*) เป็นพืชที่ใช้กันอย่างกว้างขวางโดยหมอแผนโบราณในแคเมอรูนเพื่อรักษาโรคกระเพาะอาหาร โรคหนองใน ถ้าไส้ปรสิตและความเป็นหมัน การชงจากผลไม้จะถูกถ่ายทอดในประเทศแคเมอรูนเพื่อรักษาโรคโลหิตจางชนิดเดียวกัน ในทำนองเดียวกันรากของ *z. zanthoxyloides* (Syn. *Fagara zanthoxyloides*) นอกจากนี้ยังใช้สำหรับการตกแต่งบาดแผล, โรคโลหิตจาง เซลล์เดี่ยวและเป็นยาแก้ปวด นอกเหนือจากการใช้งานกล่าวถึง *Z. lepreurii*

ในปี 2014 A. N. Kalia และคณะ[36] ได้ศึกษา Bioignic Lignans จากเปลือกต้น *Z. alatum* Roxb ที่มีศักยภาพในการเกิด Cytotoxic Ethanopharmacological relevance หรือ Ethanopharmacological ของ *Z. alatum* ใช้ในระบบยาแผนโบราณ เช่น โรคคอหิวดำ โรคเบาหวานไอ แก้กท้องเสีย ไข้ ปวดหัว ติดเชื้อจุลินทรีย์ ปวดฟันอักเสบและมะเร็ง การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อประเมินเปลือกต้น *Z. alatum* ที่มีศักยภาพในการเป็นพิษของเซลล์และแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลที่ได้คือสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์ของพืชมีศักยภาพในการเป็นพิษต่อเซลล์ 3 ชนิด ได้แก่ Lignans Sesamin (A), Kobusin (B) และ 4'O-demethyl magnolin (C) ถูกแยกออก ทุก lignans แสดงกิจกรรม cytotoxic ในช่วงที่แตกต่างกัน สารประกอบ C เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่จากแหล่งที่มาของพืชและพบว่ามีการใช้งานมากที่สุด ในการศึกษาเกี่ยวกับพยาธิ apoptosis การรักษาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา apoptosis โดยทั่วไป ช่วยเพิ่มการตายของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ปริมาณ IC50 (21.72 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร) แต่แสดงให้เห็นถึงความตายของเซลล์ที่ตายแล้วในปริมาณที่สูงขึ้นหลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมงในเซลล์ MIA-PaCa สรุปได้ว่าสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์ (60-80 องศาเซลเซียส) ของ *Z. alatum* มีศักยภาพในการเป็นพิษของสาร cytotoxic lignans ที่สกัดได้จากสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์นั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด 4'O demethyl magnolin เป็น

สารประกอบใหม่จาก *Z. alatum* ดังนั้น *Z. alatum* สามารถสำรวจต่อไปได้สำหรับการพัฒนาายาต้านมะเร็ง

ในปี 2015 N.G. Das และคณะ[37] ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดยุงของ *Curcuma longa*, *Pogostemon heyneanus* และ *Z. limonella* essential oils สารยับยั้งยุงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดต่อของมนุษย์กับยุง โดยศึกษาฤทธิ์ต้านยุงของ *C.longa*, *P.heyneanus* และ *Z.limonella* essential oils ซึ่งมีประสิทธิภาพในการขับไล่ยุงของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิดได้รับการประเมินแยกกันและใช้ร่วมกันภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการและสภาวะ N, N-Diethylphenylacetamide (DEPA) และ dimethylphthalate (DMP) ใช้เพื่อเปรียบเทียบเวลาในการป้องกันส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย ในน้ำมันที่มีความเข้มข้น 20% น้ำมันหอมระเหยของ *C. longa*, *Z. limonella* และ *P. heyneanus* ให้เวลาในการป้องกันที่สมบูรณ์แบบ (CPTs) 96.2, 91.4 และ 123.4 นาทีตามลำดับต่อยุง *Aedes albopictus* ในห้องปฏิบัติการ ส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย 1: 1: 2 ให้วัดขึ้น CPT 329.4 และ 391.0 นาทีในห้องปฏิบัติการและทดลองภาคสนามตามลำดับ เพอร์เซ็นต์การเพิ่ม CPT สำหรับน้ำมันหอมระเหยมีค่าเท่ากับ 30 สำหรับ DMP และ 55 สำหรับ N, N-diethylphenylacetamide (DEPA) ฤทธิ์ในการยับยั้งฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์ในการพัฒนาทางเลือกที่ปลอดภัยสำหรับสารยับยั้งการสังเคราะห์เพื่อป้องกันยุง

ในปี 2016 K. Li และคณะ[38] ได้ทำการวิจัย *Z. bungeanum* (ZB) เป็นยาสมุนไพรจีน มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิดได้แก่ การป้องกันการเกิดเนื้องอก ป้องกันการอักเสบและจุลินทรีย์ อีกทั้งได้รับการใช้เพื่อรักษาโรคทางผิวหนังที่หลากหลาย เช่น โรคสะเก็ดเงิน

ในปี 2017 S. Luqman และคณะ[39] ได้ทำการศึกษา *Z. armatum* หรือ Timoor ถูกนำมาใช้ในระบบยาแผนโบราณที่แตกต่างกันเนื่องจากคุณสมบัติของอะโรมาติกและในการรักษาโรคมะเร็งโรคท้องร่วงและอหิวาตกโรค มีการตรวจสอบในปัจจุบันพบสารประกอบทางเคมีทั้ง 4 ชนิดคือ Tambulin , Prudomestin , Ombuin และ 3, 4, 5, 3', 4', 5' Hexahydroxydiphenyl ether ได้รับการแยกและตรวจวัดทางปริมาณจากผลไม้ เพื่อสำรวจกิจกรรมทางชีววิทยา นอกจากนี้ยังได้ศึกษาประสิทธิภาพเพิ่มเติมในด้านการยับยั้งการขยายตัวของเซลล์ , การต้านเชื้อจุลินทรีย์ และการต้านอนุมูลอิสระโดยจากทั้ง 4 ชนิดข้างต้นมีการพบ Tambulin มากที่สุด คือ 0.125% พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการขยายตัวของเซลล์ (IC<sub>50</sub> 37.96±0.36 ถึง 48.7±0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสามารถยับยั้งการขยายตัวของเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งตับมะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งผิวหนัง

ในปี 2018 S. C. Kang และคณะ[40] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับโรคข้อเสื่อมหรือเรียกว่า osteoarthritis (OA) เป็นโรคข้ออักเสบที่พบมากที่สุดซึ่งเกิดจากความเสียหายที่เกิดจากความเสื่อมของกระดูกอ่อนซึ่งส่วนใหญ่จะป้องกันข้อต่อที่นำไปสู่การอักเสบและอาการปวด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการรักษาด้วย ZPE-LR (90% EtOH) สารสกัดจาก *Z. piperitum* ต่อความรุนแรงของอาการปวดและการอักเสบ โดยใช้หนูที่เป็นสาเหตุของโรคข้ออักเสบ MIA (monosodiumidoacetate-induced arthritis)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

##### 3.1.1 สารเคมี

1. เฮกเซน (Hexane)	เกรตวึเคราะห์ บริษัทเคมโซน จำกัด
2. เอทิล แอซิเตต (Ethyl Acetate)	เกรตวึเคราะห์ บริษัทเคมโซน จำกัด
3. แอนนิซาลดีไฮด์ (Anisaldehyde)	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
4. แอซิโตน (Acetone)	เกรตวึเคราะห์ บริษัทเคมโซน จำกัด
5. เอทานอล (Ethanol)	เกรตวึเคราะห์ Carlo Erba reagent
6. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. Sulfuric Acid)	เกรตวึเคราะห์ Carlo Erba reagent
7. น้ำกลั่น (Distilled water)	
8. 2,4-dinitrophenyl hydrazine	เกรตวึเคราะห์ Fluka
9. Hydrazine	เกรตวึเคราะห์ Fluka
10. 2,4,6-trimethoxy acetophenone	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
11. โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate)	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
12. 4-chlorobenzhydrazide	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
13. Phenylhydrazine	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
14. Phenylacetic hydrazine	เกรตวึเคราะห์ Aldrich
15. ทวิน 80 (Tween®80)	เกรตวึเคราะห์ Sigma

##### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. โหลแก้วขนาดใหญ่
2. ผ้าขาวบาง
3. กระดาษฟอยด์สำหรับปิดภาชนะ
4. ขวดก้นกลม
5. ขวดรูปชมพู่
6. หลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. กระบอกตวง
8. ปิเปต
9. ปีกเกอร์
10. แห้งแก้วคน
11. หลอดหยด
12. แผ่นกระดาษกรอง
13. กรวยกรอง
14. กระดาษกรอง
15. ซ้อนตักสาร
16. Capillary tube
17. Thin Layer Chromatography Tank
18. Thin Layer Chromatography Plate (TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>) Merck
19. เครื่องระเหยสุญญากาศ BüCHI รุ่น B-481
20. Aspirator
21. ชุดปั๊ม
22. Hot Plate
23. Stand + Clamp
24. Column
25. Forceps
26. Auto pipet
27. Vial
28. สำลี
29. สายยาง
30. กรวยแยก
31. เครื่องปั่นกวน
32. พาราฟิล์ม
33. เครื่อง Ultra Violet CAMAG (254 nm)
34. เครื่อง Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Bruker Avance III HD (500 MHz)
35. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 36. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

## 3.2 ขั้นตอนการวิจัย

การวิจัยแบ่งออกเป็น 4 การทดลอง กล่าวโดยสรุปดังนี้

### 3.2.1 การทดลองที่ 1 การแยกแชนทอกซิลิน 1 จากผลกำจัตตัน

#### 1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากเมล็ดกำจัตตันแห้ง

นำผลกำจัตตันแห้งจากบริษัทไร่ทิพย์มาบดด้วยเครื่องบดละเอียด ชั่งน้ำหนัก 5 กิโลกรัม ลดการระปนของสารที่มีขี้ด้า เช่นไขมันหรือแว็กซ์ และเพื่อความสะดวกในการแยกแชนทอกซิลิน 1 ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี จะทำการแช่ผลกำจัตตันละเอียดในตัวทำละลายเฮกเซน โดยแช่ในภาชนะปิด ทำการคนทุกวันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 ตามลำดับ แยกกากและสารสกัดเฮกเซน จากนั้นนำกากผลกำจัตตันไปแช่ในตัวทำละลายเอทิล แอซิเตตเป็นเวลา 7 วันเช่นกัน แล้วนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 ตามลำดับ แยกกากและสารสกัดเอทิล แอซิเตต นำสารสกัดเอทิล แอซิเตตมาระเหยตัวทำละลายออกจนแห้งสนิทด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบเอทิลแอซิเตต

