การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนน

THE SYNTHESIS AND HERBICIDAL ACTIVITIES OF ISOBENZOFURANONE

มนสิณีย์ แก่นยิ่ง

ศศิประภา แป้นด้วง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE SYNTHESIS AND HERBICIDAL ACTIVITIES OF ISOBENZOFURANONES

MONSINEE KAENYING

SASIPRAPA PANDOUNG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PATIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIRMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนน The synthesis and herbicidal activities of isobenzofuranones
ชื่อนักศึกษา	นางสาวมนสิณีย์ แก่นยิ่ง รหัสนักศึกษา 58050531 นางสาวศศิประภา แป้นด้วง รหัสนักศึกษา 58050548
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) **อนุมัติ**ให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน ประธานกรรมการ	
ดร.นาถยา หมื่นแดง กรรมการ	
ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ การสังเคราะห์และฤทธิ์การปราบวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนน
The synthesis and herbicidal activities of isobenzofuranones

ชื่อนักศึกษา นางสาวมนสิณีย์ แก่นยิ่ง รหัสนักศึกษา 58050531
นางสาวศศิประภา แป้นด้วง รหัสนักศึกษา 58050548

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจากปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ระหว่าง aromatic ketones และ 2-formylbenzoic acid และศึกษาฤทธิ์ในการปราบวัชพืชของสารที่สังเคราะห์ได้ ผลการสังเคราะห์พบว่าไอโซเบนโซฟูแรโนนทั้ง 5 ชนิดที่สังเคราะห์ได้มีเปอร์เซ็นผลผลิตที่ปานกลาง ยืนยันโครงสร้างทางเคมีของไอโซเบนโซฟูแรโนนด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปีได้แก่ FT-NMR และ FT-IR ผลของสารสังเคราะห์ต่อพืชทดสอบใบเลี้ยงคู่คือผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) พบว่าสาร 3-(2-oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (**31**) ยับยั้งพืชทดสอบได้ดีที่สุด โดยยับยั้งการงอกของของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 μM และ 800 μM ส่วนผลของสารสังเคราะห์ต่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือหญ้าข้าวนก *(Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) พบว่าสารทุกตัวไม่มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก แต่สาร **29** และ **31-33** สามารถยับยั้งความยาวต้นของหญ้าข้าวนกได้บ้างและยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกได้ดี โดยความเข้มข้นสูงยับยั้งพืชทดสอบได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีความต้านทานสารสังเคราะห์ได้ดีกว่าพืชใบเลี้ยงคู่

คำสำคัญ : ไอโซเบนโซฟิวแรโนน, ฤทธิ์ปราบวัชพืช, การยับยั้ง, อัลลีโลเคมีคอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The synthesis and herbicidal activities of isobenzofuranones
Students	Miss Monsinee Kaenying Student ID 58050531
	Miss Sasiprapa Pandoung Student ID 58050548
Degree	Bachelor of science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic year	2018
Advisor	Asst.Prof. Dr. Nawasit Chotsaeng

Abstract

The aim of this research was to synthesize isobenzofuranones by the Claisen-Schmidt condensation reaction between aromatic ketones and 2-formylbenzoic acid, then evaluate their herbicidal properties against two tested plants. It was found that 5 synthesized isobenzofuranones were obtained in moderate yields. The structures of the synthetic products were determined by FT-NMR and FT-IR techniques. The seed germination and seedling growth bioassay revealed that 3-(2-oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one **(31)** showed the highest inhibitory activity against representative dicot plants, Chinese amaranth (*Amaranthus tricolor* L.). At the applied concentrations of 400 μM and 800 μM this compound completely suppressed the germination of Chinese amaranth. In terms of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) a monocot species, all isobenzofuranones had no effect on the seed germination of the plant. However, compounds **29** and **31-33** could show some harmful effects against shoot growth and could highly inhibit root length of barnyardgrass. Furthermore, it was clear that at the higher applied concentration, isobenzofuranones showed greater inhibitory activities against the germination and growth of the plants. Also, the monocot species seemed to be more tolerant to the herbicides than that dicot

Keywords : Isobenzofuranones, Herbicidcal Activity, Inhibition, Allelochemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ โดยได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง ที่ให้โอกาสเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ โดยเป็นผู้ให้คำแนะนำช่วยเหลือ ให้ความรู้ สอนทักษะในการปฏิบัติงานและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน และ ดร.นาถยา หมื่นแดง คณะกรรมการโครงงานพิเศษที่ ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ข้อบกพร่อง ตลอดจนแก้ไขข้อผิดพลาดเพิ่มเติม ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมี เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี เจ้าหน้าที่ห้องธุรการและพี่ๆคณะ วิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกและให้ ความช่วยเหลือรวมทั้งให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือต่างๆ

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลือและกำลังใจจากคุณพ่อ คุณแม่ พี่น้องและเพื่อนๆ ตลอดจนบุคคลต่างๆ ที่ให้ความช่วยเหลือโดยที่ผู้วิจัยไม่สามารถกล่าวนามได้หมดในที่นี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงขอขอบพระคุณทุกๆท่านไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

มนสิณีย์ แก่นยิ่ง

ศศิประภา แป้นด้วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญรูป.....ช
รายการคำย่อ.....ซ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 อัลลีโลพาที (Allelopathy).....3
2.1.1 ประเภทของสารอัลลีโลเคมีคอล.....3
2.1.1.1 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยพืช.....3
2.1.1.2 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์.....4
2.1.1.3 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยสัตว์.....4
2.2 ผลของสารอัลลีโลเคมีคอลต่อการเจริญเติบโตของพืช.....5
2.3 สารกำจัดวัชพืช (Herbicide).....6
2.4 Isobenzofuranone.....7
2.4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.....7
2.4.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์.....8
2.4.3 ฤทธิ์ต้านรา.....8
2.4.4 ฤทธิ์ต้านโรคลิชมาเนีย.....8
2.4.5 ฤทธิ์ต้านมะเร็ง.....9
2.5 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranones).....9
2.5.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Claisen-Schmidt.....9
2.5.2 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Baylis– Hillman Reaction.....10
2.5.3 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา C–H Bond Activation.....10
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....12
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ.....11
3.1.1 เมล็ดหญ้าข้าวนกและเมล็ดผักโขมจีนสำหรับการทดลอง.....11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งนี้ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.2 สารเคมี....11
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร....11
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช....12
3.2 วิธีการดำเนินงานทดลอง....13
3.2.1 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก Aromatic ketones และ 2-Carboxybenzaldehyde....13
3.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช....13
3.2.2.1 การเตรียมสารละลาย Isobenzofuranone ที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 µM....13
3.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสารละลาย Isobenzofuranone ต่อพืชทดสอบ....14
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล....15
4.1 ผลการสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจากAromatic ketones และ 2-Carboxybenzaldehyde....15
4.1.1 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (29)....16
4.1.2 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2-oxoethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (30)....17
4.1.3 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (31)....17
4.1.4 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(1-Methyl-1H-pyrrol-2-yl)-2-oxoethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (32)....18
4.1.5 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-2-oxoethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (33)....18
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนนสังเคราะห์....19
4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีน....19
4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในผักโขมจีน....20
4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในผักโขมจีน....20
4.2.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก....21
4.2.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในหญ้าข้าวนก....21
4.2.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในหญ้าข้าวนก....22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 อภิปรายผล.....23
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....24
5.1 สรุปผลการวิจัย.....24
5.2 ข้อเสนอแนะ.....24
เอกสารอ้างอิง.....25
ภาคผนวก.....27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 กลุ่มสารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นในพืชและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช....4
2.2 สารอัลลีโลเคมีคอลที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์หลายชนิดที่แยกได้จากดิน....4
2.3 ตัวอย่างของสารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตจากสัตว์....5
2.4 ตัวอย่างของสารอัลลีโลเคมีคอลที่มีผลต่อกระบวนการ oxidative phophorylation....5
2.5 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ได้มาจากเชื้อรา *Aspergillus japonicas*....6
2.6 อนุพันธ์ของสารกลุ่ม Triazines....7
2.7 ไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranone)....7
2.8 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจำนวน 4 ตัว จากเชื้อรา *Cephalosporium sp.AL031*....7
2.9 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก Phlomis betonicoides ในพืชของประเทศจีน....8
2.10 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora*....8
2.11 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีทางเคมี....9
2.12 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนที่ถูกแยกจากน้ำยาเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces sp.* M268....9
2.13 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา Claisen-Schmidt....9
2.14 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา Baylis–Hillman Reaction....10
2.15 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา C–H Bond Activation....10
3.1 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนน....13
3.2 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ....14
4.1 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนน....15
4.2 กลไกการเกิดไอโซเบนโซฟิวแรโนน....16
4.3 3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (29)....16
4.4 3-(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2-oxoethyl) isobenzofuran-1(3H)-one (30)....17
4.5 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (31)....17
4.6 3-(2-(1-Methyl-1H-pyrrol-2-yl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (32)....18
4.7 3-(2-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-2oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (33)....18
4.8 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีน....20
4.9 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในผักโขมจีน....20
4.10 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในผักโขมจีน....21
4.11 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก....21
4.12 กราฟแสดงฤทธิ์การการเจริญเติบโตของความยาวต้นในหญ้าข้าวนก....22
4.13 กราฟแสดงฤทธิ์การการเจริญเติบโตของความยาวรากในหญ้าข้าวนก....22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
EtOH	Ethanol
FT-NMR	Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometer
FT-IR	Fourier transform infrared spectrophotometer
HCl	Hydrochloric acid
KOH	Potassium hydroxide
MeOH	Methanol
SAF	Secalonic acids F
TLC	Thin-layer chromatography
UV-Vis	Ultraviolet-Visible
δ	Chemical shift