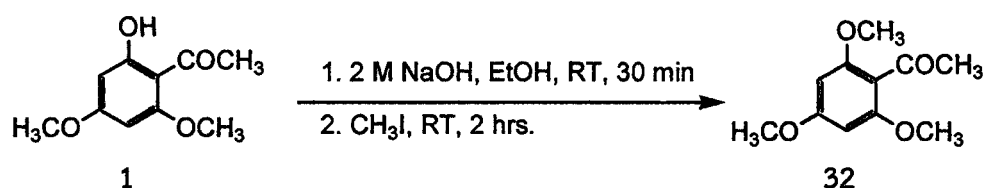
#### 2. การแยกแชนทอกซิลินจากผลกำจัตตัน

นำสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตตมาแยกแชนทอกซิลิน 1 ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี แชนทอกซิลิน 1 ถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยเฮกเซน และทำการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบแชนทอกซิลิน 1 ดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น ( $\lambda$ ) 254 นาโนเมตร และเมื่อทดสอบด้วย anisaldehyde reagent ให้สีเป็นจุดสีส้ม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 196 องศาเซลเซียส ยืนยันโครงสร้างของแชนทอกซิลิน 1 ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR สเปนโทโรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลจากงานวิจัยของ E. Valenciennes และคณะ[41]

### 3.2.2 การทดลองที่ 2 การเตรียมสารตั้งต้นเพื่อใช้ในการเตรียมอนุพันธ์ไฮดราโซน

ขั้นตอนในการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของแชนทอกซิลิน 1 ให้เป็นหมู่เมทิล อีเทอร์

### แผนภาพที่ 3.1



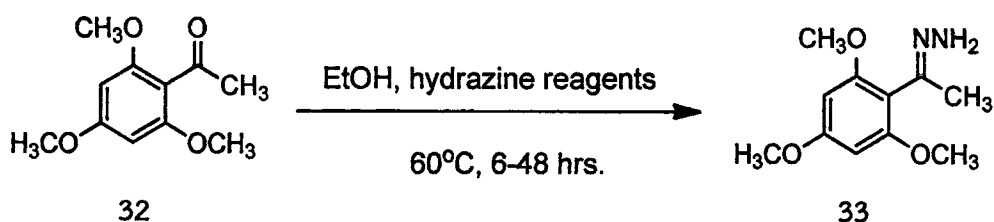
1. ชั่งแชนทอกซิลิน 1 242.3 มิลลิกรัม (1.24 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
2. เติมสารละลาย 2 โมล ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 มิลลิลิตร ลงในสารละลายข้อ 1 ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
3. เติมเมทิล ไอโอดัด 0.3 มิลลิลิตร (3.54 มิลลิโมล) ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. ทดสอบการดำเนินของปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นในระบบตัวทำละลายของเฮกเซนผสมกับเอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 8 : 2
5. หลังจากปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้ว เทสารละลายลงในน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ด้วยเอทิล แอซิเตต (2x10 มิลลิลิตร)
6. สกัดล้างชั้นเอทิล แอซิเตต ด้วยสารละลาย 10% กรดไฮโดรคลอริก
7. กำจัดน้ำออกจากชั้นเอทิล แอซิเตตด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ จากนั้นกรองแยกโซเดียมซัลเฟต แล้วระเหยเอทิล แอซิเตต ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ
8. นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ระบบของตัวชะสารคือ เฮกเซนต่อเอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 97 : 2 และเพิ่มอัตราส่วนของเอทิล แอซิเตตเป็น 5 และ 10 ตามลำดับจนได้สารอนุพันธ์ของแชนทอกซิลิน 1 คือ สาร 32
9. ทำการตรวจสอบโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

#### 3.2.3 การทดลองที่ 3 การเตรียมอนุพันธ์ไฮดราโซน

วิธีการทดลองทั่วไปในการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซน แสดงในแผนภาพที่ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## แผนภาพที่ 3.2



1. ละลาย 2,4,6-trimethoxy acetophenone 32 123.0 มิลลิกรัม (1 มิลลิโมล) ด้วยเอทานอล 20 มิลลิลิตร
2. เติมไฮดราซีน 22.4 มิลลิกรัม (1 มิลลิโมล) ลงในสารละลายในข้อ 1 ที่อุณหภูมิห้อง ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
3. จากนั้นให้ความร้อนที่ 60 °C ของผสมเป็นเวลา 6-48 ชั่วโมง (เวลาที่ใช้ในการทดลองขึ้นกับรีเอเจนต์ที่ใช้)
4. ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 6 : 4 โดยปริมาตร เปรียบเทียบกับ 2,4,6-trimethoxy acetophenone 32 สังเกตการเกิดปฏิกิริยาโดยพิจารณาจุดของสารตั้งต้นเจือจางมากที่สุดหรือไม่ปรากฏจุดของสารตั้งต้น
5. หยุดการปั่นกวน และเทของผสมลงในน้ำแข็งที่ผสมกรดไฮโดรคลอริก 3 หยด สารผลิตภัณฑ์จะตกตะกอนเป็นของแข็ง
6. กรองสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยการกรองแบบลดความดัน และทำการตกผลึกใหม่ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม
7. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1-4 โดยเปลี่ยนจากไฮดราซีนเป็นรีเอเจนต์ ดังต่อไปนี้

รีเอเจนต์	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
Hydrazine	22.4
2,4-dinitrophenyl hydrazine	144.1
4-chlorobenzhydrazine	161.1
Phenyl hydrazine	118.8
Phenylacetic hydrazide	131.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.4 การทดลองที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ของอนุพันธ์ไฮดรากลอนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test [43]

#### 1 การเตรียมสารละลายในน้ำของ 0.1% (v/v) ทวิน 80 (Tween® 80)

1.1 ปีเปิดทวิน 80 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ทำการปั่นกววนของผสมจนกระทั่งของผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกันหรือเป็นสารละลายใส

1.2 เทสารละลายทวิน 80 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.3 ปิดฝาขวดวัดปริมาตรและเขย่าขวดให้สารละลายเข้ากันจะได้สารละลาย (stock solution) ของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ของทวิน 80

#### 2 การเตรียมสารละลายของอนุพันธ์ไฮดรากลอน

การเตรียมสารละลายของอนุพันธ์ไฮดรากลอน โดยการเตรียมจากสารละลายของสารอนุพันธ์ตั้งต้น (Stock solution) โดยให้ความเข้มข้นของของสารอนุพันธ์ เท่ากับ 400 ppm จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นของของสารอนุพันธ์ด้วยสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ของทวิน 80 เป็น 200 100 50 และ 25 ppm โดยมีน้ำกลั่นและสารละลายทวิน 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ปีเปิดสารละลายในแต่ละความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด วางเมล็ดพืชทดสอบ ได้แก่ หญ้าข้าวหนวด (*Echinochloa crus-galli*) และผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor*) จำนวน 10 เมล็ดต่อขวด ปิดปากขวดด้วยฝาพลาสติก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

#### การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในแต่ละพืชทดสอบใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยนับจำนวนการงอกของเมล็ด วัดความยาวต้นและความยาวรากที่ 7 วันหลังทำการเพาะเมล็ด โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีแรดิคัล (radical) งอกพ้นออกมายาว 2 มิลลิเมตร เป็นเมล็ดที่งอก นับจำนวนความงอกของเมล็ด วัดความยาวต้น ความยาวรากและคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \frac{\text{shoot length \& root length}}{\text{control (Tween80)}} \times 100$$

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติและใช้แท่งบอกความคลาดเคลื่อน (error bar) บอกช่วงของความแปรปรวนของข้อมูลและใช้ในกราฟเพื่อระบุข้อผิดพลาดหรือความไม่แน่นอนในการวัดรายงาน เพื่อแสดงความน่าเชื่อถือต่อการทดลอง

### พืชทดสอบ

การประเมินกิจกรรมการกำจัดวัชพืช จะใช้เมล็ดพันธุ์ฝักโขมจีนจาก บริษัท ไทย Seed & Agriculture จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย และหญ้าข้าวนกเก็บเมล็ดพันธุ์จากทุ่งข้าว จังหวัดพิษณุโลก ประเทศไทย ในเดือนสิงหาคม 2559 การทดสอบความงอกของเมล็ดทั้งสองชนิดพบการงอก > 80 %



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

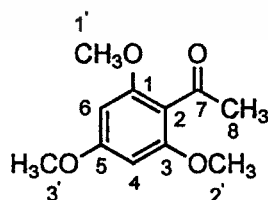
### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการแยกแชนทอกซิลิน 1 จากผลกำจัดต้นแห้ง

นำผลกำจัดต้นแห้ง 5000 กรัม แยกแชนทอกซิลิน 1 ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้เท่ากับ 22.6 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 0.45 แชนทอกซิลิน 1 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 196 องศาเซลเซียส ยืนยันโครงสร้างของแชนทอกซิลิน 1 ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR สเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลจากเอกสารอ้างอิง[41]

#### 4.2 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดรอกซีของแชนทอกซิลิน 1

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดรอกซีของแชนทอกซิลิน 1 ที่แยกได้จากผลกำจัดต้น โดยมีแนวความคิดคือการนำแชนทอกซิลิน 1 ทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซินและไฮดรอกซินที่มีหมู่แทนที่เป็นวงอะโรมาติก จากการทดลองพบว่าเมื่อนำแชนทอกซิลิน 1 มาทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซินโดยตรงจะไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการอีกทั้งยังเหลือแชนทอกซิลินในปริมาณที่มาก การที่แชนทอกซิลินเกิดปฏิกิริยาได้ยากนั้นอาจจะเป็นผลจากการการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คีโต ผู้วิจัยจึงได้ทำการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลให้เป็นหมู่เมทิล อีเทอร์ แล้วจึงนำมาทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซิน รีเอเจนต์ แต่เนื่องจากขั้นตอนในการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่เมทิล อีเทอร์ เกิดปฏิกิริยาได้สารข้างเคียงปนออกมาด้วย และเพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ 2,4,6-trimethoxy acetophenone 32 ของบริษัท Aldrich เป็นสารตั้งต้น



32

และได้ทำการพิสูจน์โครงสร้างของ 2,4,6-trimethoxy acetophenone 32 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR :  $\nu_{\max}$  1122 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1583 (C=C stretching ของพันธะคู่), 1693 (C=O stretching), 2841 และ 2941 (C-H stretching ของหมู่เมทิล) และ 3008 (C-H stretching ของอะโรมาติก)  $\text{cm}^{-1}$

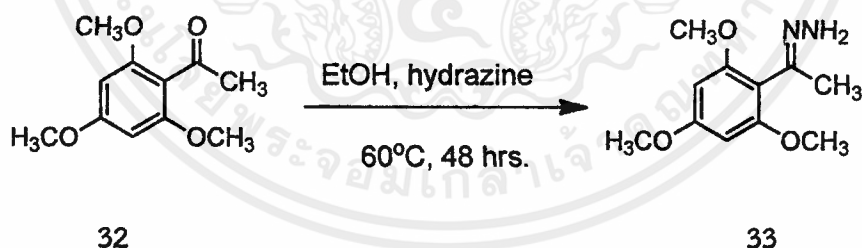
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  2.44 (3H, s, H-8), 3.77 (6H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.81, (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ) และ 6.09 (2H, s, H-4 และ H-6)

$^{13}\text{C}$  NMR (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  32.4 (C-8), 55.3 (C-3'), 55.7 (C-1' และ C-2'), 90.5 (C-4 และ C-6), 113.68 (C-2), 158.3 (C-5), 162.2 (C-1 และ C-3) และ 201.6 (C-7)

#### 4.2.1 การสังเคราะห์ (1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene)hydrazine 33

สาร 33 เตรียมจากการนำสาร 32 ทำปฏิกิริยากับไฮดราซีน โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 4.1

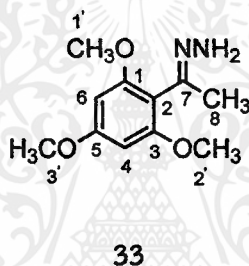


จากการทดลองพบว่า เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ เฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 60 : 40 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏเป็นจุดสีส้มของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.28 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 120-122 องศาเซลเซียส มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 88.98 และยืนยันโครงสร้าง 33 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR :  $\nu_{\max}$  1122 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1581 (C=C stretching ของพันธะคู่), 1602 (C-N stretching), 2839 (C-H stretching ของหมู่เมทิล), 3005 (C-H stretching ของอะโรมาติก) และ 3398 (N-H stretching)  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 33 พบสัญญาณที่  $\delta$  2.09 (3H, s, H-8), 3.78 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.82, (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.26 (2H, -NH<sub>2</sub>) และ 6.16 (2H, s, H-4 และ H-6)

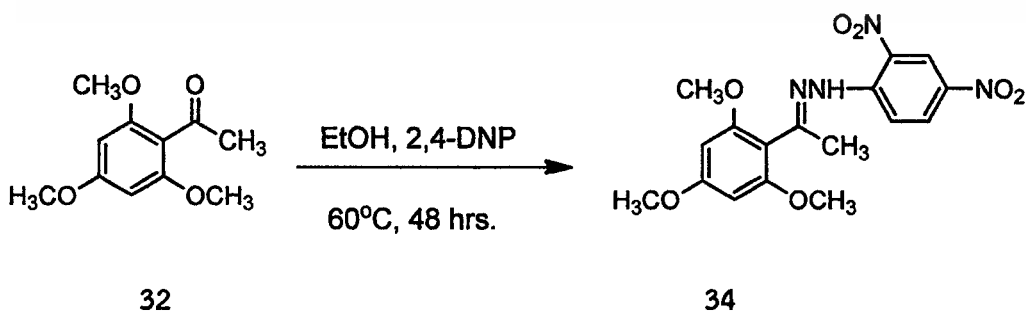
$^{13}\text{C}$  NMR (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 33 พบสัญญาณที่  $\delta$  23.5 (C-8), 55.4 (C-3'), 55.7 (C-1' และ C-2'), 90.8 (C-4 และ C-6), 104.6 (C-2), 146.1 (C-5), 157.4 (C-1 และ C-3) และ 162.1 (C-7)



#### 4.2.2 การสังเคราะห์ 1-(2,4-dinitrophenyl)-2-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene)hydrazine 34

สาร 34 เตรียมจากการนำสาร 32 ทำปฏิกิริยากับ 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNP) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 4.2



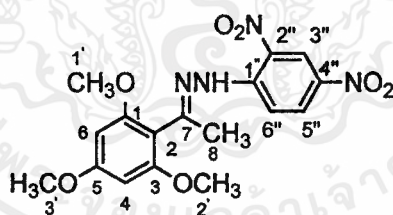
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ เฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 60 : 40 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏเป็นจุดสีส้มของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.45 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 115-118 องศาเซลเซียส มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 41.83 และยืนยันโครงสร้าง 34 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR  $\nu_{\max}$  1124 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1327 (N-O stretching), 1585 (C=C ของพันธะคู่), 1614 (C-N stretching), 2839 (C-H stretching ของหมู่เมทิล), 3009 (C-H stretching ของอะโรมาติก) และ 3319 (N-H stretching)  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 34 พบสัญญาณที่  $\delta$  2.30 (3H, s, H-8), 3.79 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.85, (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.17 (2H, s, H-4 และ H-6), 7.97 (1H, d, H-6''), 8.24 (1H, d, H-5''), 9.14 (1H, d, H-3'')

$^{13}\text{C}$  NMR (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 34 พบสัญญาณที่  $\delta$  18.3 (C-8), 55.4 (C-3'), 55.9 (C-1' และ C-2'), 90.9 (C-4 และ C-6), 110.4 (C-2), 117.0 (C-3''), 123.4 (C-5''), 129.1 (C-6''), 137.7 (C-1''), 145.2 (C-4''), 152.0 (C-2''), 158.7 (C-1, C-3 และ C-5) และ 161.8 (C-7)



34

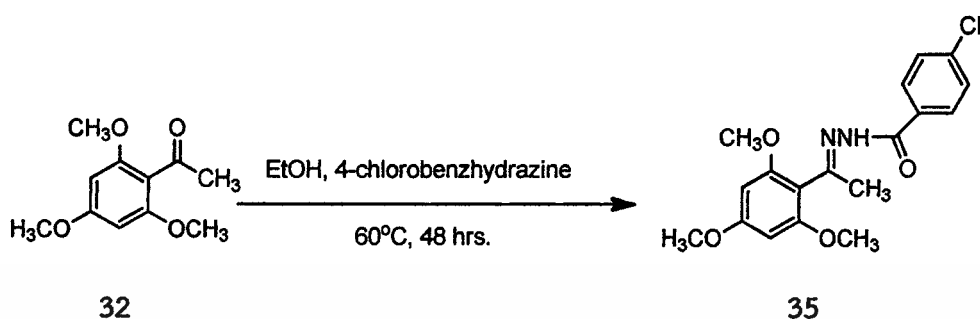
#### 4.2.3 การสังเคราะห์ 4-chloro-N'-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene)

##### benzohydrazide 35

สาร 35 เตรียมจากการนำสาร 32 ทำปฏิกิริยากับ 4-chlorobenzyl hydrazine โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## แผนภาพที่ 4.3



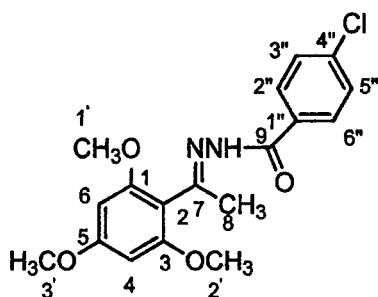
จากการทดลองพบว่า เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ เฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 60 : 40 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏเป็นจุดสีเหลืองส้มของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.48 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 115-118 องศาเซลเซียส มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 27.75 และยืนยันโครงสร้าง 35 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR  $\nu_{\text{max}}$  813 (C-Cl stretching), 1126 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1581 (C=C stretching ของพันธะคู่), 1602 (C=O stretching), 1681 (C-N stretching), 3007 (C-H stretching ของอะโรมาติก) และ 3346 (N-H stretching)  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 35 พบสัญญาณที่  $\delta$  2.46 (3H, s, H-8), 3.72 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.76, (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.77 (3H, s, H-9), 6.19 (2H, s, H-4 และ H-6), 7.17 (2H, d, H-2'' และ H-6''), 7.44 (2H, d, H-3'' และ H-5'')

$^{13}\text{C NMR}$  (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 35 พบสัญญาณที่  $\delta$  23.8 (C-8), 55.6 (C-3'), 55.9 (C-1' และ C-2'), 56.2 (C-9), 91.0 (C-4 และ C-6), 104.6 (C-2), 119.0 (C-2'' และ C-6''), 129.1 (C-5''), 129.1 (C-3'' และ C-5''), 140.4 (C-1''), 145.8 (C-4''), 158.0 (C-1' และ C-2'), 161.2 (C-9) และ 162.4 (C-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



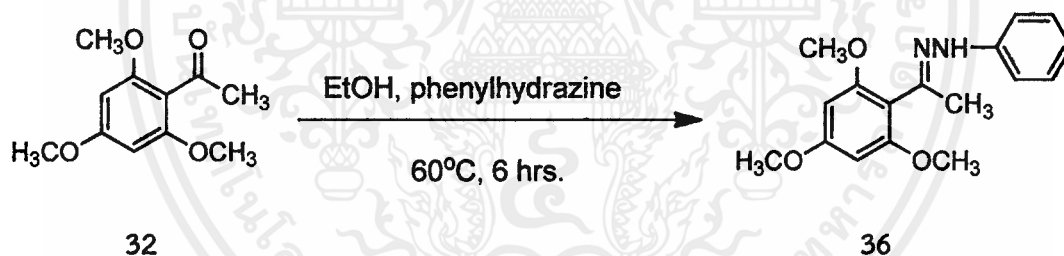
35

#### 4.2.4 การสังเคราะห์ 1-phenyl-2-(1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethylidene)

hydrazine 36

สาร 36 เตรียมจากการนำสาร 32 ทำปฏิกิริยากับ phenylhydrazine โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 4.4