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันมนุษย์เรามีการทำเกษตรกรรมและเพาะปลูกพืชเพื่อใช้เป็นอาหาร ผลิตเป็นเครื่องนุ่งห่ม เช่น ผ้าไหม หรือแม้กระทั่งนำมาสกัดใช้เป็นยารักษาโรค เช่น ยาสมุนไพร และยังประยุกต์ใช้เป็นวัสดุในการทำที่อยู่อาศัยต่างๆ โดยในปัจจุบันประชากรในโลกของเรามีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในทุกๆวัน จึงทำให้ความต้องการในการใช้ประโยชน์จากพืชก็ยิ่งเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าเกษตรกรทั้งหลายจะมีการเพิ่มปริมาณพื้นที่ในการเพาะปลูกและสร้างความหลากหลายในการเพาะปลูกมากขึ้น และยังมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยมากขึ้นมาใช้ในการเกษตร แต่ผลผลิตที่ได้ก็ยังไม่เป็นที่น่าพอใจและอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการเนื่องจากเกิดปัญหาต่างๆ โดยปัญหาส่วนใหญ่เกิดจากศัตรูพืชนั่นเอง เช่น แมลงศัตรูพืช โรคพืช และวัชพืช เป็นต้น โดยในส่วนของวัชพืชนั้นถ้าเกษตรกรใช้วิธีในเชิงกล คือการเก็บหรือการกำจัดศัตรูพืชด้วยแรงคนและเครื่องมือต่างๆ อาจจะทำให้ใช้เวลานานในการกำจัดและวัชพืชไม่หมดตามระยะเวลาที่ต้องการ ดังนั้นแล้วในปัจจุบันเกษตรกรจึงนิยมเปลี่ยนมาใช้สารเคมีในการกำจัดวัชพืชมากยิ่งขึ้น แต่ก็เกิดความกังวลในด้านความปลอดภัยของสารกำจัดวัชพืชที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ โดยในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์และนักเกษตรศาสตร์จึงนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยตรง โดยใช้ความรู้เรื่องสารอัลลีโลเคมิคอล (Allelochemical) รวมถึงสารสังเคราะห์เลียนแบบสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติก็ได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากมีฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืชที่ดีและมีความปลอดภัยในการใช้มากกว่าสารเคมีสังเคราะห์โดยทั่วไปตามท้องตลาด เนื่องจากมีความเป็นไปได้ที่ไม่มีสารตกค้างในผลผลิต และนอกจากจะกำจัดวัชพืชแล้วยังปรับปรุงธาตุอินทรีย์ที่เป็นสารอาหารในดิน และปรับสภาพให้ดินดีขึ้นอีกด้วย

สำหรับสารกำจัดวัชพืชจากธรรมชาติหรือสารอัลลีโลเคมีคอลที่ถูกค้นพบไปแล้วนั้นมีหลากหลายกลุ่ม เช่น สารกลุ่มแอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ คีโตน แลคโทนที่ไม่อิ่มตัว กรดไขมัน แนพโทรควินโนนและแอนทราควินโนน อนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิกและฟีนอล คูมาริน ฟลาวอนอยด์และเทอร์พีนอย เป็นต้น โดยสารแต่ละกลุ่มอาจจะสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งพืชได้คล้ายคลึงกันหรือแตกต่างกันได้ ซึ่งในปัจจุบันนี้การนำสารอัลลีโลเคมีคอลมาใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชนั้นยังมีความจำกัดอยู่ เนื่องจากปัญหาของปริมาณที่น้อยของสารธรรมชาติซึ่งไม่เพียงพอต่อการใช้จริงในแปลงเกษตรกรรม อีกทั้งปัญหาเรื่องความยุ่งยากในการสกัดสารและทำให้สารบริสุทธิ์ ดังนั้นนักเคมีเกษตรหลายท่านจึงหันมาสนใจที่จะทำการปรับปรุงหมู่ฟังก์ชั่นของสารอัลลีโลเคมีคอล หรือทำการสังเคราะห์สารอัลลีโลเคมีคอลเหล่านั้นรวมทั้งอนุพันธ์ โดยเริ่มจากสารตั้งต้นที่ราคาถูกและหาง่าย และหวังว่าจะค้นพบสารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ยับยั้งวัชพืชได้ดี อันตรายต่ำต่อมนุษย์ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และยังสามารถผลิตได้ง่ายในปริมาณที่สูง โดยการปรับปรุงหมู่ฟังก์ชั่นนั้นมักจะให้ความสนใจการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารกลุ่มที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย ในงานวิจัยของเรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความสนใจสารอนุพันธ์กลุ่มไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranone) เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านรา ต้านโรคลิชมาเนีย ต้านโรคมะเร็ง เป็นต้น โดยหวังว่าเราจะค้นพบสารอนุพันธ์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนที่แสดงฤทธิ์การยับยั้งพืชทดสอบได้ดี

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.สังเคราะห์อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนนจากปฏิกิริยาระหว่าง aromatic ketones และ 2-formylbenzoic acid

2.ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของอนุพันธ์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนกับฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืช

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

สารอนุพันธ์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนมีฤทธิ์กำจัดวัชพืชได้

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.เตรียมสารอนุพันธ์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจากปฏิกิริยาระหว่าง aromatic ketones และ 2-formylbenzoic acid และวิเคราะห์โครงสร้างที่ได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

2.ศึกษาฤทธิ์อัลลีโลพาทีของสารอนุพันธ์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนต่อพืชและวัชพืชที่ทดสอบ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อัลลีโลพาที (Allelopathy)

ปัจจุบันมีรายงานค่อนข้างมากที่ยืนยันว่าพืชและวัชพืชหลายชนิดสามารถผลิตสารเคมีทุติยภูมิ (Secondary metabolite) และปลดปล่อยหรือขับสารเคมีเหล่านั้นออกมา แล้วมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชหรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในบริเวณใกล้เคียงได้ เรียกกระบวนการนี้ว่าอัลลีโลพาที (Allelopathy) และเรียกสารที่มีในต้นพืชนั้นว่าสารอัลลีโลเคมีคอล (allelochemicals) ปรากฏการณ์นี้ถูกค้นพบโดย Molisch[1] ในปี ค.ศ. 1937 ซึ่งคุณสมบัตินี้มีผลได้ทั้งทางบวกหรือทางลบคืออาจจะกระตุ้นหรือยับยั้งการงอกหรือการเจริญเติบโตของอีกพืชอีกชนิดหนึ่งได้ สารอัลลีโลเคมีคอลนั้นอาจถูกปลดปล่อยออกมาจากพืชที่มีชีวิตอยู่โดยการระเหย การชะล้างออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็น ราก ใบ ดอก ผล การสกัดได้จากพืช รวมถึงเกิดจากการย่อยสลายของซากพืชด้วย