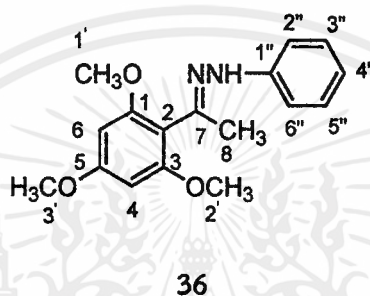


จากการทดลองพบว่า เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ เฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 60 : 40 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏเป็นจุดสีเขียวของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.50 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 113-115 องศาเซลเซียส มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 69.49 และยืนยันโครงสร้าง 36 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR  $\nu_{\max}$  1124 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1589 (C-N stretching), 2837 และ 2939 (C-H stretching ของหมู่เมทิล), 3008 (C-H stretching ของอะโรมาติก) และ 3325 (N-H stretching)  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 36 พบสัญญาณที่  $\delta$  2.29 (3H, s, H-8), 3.72 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.86, (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.16-6.18 (2H, s, H-4, H-6 และ H-4''), 7.26 (2H, d, H-3'' และ H-5'') และ 7.34 (2H, d, H-2'' และ H-6'')

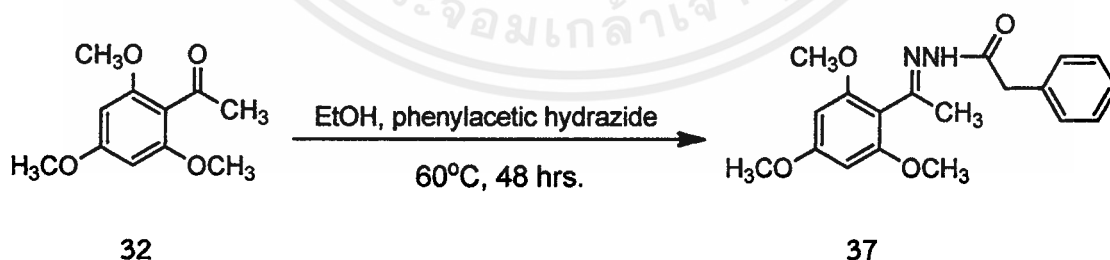
$^{13}\text{C}$  NMR (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 36 พบสัญญาณที่  $\delta$  24.0 (C-8), 55.9 (C-1', C-2' และ C-3'), 91.0 (C-4 และ C-6), 128.5 (C-4''), 129.0 (C-3'' และ C-5''), 159.1 (C-1'') และ 163.1 (C-7)



#### 4.2.5 การสังเคราะห์ N'-(1-(2,4-dimethoxy-6-methylphenyl)ethylidene)-2-phenylacetohydrazide 37

สาร 37 เตรียมจากการนำสาร 32 ทำปฏิกิริยากับ phenylacetic hydrazide โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 4.5



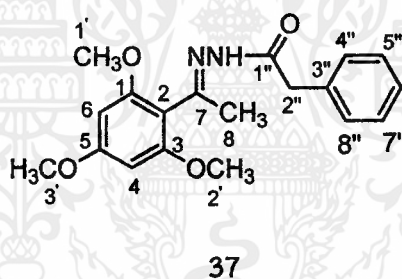
จากการทดลองพบว่า เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ เฮกเซน : เอทิล แอซิเตต อัตราส่วนเท่ากับ 60 : 40 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะ

ปรากฏเป็นจุดสีเหลืองของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.35 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 37.95 และยืนยันโครงสร้าง 37 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

IR  $\nu_{\max}$  1124 (C-O stretching ของอีเทอร์), 1581 (C=C stretching ของพันธะคู่), 1602 (C=O stretching), 1674 (C-N stretching), 2839 (C-H stretching ของหมู่เมทิล), 3009 (C-H stretching ของอะโรมาติก) และ 3317 (N-H stretching)  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 37 พบสัญญาณที่  $\delta$  2.43 (3H, s, H-8), 3.77 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.81, (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.19 (2H, s, H-4 และ H-6), 7.15-7.34 (5H, m, H-4'', H-5'', H-6'', H-7'' และ H-8'')

$^{13}\text{C}$  NMR (125.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 37 พบสัญญาณที่  $\delta$  23.9 (C-8), 43.0 (C-2''), 55.6 (C-3'), 55.8 (C-1' และ C-2'), 90.9 (C-4 และ C-6), 103.1 (C-2), 126.6 (C-6''), 128.4 (C-5''), 129.0 (C-7''), 129.6 (C-8''), 157.0 (C-1), 157.6 (C-3), 158.8 (C-5), 163.0 (C-7) และ 162.4 (C-1'')



จากการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซนจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มความแตกต่างของหมู่แทนที่ผลได้ร้อยละของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จะแตกต่างกันโดยมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเทียบกับสาร 33 ทั้งนี้เนื่องจากความเกะกะของหมู่แทนที่ของไฮดราซีนรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

#### 4.3 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของสาร 32 และอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ด้วยวิธี Vial Test

การทดสอบฤทธิ์ของสารอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ เลือกใช้พืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*E. crus-galli*) เป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และ ผักโขมจีน (*A. tricolor*) เป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงคู่ ดำเนินการทดลองที่ความเข้มข้น 400 200

100 50 และ 25 ppm ด้วยวิธี Vial test โดยมีสารละลาย 0.1% (v/v) ทวิน 80 เป็นชุดควบคุม สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

#### 4.3.1 ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก

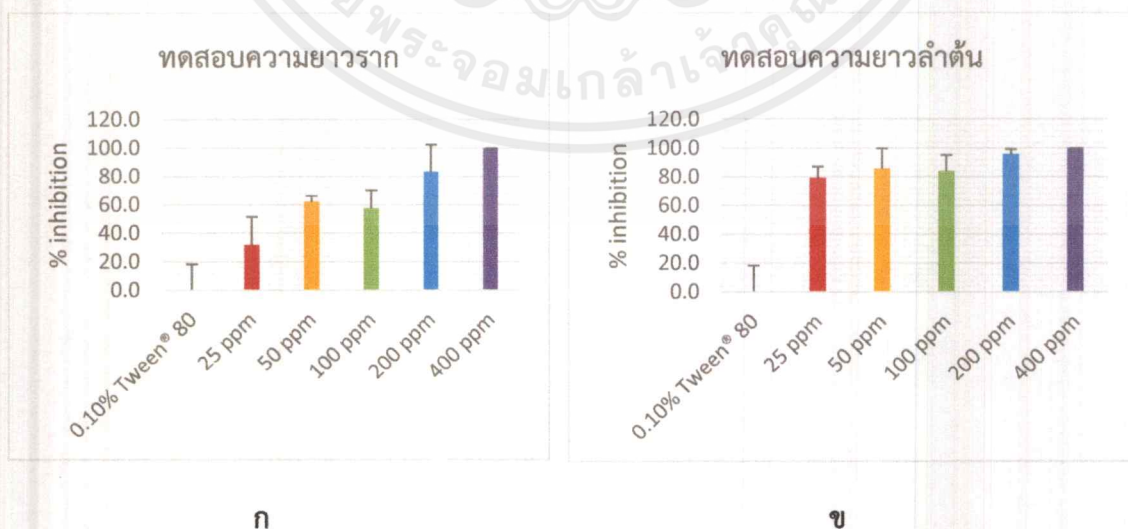
##### ผลต่อการงอกของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.1 ค พบว่าสาร 32 ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm มีผลต่อการงอกของเมล็ดผักโขมจีน สามารถยับยั้งได้ 51.43 34.28 48.57 71.43 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm

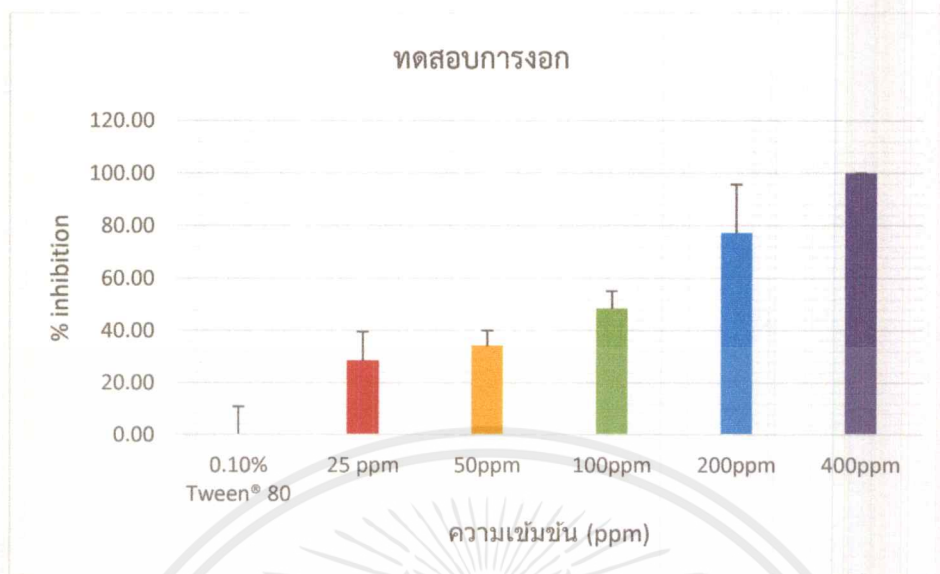
##### ผลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.1 ก พบว่า ในด้านความยาวรากของผักโขมจีน สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของราก โดยที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm สามารถยับยั้งได้ 62.2 เปอร์เซ็นต์และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm

จากรูปที่ 4.1 ข พบว่า ในด้านความยาวลำต้นของผักโขมจีน สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm สามารถยับยั้งได้ 79.2 เปอร์เซ็นต์และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.1** ผลของการยับยั้งต่อการเจริญเติบโตของราก (ก) ลำต้น (ข) และการยับยั้งการงอกของเมล็ดผัก  
โคมจีน (ค)



**รูปที่ 4.2** ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโคมจีนโดยวิธี Vial Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

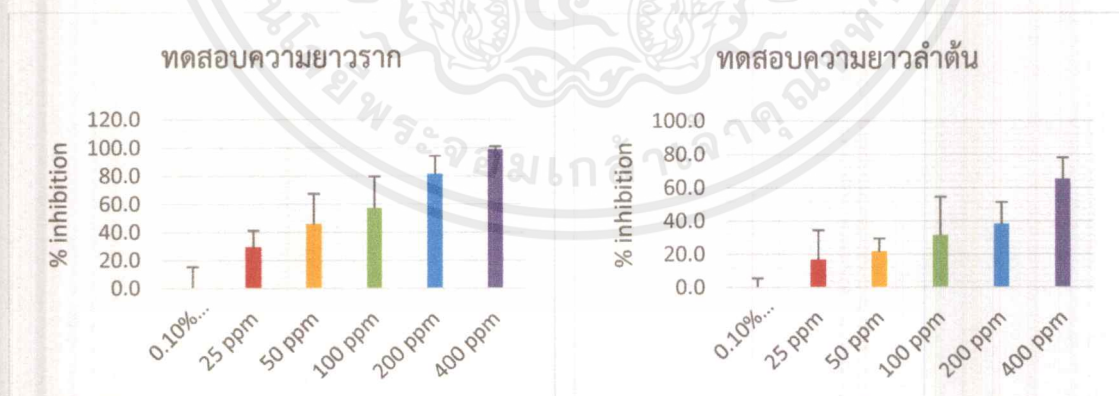
### ผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.3 ค พบว่าสาร 32 ที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm มีผลต่อการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก สามารถยับยั้งได้ 0.71 2.85 2.85 14.29 และ 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยจะสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 400 ppm

### ผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

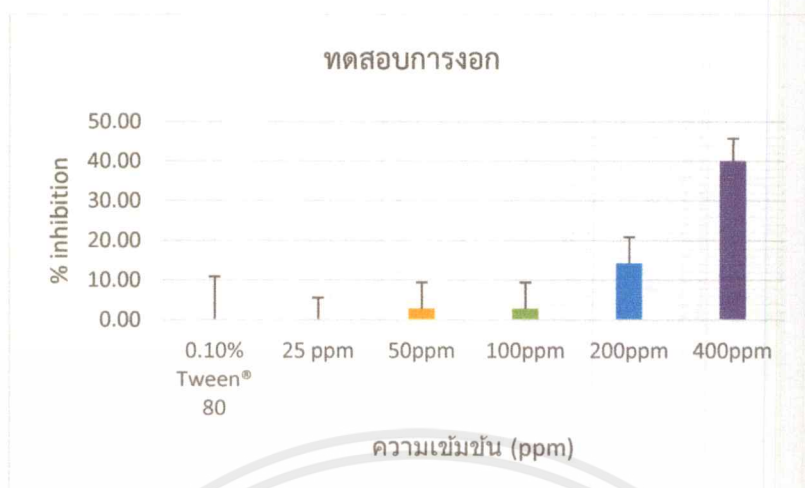
จากรูปที่ 4.3 ก พบว่า ในด้านความยาวรากของหญ้าข้าวนก สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ 29.4 45.9 57.4 81.4 และ 98.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm

จากรูปที่ 4.3 ข พบว่า ในด้านความยาวลำต้นของหญ้าข้าวนก สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 100 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ 16.7 21.7 31.7 38.3 และ 65.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm



ก

ข



**รูปที่ 4.3** ผลของการยับยั้งสาร 32 ต่อการเจริญเติบโตของราก (ก) ลำต้น (ข) และการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก (ค)



**รูปที่ 4.4** ผลของสาร 32 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกโดยวิธี Vial Test

#### 4.3.2 ผลของสาร 33-37 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

##### ผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

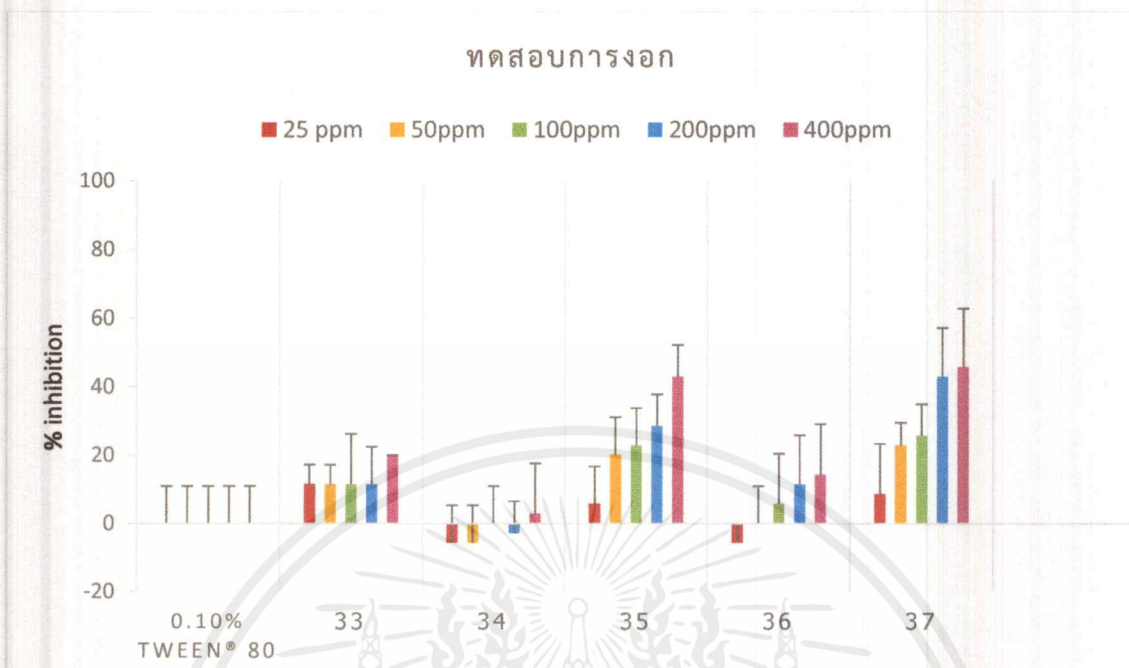
ผลการยับยั้งของสาร 33 34 35 36 และ 37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 200 100 50 และ 25 ppm ต่อหญ้าข้าวนก (พืชทดสอบใบเลี้ยงเดี่ยว) จากรูปที่ 4.5 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกที่ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งการงอกได้ที่ 45.71 เปอร์เซ็นต์

รองลงมาคือสาร 35 ที่ 42.85 เปอร์เซ็นต์ สารทั้งสองสามารถยับยั้งการงอกได้ดีตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ขึ้นไป สำหรับสาร 36 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ที่ 14.81 เปอร์เซ็นต์ สาร 33 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 20 เปอร์เซ็นต์และสาร 34 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้เพียง 2.86 เปอร์เซ็นต์ จึงกล่าวได้ว่า สาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก

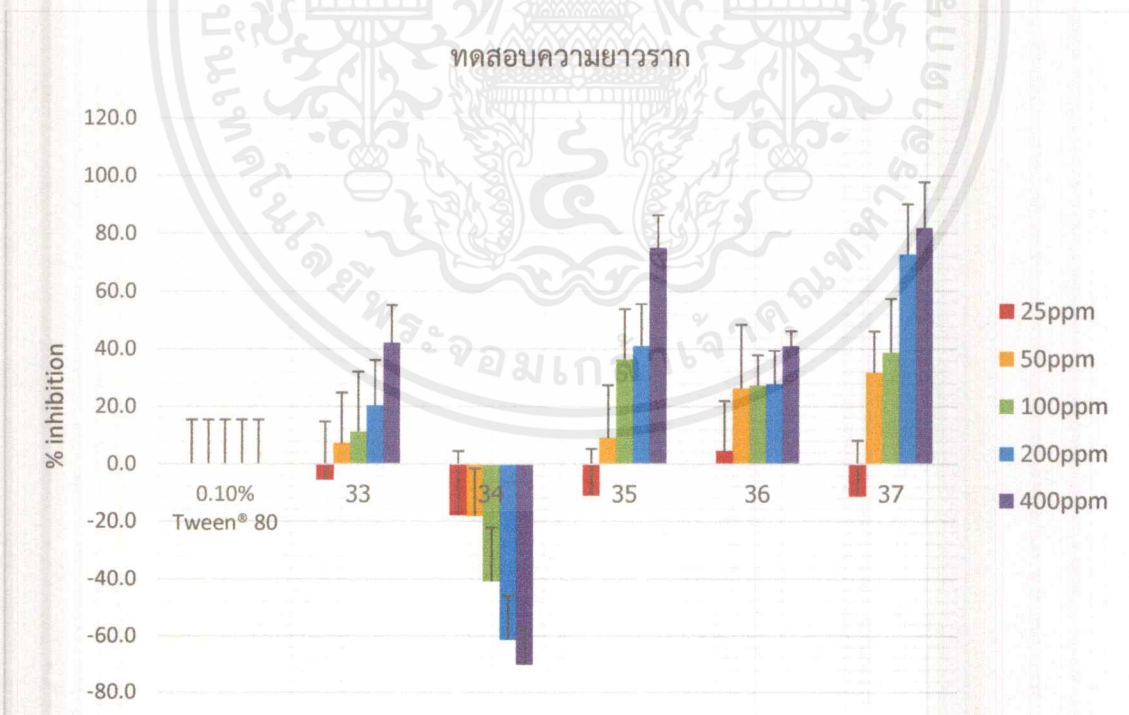
#### ผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.6 ในส่วนของความยาวราก พบว่าสาร 33 35 36 และ 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm โดยสาร 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก 81.8 เปอร์เซ็นต์ สาร 35 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก 75 เปอร์เซ็นต์ โดยสารทั้งสองสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ดีตั้งแต่ระดับความเข้มข้นที่ 50 ppm ขึ้นไป สาร 36 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 40.9 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ดีตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ขึ้นไป สาร 33 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 42.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นอื่นของสาร 33 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกและ สาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากต้นหญ้าข้าวนกอย่างมีนัยสำคัญ

จากรูปที่ 4.7 ในส่วนของความยาวลำต้น พบว่าสาร 33 35 36 และ 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm โดยสาร 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ 70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสาร 35 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ 51.4 เปอร์เซ็นต์ สาร 33 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ 60 เปอร์เซ็นต์ สาร 36 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุดที่ 15.7 เปอร์เซ็นต์ โดยสาร 33 35 36 และ 37 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกได้ดีตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ขึ้นไป ส่วนสาร 34 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ได้เพียง 13.6 เปอร์เซ็นต์ จึงถือว่าสาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวลำต้นหญ้าข้าวนกอย่างมีนัยสำคัญ