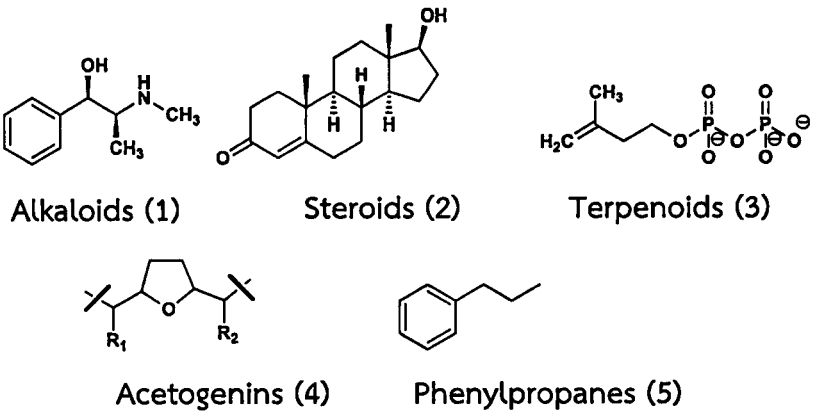
2.1.1 ประเภทของสารอัลลีโลเคมีคอล[2]

สารทุติยภูมิที่เป็นสารอัลลีโลเคมีคอลนั้นไม่ได้มีผลเกี่ยวข้องโดยตรงหรืออาจมีบทบาทไม่เด่นชัดเกี่ยวกับกระบวนการพื้นฐานต่างๆในต้นพืช เช่น กระบวนการหายใจ การสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นต้น อย่างไรก็ตามสารกลุ่มนี้อาจทำให้พืชเกิดความต้านทานโรค ป้องกันและต้านทานแมลง และช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากพืชสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชที่เจริญแข่งขันกันโดยการสร้างและปลดปล่อยสารทุติยภูมิเหล่านี้ โดยทั่วไปสารอัลลีโลเคมีคอลสามารถแบ่งตามแหล่งกำเนิดได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

2.1.1.1 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยพืช

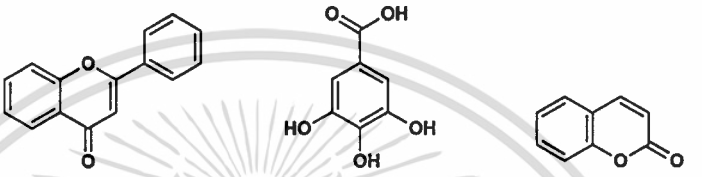
สารอัลลีโลเคมีคอลที่พบโดยทั่วไปของพืชเป็นพวกสารผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (Secondary products) บางชนิดมีประโยชน์ทางเศรษฐกิจ เช่น alkaloid และ terpenoid เป็นต้น บางชนิดช่วยป้องกันการทำลายของโรคและแมลงได้อีกด้วย ในปี ค.ศ.2017 Duke และคณะ[3] กล่าวว่ากลุ่มสารที่ผลิตขึ้นในพืชและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่นมักจะมีอยู่ 5 กลุ่มใหญ่ๆ คือ พวก alkaloids (1), steroids (2), terpenoids (3), acetogenins (4) และ phenylpropanes (5) ซึ่งสารทุติยภูมิหลายชนิดที่พืชผลิตได้มักเป็นสารประกอบอะโรมาติก นอกจากนั้นในปัจจุบันกลุ่มสารอัลลีโลเคมีคอลมักรวมถึงสารกลุ่ม flavonoids (6), tannins (7) (หรือ phenolics), coumarins (8) และ aromatic acids อื่นๆอีกหลายชนิด ดังแสดงในรูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Alkaloids (1) Steroids (2) Terpenoids (3)

Acetogenins (4) Phenylpropanes (5)

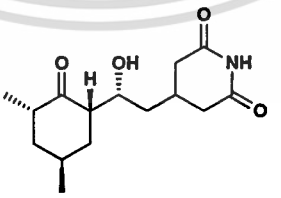


Flavonoids (6) Tannins (7) Coumarins (8)

รูปที่ 2.1 กลุ่มสารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นในพืชและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช

2.1.1.2 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์

สารหลายชนิดที่ถูกผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ ได้ถูกนำมาศึกษาลักษณะทางเคมีพบว่าสารเหล่านี้มีการเลือกยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอย่างเฉพาะเจาะจง ในปี ค.ศ.1985 Heisey และคณะ[4] ได้ค้นพบจุลินทรีย์ที่ผลิตสารประกอบที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแอคติโนมัยซีสแยกออกจากดินที่เก็บรวบรวมในรัฐมิชิแกน รัฐเพนซิลเวเนียและรัฐแคลิฟอร์เนีย นำมาทดสอบการผลิตไฟโตท็อกซินในของแข็งและในของเหลว มีตัวอย่างทั้งหมด 347 ชนิด พบว่ามีอาหารที่เป็นของแข็ง 10-12% ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้อย่างชัดเจนและพบว่า cycloheximide **(9)** เป็นสารที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์หลายชนิดที่แยกได้จากดิน เพราะว่าเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตพวก eukaryotic มากกว่าในการทำลายพืช



Cycloheximide (9)

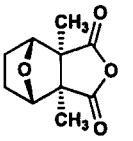
รูปที่ 2.2 สารอัลลีโลเคมีคอลที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์หลายชนิดที่แยกได้จากดิน

2.1.1.3 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตขึ้นโดยสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์โดยเฉพาะแมลงผลิตสารเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารทุติยภูมิ ตัวอย่างของสารที่ผลิตจากสัตว์นั้นคือ Cantharidin **(10)** จากแมลงวันสเปน, (*Lytta vesicatoria* L.) และพบว่าสาร

cantharidin (10) เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเปลือกข้าวสาลี แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดถึง 35 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะมีความเป็นไปได้น้อยมากที่จะผลิตสารกำจัดวัชพืชจากสัตว์ อย่างไรก็ตามสารเคมีจากสัตว์อาจจะใช้เป็นแนวทางที่ชี้ให้เห็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่มใหม่ได้ (รังสิต, 2533)[17]



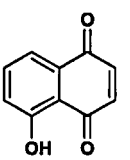
Cantharidin (10)

รูปที่ 2.3 ตัวอย่างของสารอัลลีโลเคมีคอลที่ผลิตจากสัตว์

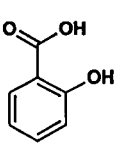
2.2 ผลของสารอัลลีโลเคมีคอลต่อการเจริญเติบโตของพืช

สารอัลลีโลเคมีคอลที่ปลดปล่อยจากพืชหรือจากการย่อยสลายซากพืชอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกโดยไปรบกวนกระบวนการต่างๆ ทั้งกระบวนการทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของพืช ผลกระทบขั้นปฐมภูมิ (Primary effect) ของอัลลีโลเคมีคอล ที่มีต่อพืชปลูกจะเป็นผลมาจากเศษซากพืช (plant litter) ที่มีอยู่ในดิน หรือสารสกัดที่ได้จากพืชเนื่องจากพบว่ามีสารเคมีหลายๆ ชนิดในพืช ดังนั้นเมื่อมีเศษเหลือ (residue) ที่ตกค้าง หลังจากการเก็บเกี่ยวที่ถูกทิ้งไว้บนดินหรือถูกไถกลบคลุกเคล้าไปกับดิน ต่อมาสารเคมีเหล่านี้ถูกปลดปล่อยออกมาเนื่องจากฝนตกลงมาในดินหรือการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดิน