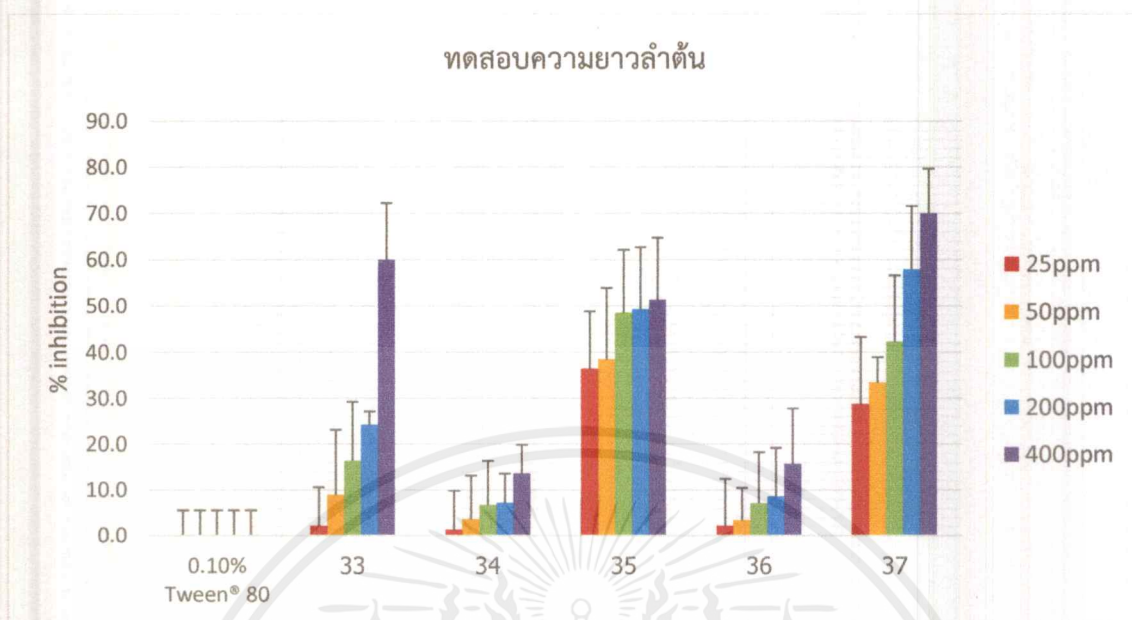


**รูปที่ 4.5** ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก



**รูปที่ 4.6** ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของรากหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.7** ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของลำต้นหญ้าข้าวนก



**รูปที่ 4.8** ผลของสาร 33-37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ต่อเมล็ดหญ้าข้าวนก ทดสอบโดยวิธี Vial Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.3 ผลของสาร 33-37 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

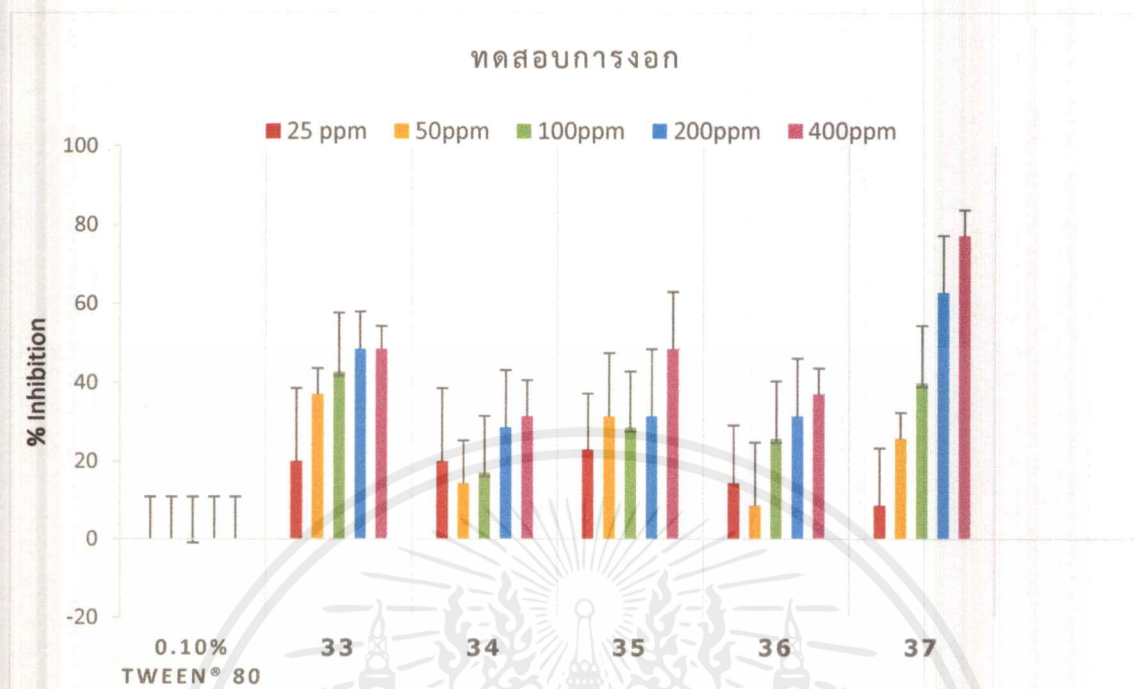
#### ผลต่อการงอกของผักโขมจีน

ผลการยับยั้งของสาร 33, 34, 35, 36 และ 37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 200 100 50 และ 25 ppm ต่อผักโขมจีน (พืชทดสอบใบเลี้ยงคู่) จากรูปที่ 4.8 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 33, 34, 35, 36 และ 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้ดีที่สุด โดยสาร 37 สามารถยับยั้งการงอกได้ดีที่สุดที่ 77.14 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสาร 33 และสาร 35 ยับยั้งได้ 48.57 เปอร์เซ็นต์ สาร 36 ยับยั้งได้ 37.14 เปอร์เซ็นต์ และสาร 34 ที่ 31.42 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.9

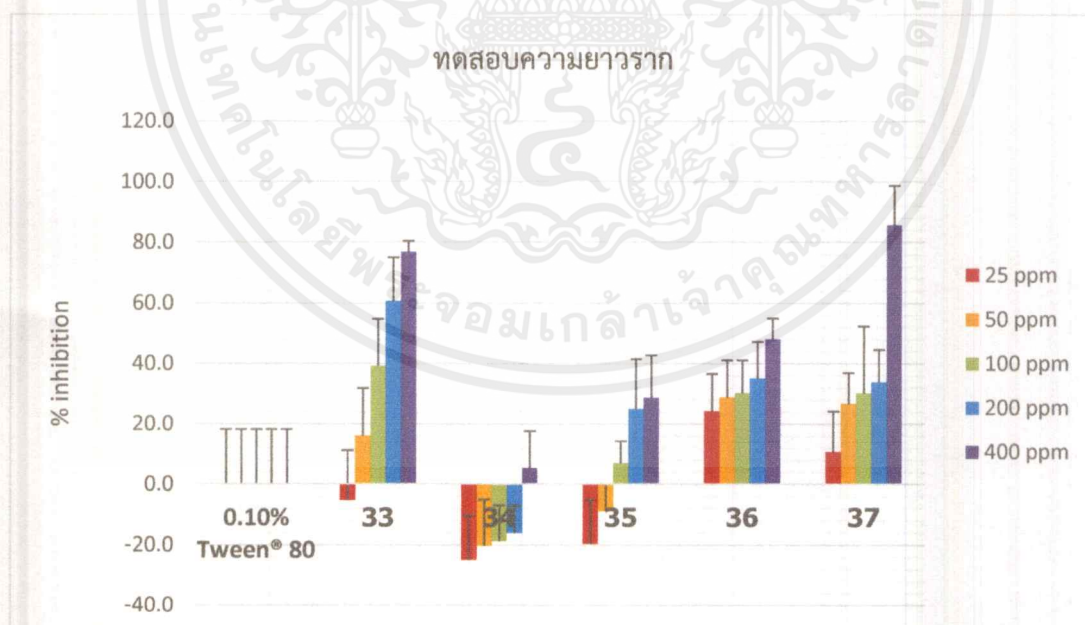
#### ผลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.10 ในส่วนของความยาวราก พบว่าสาร 33, 35, 36 และ 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm โดยสาร 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 85.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นที่ 100 ppm ขึ้นไป สาร 33 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 76.8 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นที่ 100 ppm ขึ้นไป สาร 36 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 48.2 เปอร์เซ็นต์ สาร 35 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากที่ 28.6 เปอร์เซ็นต์ และสาร 34 ไม่สามารถยับยั้งความยาวของต้นผักโขมจีนได้อย่างมีนัยสำคัญ

จากรูปที่ 4.11 ในส่วนของความยาวลำต้น พบว่าสาร 33, 35, 36 และ 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm โดยสาร 37 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีนได้ดีที่สุดที่ 80.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งความยาวลำต้นได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป รองลงมาคือสาร 33 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีนได้ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งความยาวลำต้นได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ขึ้นไป สาร 35 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีนที่ 48.7 เปอร์เซ็นต์ สาร 36 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีนได้ดีที่สุดที่ 21.5 เปอร์เซ็นต์ และสาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีนอย่างมีนัยสำคัญ