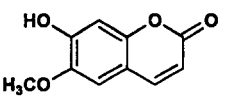
ในปี ค.ศ.1985 Putnum และ คณะ [5] ได้ทำการศึกษาพบว่าสารอัลลีโลเคมีคอลมีหลายชนิด เช่น Juglone (11), phenolic acid (12), aldehydes, flavonoid (6), cuomarin (8) ซึ่งมีผลต่อกระบวนการ oxidative phophorylation ทำให้การสร้าง ATP ในพืชลดลง ผลของสารสารอัลลีโลเคมีคอลต่อกระบวนการหายใจ กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช ผลต่อฮอร์โมนพืช โครงสร้างของเซลล์ และยังมีผลต่อ membrane permeability สาร scopoletin (13) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภท coumarin (8) จะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช ได้แก่ ทานตะวัน ยาสูบ และผักโขมลดลง และสารประกอบพวก phenolic acid (12) บางชนิดสามารถทำให้ถั่วเหลืองมีปริมาณคลอโรฟิลล์และอัตราการสังเคราะห์แสงต่ำลง



Juglone (11)



Phenolic acid (12)

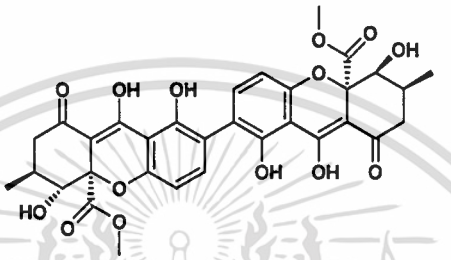


Scopoletin (13)

รูปที่ 2.4 ตัวอย่างของสารอัลลีโลเคมีคอลที่มีผลต่อกระบวนการ oxidative phophorylation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ ในปี ค.ศ.2001 Zeng และคณะ [6] ได้ศึกษาอิทธิพลของสาร Secalonic acids F **(14)** ซึ่งเป็นสารอัลลีโลเคมีคอลที่ได้มาจากเชื้อรา *Aspergillus japonicas* มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยไปมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของพืช โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของ Secalonic acids F **(14)** 0.038 mM ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.075 mM ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าที่ความเข้มข้น 0.15 mM ปริมาณคลอโรฟิลล์ a และ คลอโรฟิลล์ b เท่ากับ 49.6 และ 36.8 เปอร์เซ็นต์ ของชุดควบคุมที่ความเข้มข้นนี้ทำให้ใบข้าวฟ่างมีสีเหลือง และพืชทดสอบที่ประกอบด้วย ข้าว ข้าวฟ่าง แตงกวา และต้นเรป มีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงเมื่อความเข้มข้นของ Secalonic acids F **(14)** เพิ่มขึ้น และพบว่าที่ความเข้มข้น 0.038 mM อัตราการสังเคราะห์แสงของพืชใบเลี้ยงคู่ลดลงมากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว



Secalonic acids F **(14)**

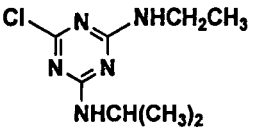
รูปที่ 2.5 สารอัลลีโลเคมีคอลที่ได้มาจากเชื้อรา *Aspergillus japonicas*

2.3 สารกำจัดวัชพืช (Herbicide)

สารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicides) หรือที่เรียกโดยทั่วไปว่า “ยาฆ่าหญ้า” ในประเทศไทยมีใช้กันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว และมีแนวโน้มว่าจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากแรงงานในภาคเกษตรกรรมมีลดลง จึงจำเป็นต้องนำสารเคมีเข้ามาทดแทนมากขึ้น ขณะเดียวกันก็มีการพัฒนาสารเคมีกลุ่มนี้ออกมาจำหน่ายในท้องตลาดเพิ่มมากขึ้น โดยมีการปรับปรุงเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชที่เฉพาะเจาะจงตามวัตถุประสงค์ของผู้ใช้ ปัจจุบันมีการแบ่งกลุ่มของสารเคมีกำจัดวัชพืชหลายแบบ เช่น การแบ่งกลุ่มสารเคมีกำจัดวัชพืชตามโครงสร้างของสารเคมีนั้นดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น นอกจากนั้นยังสามารถแบ่งตามลักษณะการใช้งาน ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมดินก่อนปลูกพืช (pre-planting) สารเคมีที่ใช้หลังหว่านพืช (pre-emergence) และสารเคมีที่ใช้หลังจากพืชงอกพ้นดินแล้ว (post-emergence) หรือการแบ่งตามกลไกการเกิดพิษต่อพืช ได้แก่ สารเคมีที่มีฤทธิ์เฉพาะเจาะจงในการทำลายพืชบางชนิด (selective) สารเคมีที่ทำลายพืชเมื่อสัมผัสถูกใบ (contact) และสารเคมีที่ทำลายพืชเมื่อถูกดูดซึมเข้าไปในระบบลำเลียงน้ำและอาหารของพืช (translocated)

ในบรรดาสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในปัจจุบันนั้นพบว่าอนุพันธ์ของสารกลุ่ม Triazines เช่น atrazine **(15)** เป็นสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก และยังเป็นสารกลุ่มหลักที่ใช้มากกว่าสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่นๆ โดยสารอนุพันธ์เหล่านี้มักถูกตรวจพบในแม่น้ำ ทะเลสาบ และน้ำใต้ดิน ดังนั้นจึงถือได้ว่าสารเหล่านี้เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเราทุกคนควรช่วยกันควบคุมและงดหรือลดปริมาณการใช้สารเหล่านี้

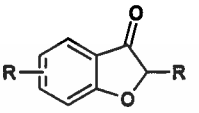
เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ... ให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Atrazine (15)

รูปที่ 2.6 อนุพันธ์ของสารกลุ่ม Triazines

2.4 ไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranone)



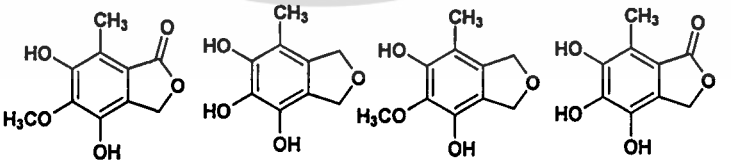
Isobenzofuranones (16)

รูปที่ 2.7 ไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranone)

ไอโซเบนโซฟิวแรโนนเป็นสารประกอบอินทรีย์สำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านจุลชีพ ยาต้านเกล็ดเลือด ฤทธิ์ในการต่อต้านพิษของเซลล์ และฤทธิ์ต้านการเต้นของหัวใจ เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัยที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่ม Isobenzofuranones ได้แก่

2.4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในปี ค.ศ. 2012 Fu และคณะ[7] ได้ทำการสกัดและแยกสารกลุ่ม Isobenzofuranones จำนวน 4 ตัว จากเชื้อรา *Cephalosporium sp.AL031* ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากไผ่เลื้อย (*Sinarundinaria nitida*) โดยพบว่ามีสารชนิดใหม่ 1 ตัวคือ สาร 4,6-dihydroxy-5-methoxy-7-methylphthalide (17) และสาร isobenzofuranones ที่เคยค้นพบมาก่อนแล้วอีก 3 ตัว **18-20** และจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl (DPPH) radical-scavenging assay พบว่าสารทั้ง 4 ตัวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีโดยมีค่า EC50 อยู่ที่ 10,7,22 และ 5 μM ตามลำดับ



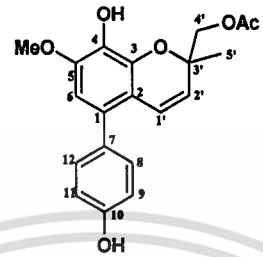
17 18 19 20

รูปที่ 2.8 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจำนวน 4 ตัว จากเชื้อรา *Cephalosporium sp.AL031*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ในปี ค.ศ. 2018 Hu และคณะ[8] ได้แยกอนุพันธ์ใหม่ของ Isobenzofuranone จาก Phlomis betonicoides ในพืชของประเทศจีน โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีต่างๆ รวมถึงซิลิกาเจล Sephadex LH-20, MCI-gel resin และ RP-HPLC สารประกอบนี้ถูกกำหนดว่าเป็น 5-(3-hydroxypropyl)-2,2-dimethyl-2H-furo [3,4-] chromen-7(9H)-one **(21)** โดยเทคนิค NMR, MS, IR และ UV