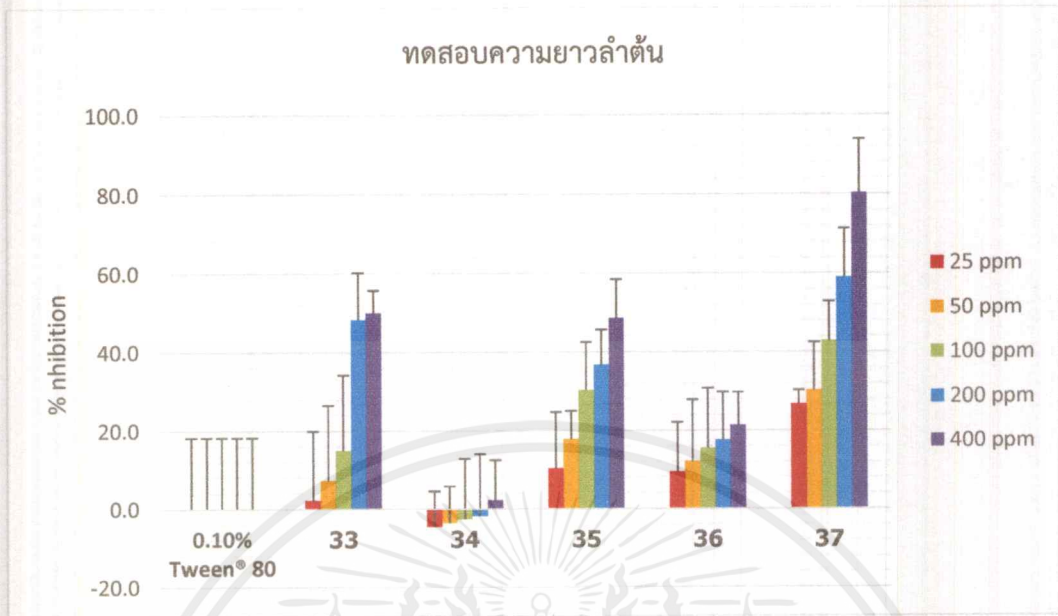


รูปที่ 4.9 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการงอกของเมล็ดผักโขมจีน



รูปที่ 4.10 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของรากผักโขมจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ผลของการยับยั้งสาร 33-37 ต่อการเจริญเติบโตของลำต้นผักโขมจีน



รูปที่ 4.12 ผลของสาร 33-37 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ต่อเมล็ดผักโขมจีนทดสอบ โดยวิธี Vial Test

จากการทดลองอาจกล่าวได้ว่าอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 มีผลต่อผักโขมจีนมากกว่าหญ้าข้าวนก และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นมากขึ้นจะมีผลต่อการยับยั้งงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากขึ้น โดยสาร 37 จะมีผลต่อพืชทดสอบทั้งสองชนิดมากที่สุด ในขณะที่สาร 34 มีผลต่อพืชทดสอบทั้งสองชนิดน้อยที่สุด

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

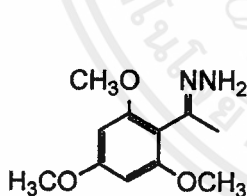
จากความสนใจศึกษาของผู้วิจัยเกี่ยวกับการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงฟังก์ชันของสารแซนโทกซิลิน 1 จึงได้เลือกสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซนของแซนโทกซิลิน 1 และนำไปทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ ผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก สรุปผลการวิจัยได้ผลดังนี้

#### 5.1 การแยกแซนโทกซิลิน 1 จากผลกำจัดต้นแห้ง

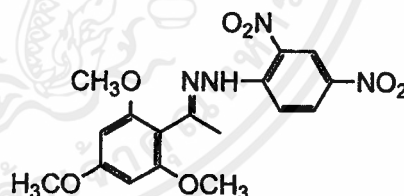
สกัดแซนโทกซิลินจากผลกำจัดต้นแห้งได้ 22.1 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 0.452

#### 5.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37

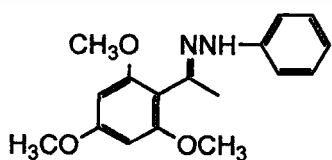
โครงสร้างของอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่าโครงสร้างของสารอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้มีความถูกต้อง มีผลได้ร้อยละของสาร 33 34 35 36 และ 37 เท่ากับ 88.98, 41.83, 27.75, 69.49 และ 37.95 ตามลำดับ สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ไฮดราโซนของแซนโทกซิลินแสดงได้ดังนี้



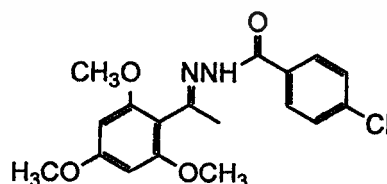
33



34

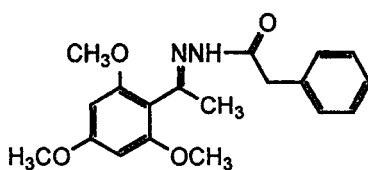


35



36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



37

### 5.3 การทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบของสาร 32 และอนุพันธ์ไฮโดรโซน 33–37 ด้วยวิธี Vial Test

#### 5.3.1 การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสาร 32 ต่อผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก

ในด้านของเมล็ดผักโขมจีนพบว่า สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกและยับยั้งการเจริญเติบโตทั้งความยาวราก ลำต้น ได้ดีที่สุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกได้ดีตั้งแต่ความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป ยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวรากตั้งแต่ 50 ppm ขึ้นไป และยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นตั้งแต่ 25 ppm ขึ้นไป ทั้งนี้สาร 32 ละลายน้ำได้น้อย การใส่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ทวิน 80 ทำให้สารสามารถกระจายตัวในน้ำได้ดีขึ้น และไม่ได้ส่งผลต่อการงอกหรือการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ในด้านของเมล็ดหญ้าข้าวนกพบว่า สาร 32 ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ดีที่สุดที่ 40.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวราก 98.9 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นได้ดีที่สุดที่ 65.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอก ยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวรากและยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นได้ตั้งแต่ 200 ppm ขึ้นไป

#### 5.3.2 การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสาร 33–37 ต่อผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก

ในด้านของเมล็ดผักโขมจีน การทดสอบผลของสารอนุพันธ์ไฮโดรโซน 33–37 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ทดสอบในรูปของสารผสมกับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80 ที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm ได้ผลดังนี้

ในส่วนของกรยับยั้งการงอกพบว่า สาร 33-37 ให้ผลยับยั้งการงอกได้ดี ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สารที่ให้ผลการยับยั้งการงอกดีที่สุดคือ สาร 37 รองลงมาคือ 33 35 36 และ 34 ตามลำดับ

ในส่วนของการยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากพบว่า สาร 33 35 และ 37 ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากได้ดี ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สารที่ให้ผลการยับยั้งความยาวรากดีที่สุดคือ สาร 37 รองลงมาคือ สาร 33 36 และ 35 ตามลำดับ โดยสาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวรากของต้นผักโขมจีนอย่างมีนัยสำคัญ

ในส่วนของการยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวลำต้นพบว่า สาร 33 35 และ 37 ให้ผลการยับยั้งความยาวลำต้นได้ดีตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ขึ้นไป โดยสารที่ให้ผลการยับยั้งความยาวลำต้นดีที่สุดคือ สาร 37 รองลงมาคือ 33 และ 35 ตามลำดับ ส่วนสาร 34 กับ 36 สามารถยับยั้งความยาวลำต้นได้เพียงเล็กน้อย กล่าวได้ว่า สาร 34 และสาร 36 ไม่มีผลต่อการยับยั้งความลำ

จากผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 33-37 ยกเว้น สาร 34 มีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบโดยออกฤทธิ์กับผักโขมจีนได้ดีกว่าหญ้าข้าวนก โดยสาร 37 ให้ผลการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต่อพืชทดสอบได้ดีที่สุด

ในด้านของเมล็ดหญ้าข้าวนก การทดสอบผลของสารอนุพันธ์ไฮดราโซน 33-37 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ทดสอบในรูปของสารผสมกับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80 ที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 ppm ได้ผลดังนี้

ในส่วนของการยับยั้งการงอกพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 37 ให้ผลการยับยั้งการงอกได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สาร 35 33 และสาร 36 ตามลำดับ โดยสาร 34 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกอย่างมีนัยสำคัญ

ในส่วนของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตความยาวราก พบว่า สาร 33-37 ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตความยาวรากที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตความยาวรากได้ดีที่สุดคือสาร 37 รองลงมาคือสาร 33 35 และ 36 ตามลำดับ แต่สำหรับสาร 34 ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตความยาวรากของหญ้าข้าวนก

ในส่วนของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตความยาวลำต้น พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm สาร 37 ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นดีที่สุด โดยยับยั้งตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ขึ้นไป รองลงมาคือสาร 33 กับ 35 ส่วนสาร 36 กับ 34 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่น้อย จึงกล่าวได้ว่า สาร 34 กับสาร 36 ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวลำต้นอย่างมีนัยสำคัญ

## 5.4 ข้อเสนอแนะ

1. ทำการศึกษาผลของสารอนุพันธ์ไฮโดรราโซน 33-37 ต่อพืชทดสอบชนิดอื่นเพิ่มเติม
2. นำสารอนุพันธ์ไฮโดรราโซน 33-37 ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นเพิ่มเติม
3. เปลี่ยนชนิดของสารไฮโดรราซินให้มีหมู่แทนที่ที่หลากหลายขึ้นเช่น สายโซ่ตรง หรือมีหมู่แทนที่เป็นกลุ่มให้อิเล็กตรอนหรือดึงอิเล็กตรอน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

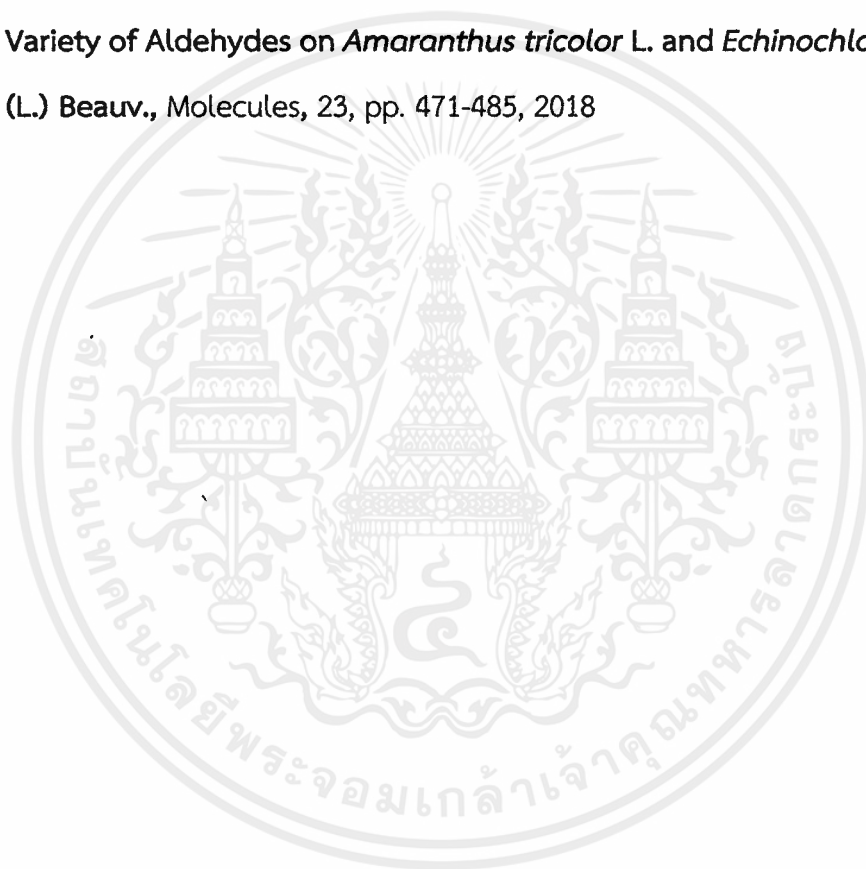
- [1] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.dss.go.th/images/st-article/bsp-4-2558-Natural.pdf> (วันที่ค้นข้อมูล : 14 มกราคม 2562)
- [2] R.M. Mohareb and F. AL-Omran. **Reaction of Pregnenolone with Cyanoacetylhydrazine: Novel Synthesis of Hydrazide-Hydrazone, Pyrazole, Pyridine, Thiazol Derivatives and Their Cytotoxicity Evaluations**, *Steroids*, 77, pp. 1551-1559, 2012.
- [3] C.M. Galanakis, In **Nutraceutical and Functional Food Components, Bioactive Compounds-Introductions**, 1<sup>st</sup> Edition, Elsevier, 2017.
- [4] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [www.vcharkarn.com/varticle/37351](http://www.vcharkarn.com/varticle/37351) (วันที่ค้นข้อมูล : 2 ธันวาคม 2561)
- [5] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. “**ศักยภาพการใช้สารสกัดจากเสม็ดเพื่อควบคุมวัชพืช**”. เข้าถึงได้จาก : <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=24125> (วันที่ค้นข้อมูล : 17 ธันวาคม 2561)
- [6] E.L. Rice, **Allelopathy**, 2<sup>nd</sup> Edition, Academic Press, New York, 422, 1984.
- [7] A. R. Putnam, **Weed Allelopathy**, In Duke, S. O. (Ed.), **Weed Physiology, Reproduction and Ecophysiology** (Volume 1, pp. 131-155). CRC Press, 1985.
- [8] A. Fitter, **Making Allelopathy Respectable**,” *Science*, 301, pp. 1337-1338, 2013.
- [9] Inderjit, Duke SO, “**Ecophysiological aspects of allelopathy**,” *Planta*. Volume 217, Issue 4, pp. 529–539, 2003.

- [19] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. “Paper Chromatography”. เข้าถึงได้จาก : [http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM118\(48\)/CM118\(48\)-1.pdf](http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM118(48)/CM118(48)-1.pdf) (วันที่ค้นข้อมูล : 7 ธันวาคม 2561)
- [20] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. หนังสือปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. หน้า 60-61 เข้าถึงได้จาก : <http://chem.sci.ubu.ac.th/e-learning/1102130%20Analytical/lab/%E0%B8%9B%E0%B8%8E%E0%B8%B4%E0%B8%9A%E0%B8%B1%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%97%E0%B8%B5%E0%B9%88%2010%20chromatography> (วันที่ค้นข้อมูล : 7 ธันวาคม 2561)
- [21] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. “Preparative Thin-layer Chromatography (PLC)”. หน้า 45-48 เข้าถึงได้จาก : <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM328/CM328-5.pdf> (วันที่ค้นข้อมูล : 7 ธันวาคม 2561)
- [22] A. Islama, A. Sayeeda, M.S.A. Bhuiyanb, M.A. Mosaddikb, M.A.U. Islamc and G.R.M. Astaq Mondal Khan , “Evaluation of antifungal activity of extracts of two Cameroonian Rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill. Et Perr. and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm,” *Ethnopharmacology*, 70(3), pp. 335-42, 2000.
- [23] J. Arrietaa , B. Reyesb , F. Calzadac , R. Cedillo-Riverad and A. Navarrete “Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianun*”, *Fitoterapia*, pp. 295-297, 2001.
- [24] M.T. Rahmana, M. Alimuzzamana , S. Ahmada amd A. Asad Chowdhury, “Antinociceptive and antidiarrhoeal activity of *Zanthoxylum rhetsa*”, *Fitoterapia*, 73, Issue 4, pp. 340-342, 2002.
- [25] R. Dieguez-Hurtado, G. Garrido-Garrido, S. Prieto-Gonzalez, Y. Iznaga, L. Gonzalez, J. Molina-Torres, M. Curini, F. Epifano and M.C. Marcotullio, “Antifungal activity of some Cuban *Zanthoxylum* species”, *Fitoterapia*, 74, (4), pp. 384-386, 2003.

- [26] B. Ouattara, L. Angenota, P. Guissoub, P. Fondou, J. Dubois, M. Fréde'Rich, O. Jansena, J.-C. van Heugene, J.-N. Wauters and M. Tits, "LC/MS/NMR analysis of isomeric divanilloylquinic acids from the root bark of *Fagara zanthoxyloides* Lam", *Phytochemistry*, 65, (8), pp. 1145-1151, 2004.
- [27] M.T. Martin, L.H. Rasoanaivo and A. Raharisololalao, "Phenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum madagascariense*", *Fitoterapia*, 76, (6), pp. 590-593, 2005.
- [28] M. Liang, W. Zhang, J. Hu, R. Liu and C. Zhang, "Simultaneous analysis of alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* by high performance liquid chromatography–diode array detector–electrospray tandem mass spectrometry", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42, (2), pp. 178-183, 2006.
- [29] E. Yamazaki, M. Inagaki, O. Kurita and T. Inoue, "Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.) fruit", *Food Chemistry*, 100, (1), pp. 171-177, 2007.
- [30] J. Zhang and L. Jiang, "Acid-catalyzed esterification of *Zanthoxylum bungeanum* seed oil with high free fatty acids for biodiesel production", *Bioresource Technology*, 99, (18), pp. 8995-8998, 2008.
- [31] L.H. Cao, Y.J. Lee, D.G. Kang, J.S. Kim and H.S. Lee, "A New Benzophenanthridine Alkaloid from *Zanthoxylum nitidum*", *Chinese Journal of Natural Medicines*, 7, (4), pp. 274-277, 2009.
- [32] P. Charoenying, M. Teerarak and C. Laosinwattana, "An allelopathic substance isolated from *Zanthoxylum limonella* Alston fruit", *Scientia Horticultural*, 125, (3), pp. 411-416, 2010.
- [33] O.J. Patin and L.E. Cuca, "Monophyllidin, a new alkaloid L-proline derivative from *Zanthoxylum monophyllum*", *Phytochemistry Letters*, 4, (1), pp. 22-25, 2011.

- [34] M. Z. Kayani, T. Mukhtar and M. A. Hussain, "Evaluation of nematicidal effects of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*", Crop Protection, 39, pp. 52-56, 2012.
- [35] L.N. Misra, N.A. Vry Wouatsa, S. Kumar, R.V. Kumar and F. Tchoumboungang, "Antibacterial, cytotoxic activities and chemical composition of fruits of two Cameroonian *Zanthoxylum* species", Journal of Ethopharmacology, 148, (1), pp. 74-80, 2013.
- [36] M. Mukhija, K. LalDhar and A. NathKalia, "Bioactive Lignans from *Zanthoxylum alatum* Roxb. stem bark with cytotoxic potential", Journal of Ethopharmacology, 152, (1), pp. 106-112, 2014.
- [37] N.G. Das, S. Dhiman, P.K. Talukdar, B. Rabha, D. Goswami and V. Veer, "Synergistic mosquito-repellent activity of *Curcuma longa*, *Pogostemon heyneanus* and *Zanthoxylum limonella* essential oils", Journal of Infection and Public Health, 8, (4), pp. 323-328, 2015.
- [38] K. Li , R. Zhou, W. W. Jia, Z. Li, J. Li, P. Zhang and T. Xiao, "*Zanthoxylum bungeanum* essential oil induces apoptosis of HaCaT human keratinocytes", Journal of Ethopharmacology, 186, pp. 351-361, 2016.
- [39] Z. Nooreena, S. Singh, D.K. Singh, S. Tandon, A. Ahmad, S. Luqman, "Characterization and evaluation of bioactive polyphenolic constituents from *Zanthoxylum armatum* DC., a traditionally used plant", Biomedicine and Pharmacotherapy, 89, pp. 366-375, 2017.
- [40] K.A. Hwanga, J.E. Kwon, Y.H. Nohc, B.K. Park, Y.J. Jeong, S.M. Lee, S.Y. Kim, I. Kim, S.C. Kang, "Effects of *Zanthoxylum piperitum* ethanol extract on osteoarthritis inflammation and pain", Biomedicine and Pharmacotherapy, 105, pp. 481-490, 2018.

- [41] E. Valenciennes, J. Smadja and J.Y. Conan, “Screening for Biological Activity and Chemical Composition of *Euodia borbonica* var. *borbonica* (Rutaceae)”, *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), pp. 283-288, 1999.
- [42] วิธีสืบค้นวัสดุสารสนเทศ. [ออนไลน์]. “ชนิดของอัลลีโลเคมีคอล”. เข้าถึงได้จาก : <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.60021.html?> (วันที่ค้นข้อมูล : 7 ธันวาคม 2561)
- [43] N. Chotsaeng, C. Laosinwattana and P. Charoenying. “Inhibitory Effects of a Variety of Aldehydes on *Amaranthus tricolor* L. and *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Molecules*, 23, pp. 471-485, 2018





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง (% inhibition)

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left[ \frac{\text{shoot length \& root length}}{\text{control (Tween80)}} \times 100 \right]$$

ตัวอย่าง รากของต้นผักโขมจีน มีความยาว เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร และรากของต้นผักโขมจีนของชุดควบคุม (ทรีน 80) มีความยาวเท่ากับ 1 เซนติเมตร คำนวณ ได้ดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = 100 - \left[ \frac{0.5}{1} \times 100 \right] = \underline{50 \%}$$