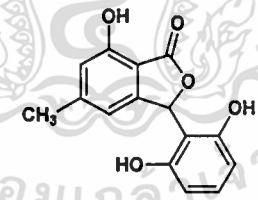


21

รูปที่ 2.9 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก Phlomis betonicoides ในพืชของประเทศจีน

2.4.3 ฤทธิ์ต้านรา

ใน ค.ศ.2002 Chau และคณะ[9] ได้สกัด isopestacin **(22)** เป็น isobenzofuranone ที่ได้จาก endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora* สารประกอบนี้ถูกแยกออกจากน้ำเพาะเลี้ยงของเชื้อรา และเมื่อทำการตกผลึกและศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค X-ray รวมทั้ง ^{1}H NMR และ ^{13}C NMR พบว่าโครงสร้างเป็นดังที่แสดงด้านล่าง โดยยังพบอีกว่า isopestacin มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Pythium ultimum* และได้ทำการวัดโดยเครื่อง electron spin resonance (ESR) แล้วพบว่า isopestacin ยังเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ทั้งใน superoxide และ hydroxy free radicals



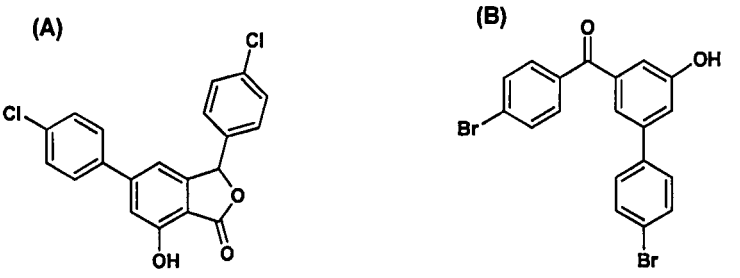
Isopestacin (22)

รูปที่ 2.10 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora*

2.4.4 ฤทธิ์ต้านโรคลิชมาเนีย

ในปี ค.ศ.2014 Majumder และคณะ[10] ได้ศึกษาถึง Leishmania ซึ่งเป็นปรสิตโปรโตซัวทำให้เกิดโรคที่หลากหลายของมนุษย์ตั้งแต่แผลผิวหนังจนถึงอวัยวะภายในร้ายแรง ในการศึกษานี้จะทำการใช้ยารักษาแบบมีเป้าหมายเพื่อต่อต้านปรสิตโปรโตซัวที่พบในโรคลิชมาเนีย สารประกอบ isobenzofuranone 2 ชนิด ได้แก่ 3,5-bis (4-chlorophenyl)-7-hydroxyisobenzofuran-1(3H)-one **(23)** และ (4-bromo) -3'-hydroxy-5 synth-(4-bromophenyl)-benzophenone **(24)** ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีทางเคมีและนำมาวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค NMR และ Mass spectrometry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

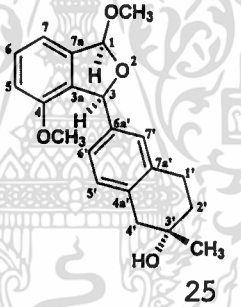


23 24

รูปที่ 2.11 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีทางเคมี

2.4.5 ฤทธิ์ต้านมะเร็ง

ในปี ค.ศ. 2012 Qin และคณะ[11] ได้ค้นพบอนุพันธ์ Isobenzofuranone ตัวใหม่ คือ 1,4-dimethoxy-3 (3R-hydroxy-3R-methyl-1-tetralone)-1(3H)-isobenzofuran **(25)** ดังรูปที่ 2.11ด้านล่าง ได้ถูกแยกจากน้ำยาเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces sp. M268* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่พบในทะเลได้จากอ่าว Jiaozhou โครงสร้างของสารถูกอธิบายคุณสมบัติด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี เช่น NMR, HPLC และ mass spectrometer เป็นต้น จากงานวิจัยพบว่าสารประกอบนี้แสดงพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดและมะเร็งตับของมนุษย์



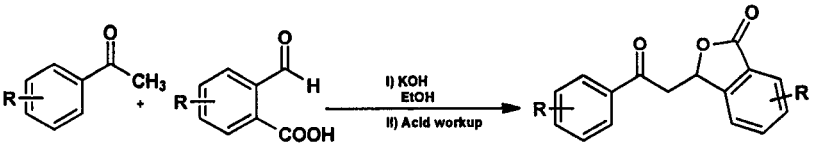
25

รูปที่ 2.12 ไอโซเบนโซฟิวแรโนนที่ถูกแยกจากน้ำยาเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces sp. M268*

2.5 การสังเคราะห์ Isobenzofuranones

โดยทั่วไปแล้ว Isobenzofuranone สามารถสังเคราะห์ได้หลากหลายวิธี ซึ่งอาจจะใช้สารตั้งต้นชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกัน หรืออาจใช้ปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น

2.5.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Claisen-Schmidt แล้วตามด้วยปฏิกิริยาการปิดวง สารตั้งต้นที่นิยมใช้ คือสารกลุ่ม acetophenones และ 2-carboxybenzaldehyde

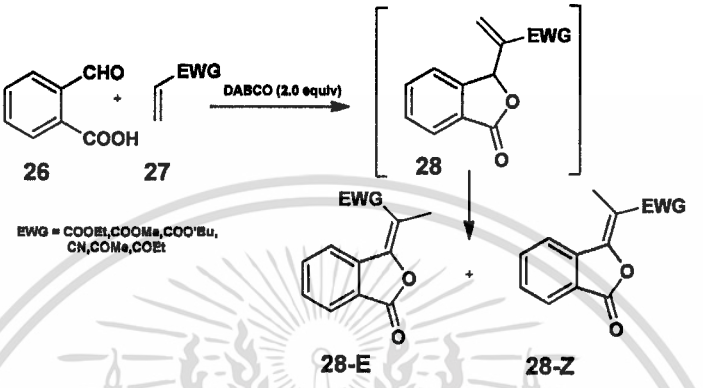


acetophenones 2-carboxybenzaldehyde Isobenzofuranones

รูปที่ 2.13 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา Claisen-Schmidt

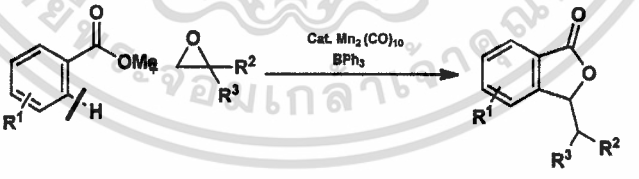
เอกสารนี้เป็นเอกสาร[illegible]ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Baylis–Hillman Reaction ตัวอย่างเช่นการสังเคราะห์ของ 3-Alkylidene-3H-isobenzofuranones จาก 2-Carboxybenzaldehyde[12] และอัลคีนชนิดต่างๆ โดยมี DABCO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และ acetonitrile เป็นตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามปฏิกิริยานี้มีข้อจำกัดคือต้องใช้ DABCO ในปริมาณที่มากเกินไป (2 equiv) เนื่องจากการเกิดเกลืออย่างรวดเร็วระหว่าง DABCO และ 2-carboxybenzaldehyde ดังที่แสดงในปฏิกิริยาที่ให้ enol lactones (28-E, 28-Z) แทนที่จะเป็น phthalides (28)



รูปที่ 2.14 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา Baylis–Hillman Reaction

2.5.3 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา C–H Bond Activation ตัวอย่างเช่น การสังเคราะห์ Isobenzofuranones จากสารตั้งต้นคือ aromatic esters และ oxiranes[13] ดังแผนภาพข้างล่าง การสังเคราะห์นี้มีแมงกานีสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยมี triphenylborane เป็นสารที่สำคัญซึ่งมีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น โดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวควบคุม ปฏิกิริยานี้เกิดที่วง aromatic, heteroaromatic, และพันธะ C–H ของ olefinic ซึ่งมีความทนทานต่อการใช้งานสูง



รูปที่ 2.15 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนโดยปฏิกิริยา C–H Bond Activation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 เมล็ดหญ้าข้าวนกจากทุ่งนาจังหวัดพิษณุโลกและเมล็ดผักโขมจีนจากบริษัท ที เอส เอ จำกัด (Thai Seed & Agriculture Co., Ltd.) สำหรับการทดลอง

3.1.2 สารเคมี

- 2-อะเซทิล-1-เมทิล ไพร์โรล (2-Acetyl-1-methyl pyrrole) บริษัท Sigma Aldrich
- 2-อะเซทิลไทโอฟีน (2-Acetylthiophene) บริษัท Sigma Aldrich
- 2-คาร์บอกซี่เบนซาลดีไฮด์ (2-Carboxybenzaldehyde) บริษัท Sigma Aldrich
- 2'-ไฮดรอกซี-6-เมทอกซี อะซีโตฟีโนน (2'-Hydroxy-6-methoxyacetophenone) บริษัท Sigma Aldrich
- 5'โบรโม-2'ไฮดรอกซี อะซีโตฟีโนน (5'-Bromo-2'-hydroxy acetophenone) บริษัท Sigma Aldrich
- กรดไฮโดรคลอริก 10% (10% Hydrochloric acid) บริษัท Sigma Aldrich
- แซนทอกซิลิน (Xanthoxyline) บริษัท Sigma Aldrich
- ทวีน 0.1% (0.1% Tween) บริษัท Sigma Aldrich
- น้ำกลั่น (Distilled water)
- โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide) บริษัท Sigma Aldrich
- เมทานอล (Methanol) บริษัท Italmar Co. Ltd.
- อะซิโตน (Acetone) บริษัท Italmar Co. Ltd.
- เอทานอล (Ethanol) บริษัท Italmar Co. Ltd.
- เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) บริษัท Italmar Co. Ltd.
- เฮกเซน (Hexane) บริษัท Italmar Co. Ltd.

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร

- กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 บริษัท GE Healthcare
- กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
- กระจกนาฬิกา (Watch glass)
- กระบอกตวง (Graduated cylinder) บริษัท Witeg Labortechnik GmbH
- กระบอกน้ำกลั่น (Wash bottle)
- ขวดก้นกลม (Round bottom flask) บริษัท Schott Duran
- ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
- ขวด TLC (TLC chamber)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ครกและสากบดสารเคมี (Mortar and pestle grinding of chemicals)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer) รุ่น ES53B ยี่ห้อ LabTech บริษัท Labtech S.r.l
- เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Balance) รุ่น ME204 บริษัท Mettler Toledo
- เครื่องมือสำหรับส่องแผ่น TLC โดยใช้รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet lamp)
- เครื่องฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปคโตรมิเตอร์ (Fourier Transform infrared spectrophotometer ; FT-IR)
- เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) บริษัท Millipore
- เครื่องฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม นิวเคลียร์ แมกเนติก เรโซแนนซ์ สเปคโตรมิเตอร์ (Fourier Transform Nuclear Magnetic resonance spectrometer ; FT-NMR)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- เตาให้ความร้อน (Hot plate) บริษัท Thermo Fisher Scientific
- ถังใส่น้ำแข็ง (Water bath)
- ที่คีบแผ่น TLC (Forceps)
- แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
- บีกเกอร์ (Beaker) ยี่ห้อ Pyrex® บริษัท Corning Inc.
- แผ่น TLC (Thin-layer Chromatography) บริษัท Merck KGaA
- ฟอยล์ (Foil)
- หลอดแคพิลลารี (Capillary tube)
- หลอดหยด (Dropper)

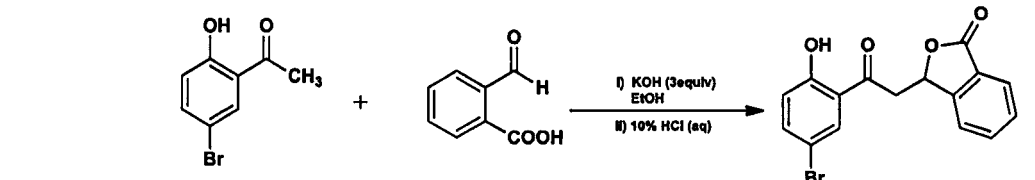
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช

- กระจกนาฬิกา (Watch glass)
- ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
- เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- ฐานตั้ง (Stand)
- เตาให้ความร้อน (Hot plate)
- ที่คีบ (Forceps)
- แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
- บิวเรตต์ (Burette)
- บีกเกอร์ (Beaker)
- ฟอยล์ (Foil)
- ไมโครปิเปต (Micropipette)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการดำเนินงานทดลอง

3.2.1 การสังเคราะห์ Isobenzofuranone จาก Aromatic ketones และ 2-carboxybenzaldehyde



5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone (1 equiv) **2-Carboxybenzaldehyde (1.1 equiv)** **3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (29)**

รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนน

ผสม 5'-Bromo-2'-hydroxy acetophenone 1 mmol กับ 2-carboxybenzaldehyde 1.1 mmol และเติม ethanol 20 ml ในขวดก้นกลมขนาด 50 ml จากนั้นปั่นกวนของผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 3 นาที เติม potassium hydroxide ที่บดละเอียด 3 mmol และปั่นกวนของผสมที่อุณหภูมิห้องจนปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ (ตรวจสอบด้วยแผ่น TLC) จากนั้นเทของผสมที่ได้ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ที่บรรจุเกล็ดน้ำแข็งประมาณ 10 g เติมสารละลาย 10% กรดไฮโดรคลอริกลงไปทีละหยด (พร้อมทั้งคนของผสมด้วยแท่งแก้ว) จนของผสมมี pH ประมาณ 4 และทิ้งของผสมให้เกิดการตกตะกอนของ isobenzofuranone (29) ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำตะกอนที่ได้มากรองแบบลดความดัน ด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 พร้อมทั้งล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่นเย็น ทิ้งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำตะกอนที่ได้ไปตกผลึกใหม่ในเมทานอล จากนั้นกรองตะกอนของ isobenzofuranone (29) ที่บริสุทธิ์แบบลดความดัน ล้างตะกอน isobenzofuranone ด้วยเมทานอลเย็นปริมาตรเล็กน้อย ทิ้งตะกอนของ isobenzofuranone ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์โครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค FT-IR, FT-NMR เป็นต้น ส่วนสารประกอบตัวอื่นๆ ก็นำมาสังเคราะห์โดยใช้วิธีนี้เช่นกัน

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งพืช

3.2.2.1 การเตรียมสารละลาย Isobenzofuranone ที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM

ชั่ง Isobenzofuranone 25 µmol และปิเปต Tween® 80 ปริมาตร 0.02 mL (หรือชั่ง 21.5 มิลลิกรัม, ความหนาแน่นของ Tween® 80 = 1.076 g/cm^{-3}) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 mL ทำการบดสารทั้ง 2 ตัวให้ผสมเป็นเนื้อเดียวโดยใช้ช้อนตักสารอันเล็ก จากนั้นเติมน้ำกลั่น 10 mL แล้วใส่ Magnetic bar ลงไป เพื่อปั่นกวนให้สารละลายเข้ากันประมาณ 3-5 นาที สารละลายที่ได้คือ สารละลาย isobenzofuranone ความเข้มข้น 800 µM จากนั้นแบ่งสารละลายที่ได้ไปเจือจางด้วยสารละลาย 0.1% Tween® 80 ให้ได้ สารละลาย isobenzofuranone ความเข้มข้น 400 µM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของสารละลาย Isobenzofuranone ต่อพืชทดสอบ

ปิเปตสารละลายของ Isobenzofuranone ปริมาตร 0.5 ml ใส่ใน vial ขนาดเล็ก (4.5 cm × 2 cm) ที่มี Germination paper วางอยู่ จากนั้นวางเมล็ดพืชทดสอบจำนวน 10 เมล็ด ลงไปใน vial แล้วปิดปาก vial ด้วย Parafilm® เก็บ vial ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนับจำนวนเมล็ดที่งอก วัดความยาวรากและต้นของเมล็ดหญ้าข้าวนกและเมล็ดผักโขมจีนทุกขวด และนำผลที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) การงอกและการเจริญเติบโตของพืช โดยในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left(\frac{\text{Isobenzofuranones}}{\text{Control}} \text{x } 100\right)$$

ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบหลังจากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

ตัวอย่างในการยับยั้บการเจริญเติบโตของสาร 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl) ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one **(31)** ในพืชทดสอบ

ผักโขมจีน **หญ้าข้าวนก**

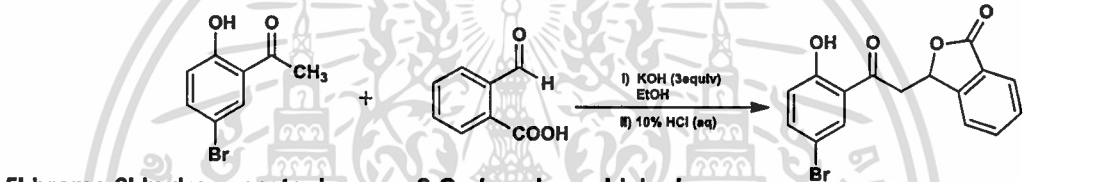
รูปที่ 3.2 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนนจาก Aromatic ketones และ 2-carboxybenzaldehyde

ไอโซเบนโซฟิวแรโนนสามารถเตรียมโดยประยุกต์ใช้กรรมวิธีของ Kadi[14] โดยเป็นปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ระหว่าง aromatic ketones (เช่น 5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone ดังแผนภาพด้านล่าง) และ 2-carboxybenzaldehyde ในสภาวะเบสและมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย หลังจากหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย 10% hydrochloric acid สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นโดยการตกผลึกใหม่ในเมทานอล ซึ่งได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ต่ำถึงปานกลาง และมีการยืนยันโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR ดังข้อมูลที่แสดงด้านล่าง

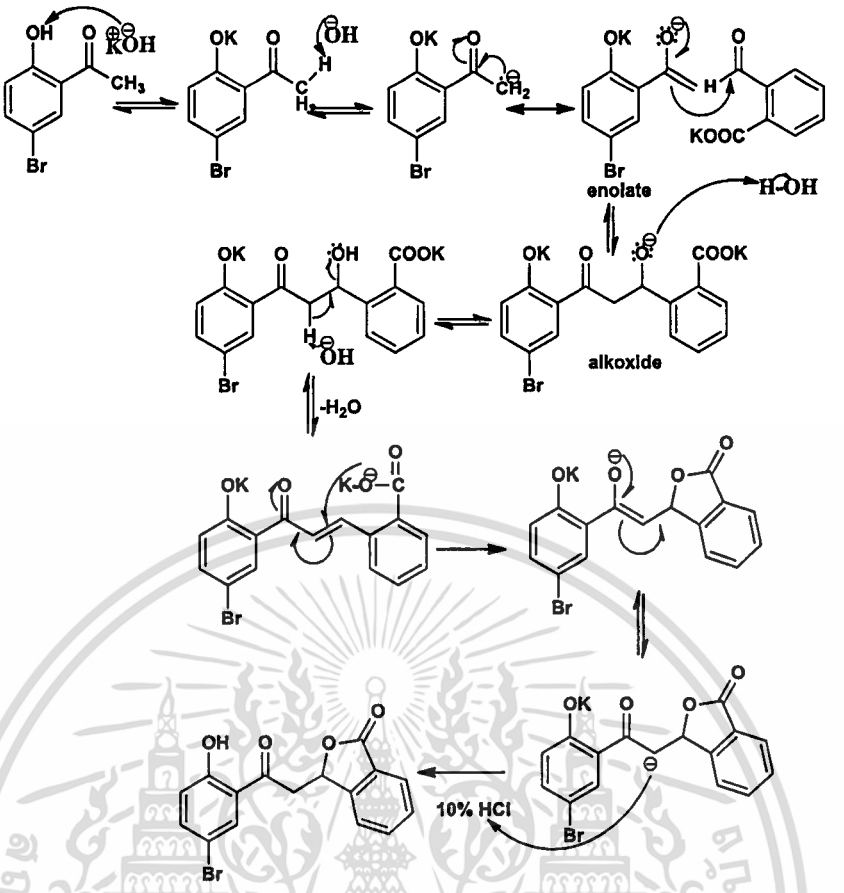


5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone (1 equiv) **2-Carboxybenzaldehyde (1.1 equiv)** **3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (29)**

รูปที่ 4.1 การสังเคราะห์ไอโซเบนโซฟิวแรโนน

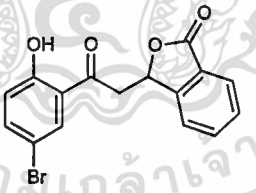
กลไกการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ของ 5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone นั้นเริ่มจากเบส hydroxide ดึงโปรตรอนจากหมู่ hydroxyl ของ 5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone เกิดเป็นเกลือ จากนั้นเบสอีกโมเลกุลดึงโปรตรอนในตำแหน่งแอลฟา (α) ของ carbonyl group ของ 5'-bromo-2'-hydroxy acetophenone เกิดเป็น α-carbanion ซึ่งอยู่ในสมดุลกับ enolate form และ enolate ทำหน้าที่เป็น neucleophile เข้าทำปฏิกิริยากับ 2-carboxybenzaldehyde เกิดเป็น alkoxide anion ซึ่งจับโปรตรอนจากโมเลกุลของน้ำได้เป็น hydroxyl group จากนั้นเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นโดยที่เบสดึงโปรตรอนจากคาร์บอนที่ตำแหน่งแอลฟา และเกิดการสร้างพันธะคู่พร้อมๆกับการที่ hydroxyl group หลุดออก ต่อมาประจุลบบนอะตอมออกซิเจนของหมู่ carboxylate มาจับกับคาร์บอนทำให้เกิดการปิดวงเกิดเป็นวงห้าเหลี่ยม และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลาย 10% hydrochloric acid ทำให้ carboxylate และ phenoxide groups ของสารผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปเป็น carboxyl และhydroxyl groups ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กลไกการเกิดไอโซเบนโซฟิวแรโนน

4.1.1 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (29)



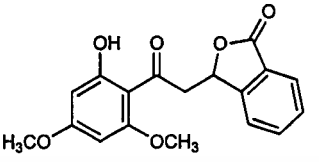
รูปที่ 4.3 3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (29)

สาร **29** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วยเมทานอล ได้สาร **29** มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (49.52 mg, 22.76%). R_f = 0.39 (20% EtOAc/hexane); **IR (film)** 2916, 1755, 1608, 1566, 1379, 1207, 1060, 979, 871, 719 cm^{-1}; **1H NMR** (500 MHz, CDCl3) δ 11.91 (1H, s, OH), 7.94 (1H,d, *J* = 7.6 Hz, ArH), 7.76 (1H,d, *J* = 2.4 Hz, ArH), 7.71 (1H, td, *J* = 7.5, 1.1 Hz, ArH), 7.61 – 7.53 (3H, m, ArH), 6.94 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, ArH), 6.16 (1H, t, *J* = 6.4 Hz, OCH), 3.72 (1H, dd, *J* = 17.8, 6.6 Hz, CH_2), 3.46 (1H, dd, *J* = 17.8, 6.2 Hz, CH_2) ^{13}C NMR (125.8 MHz, CDCl3) δ 200.72 (C=O), 169.73 (C=O), 161.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(C), 148.96 (C), 139.81 (C), 134.41 (CH), 132.00 (CH), 129.70 (CH), 125.99 (C), 125.92 (CH), 122.41 (C), 120.83 (CH), 120.24 (CH), 110.85 (C), 74.14 (CH), 43.32 (CH_2)

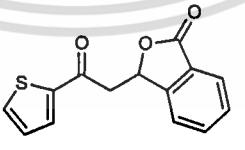
4.1.2 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (30)



รูปที่ 4.4 3-(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (30)

สาร **30** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วยเมทานอล ได้สาร **30** มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (222.6 mg, 62%). R_f = 0.24 (20% EtOAc/hexane); **IR (film)** 2916, 2848, 1759, 1610, 1589, 1367, 1213, 1112, 970, 821 cm^{-1}; ^{1}**H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) δ 13.72 (1H, s, OH), 7.91 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, ArH), 7.66 (1H, td, *J* = 7.7, 1.0 Hz, ArH), 7.61-7.58 (1H, m, ArH), 7.54 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, ArH), 6.16 (1H, dd, *J* = 7.7, 5.5 Hz, OCH), 6.10 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, ArH), 5.92 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, ArH), 3.86-3.80 (1H, m, CH_2), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.41 (1H, dd, *J* = 18.5, 7.8 Hz, CH_2). ^{13}**C NMR** (125.8 MHz, $CDCl_3$) δ 200.18 (C=O), 170.41 (C=O), 167.76 (C), 166.72 (C), 162.70 (C), 150.24 (C), 134.14 (CH), 129.20 (CH), 125.96 (C), 125.61 (CH), 123.03 (CH), 105.65 (C), 93.78 (CH), 91.02 (CH), 77.44 (CH), 55.64 (2 x CH_3), 48.90 (CH_2).

4.1.3 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (31)



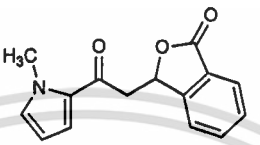
รูปที่ 4.5 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (31)

สาร **31** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 21 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วยเมทานอล ได้สาร **31** มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (223.1 mg, 62.2%). R_f = 0.62 (40% EtOAc/hexane); **IR (film)** 3089, 2914, 1753, 1654, 1517, 1413, 1215, 1062, 995, 727 cm^{-1}; ^{1}**H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.90 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, ArH), 7.70 (2H, d, *J* = 4.4 Hz, ArH), 7.67 (1H, td, *J* = 7.7, 1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hz, ArH), 7.59 – 7.52 (2H, m, ArH), 7.16 – 7.13 (1H, m, ArH), 6.12 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, OCH), 3.67 (1H, dd, *J* = 16.9, 6.3 Hz, CH_2), 3.35(1H, dd, *J* = 17.0, 6.8 Hz, CH_2) **^{13}C NMR** (125.8 MHz, $CDCl_3$) **δ** 188.53 (C=O), 169.65 (C=O), 149.36 (C), 143.32 (C), 134.76 (CH), 134.26 (CH), 132.84 (CH), 129.44 (CH), 128.37 (C), 125.78 (CH), 125.69 (CH), 122.64 (CH), 76.75 (CH), 44.07(CH_2)

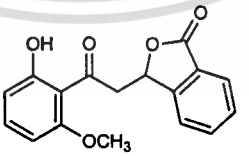
4.1.4 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(1-Methyl-1H-pyrrol-2-yl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (32)



รูปที่ 4.6 3-(2-(1-Methyl-1H-pyrrol-2-yl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (32)

สาร **32** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 29 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วยเมทานอล ได้สาร **32** มีลักษณะเป็นของแข็ง สีเหลืองซีดรูปเข็ม (46.8 mg, 18.33%). R_f = 0.21 (20% EtOAc/hexane); **IR (film)** 3109, 2949, 1759, 1641, 1595, 1479, 1386, 1236, 1064, 958, 750 cm^{-1}; **^{1}H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) **δ** 7.91 (1H, dd, *J* = 7.1, 1.3 Hz, ArH), 7.70 – 7.64 (1H, m, ArH), 7.57 – 7.51 (2H, m, ArH), 6.91 – 6.88 (1H, m, ArH), 6.87 (1H, t, *J* = 1.9 Hz, ArH), 6.15 – 6.09 (2H, m, OCH), 4.00 (3H, s, NCH_3), 3.51 (1H, dd, *J* = 16.5, 6.9 Hz, CH_2), 3.21 (1H, dd, *J* = 16.5, 6.5 Hz, CH_2). **^{13}C NMR** (125.8 MHz, $CDCl_3$) **δ** 185.63 (C=O), 170.16 (C=O), 149.81 (C), 134.11 (C), 131.69(CH), 130.16 (CH), 129.26 (CH), 125.90 (CH), 125.67 (C), 122.51 (CH), 120.15 (CH), 108.48 (CH), 77.51 (CH), 43.72 (CH_3), 37.72 (CH_2).

4.1.5 ผลการสังเคราะห์ 3-(2-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-2oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (33)



รูปที่ 4.7 3-(2-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-2oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (33)

สาร **33** สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วยเมทานอล ได้สาร **33** มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองซีด (79.58 mg, 45.22%). R_f = 0.24 (20% EtOAc/hexane); **IR (film)** 2999, 2947, 2843, 1757, 1595, 1456, 1234, 1186, 1031, 995 cm^{-1}; **^{1}H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) **δ** 12.99 (1H, s, OH), 7.92 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, ArH), 7.67 (1H, td, *J* = 7.6, 1.1 Hz,

เอกสารนี้เป็นการเผยแพร่ผลงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา

ArH), 7.61 – 7.52 (2H, m, ArH), 7.39 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, ArH), 6.62 (1H, dd, *J* = 8.5, 0.9 Hz, OCH), 6.39 (1H, dd, *J* = 8.3, 0.5 Hz, ArH), 6.19 – 6.14 (1H, m, ArH), 3.92 – 3.83 (4H, m, OCH_3), 3.53 – 3.46 (1H, m, CH_2) ^{13}C NMR (125.8 MHz, $CDCl_3$) δ 202.46 (C=O), 170.36 (C=O), 164.82 (C), 161.31 (C), 150.04 (CH), 136.90 (CH), 134.21 (CH), 129.29 (CH), 125.94 (CH), 125.67 (CH), 122.91 (CH), 111.03 (C), 110.86 (C), 101.29 (CH), 55.73 (CH_3), 49.76 (CH_2)

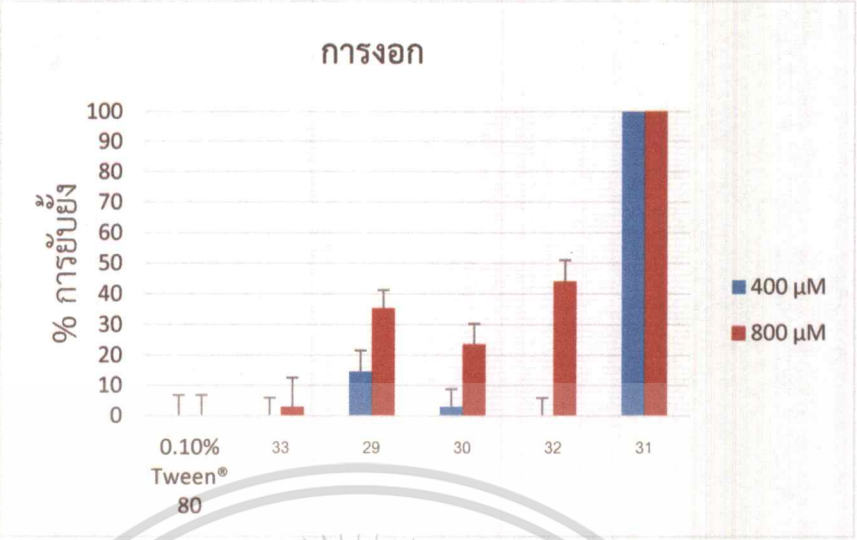
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนนสังเคราะห์

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของไอโซเบนโซฟิวแรโนนสังเคราะห์จำนวน 5 ชนิด ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ ตัวแทนพืชใบเลี้ยงคู่คือผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) และตัวแทนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) โดยความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบคือ 400 µM และ 800 µM ตามลำดับ และมีสารละลาย 0.10% (v/v) Tween® 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) และเป็นตัวแปรควบคุม ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 µM ไอโซเบนโซฟิวแรโนน **31** ยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้สมบูรณ์ ส่วนสารไอโซเบนโซฟิวแรโนนชนิดอื่นๆไม่มีผลยับยั้งการงอกเช่นเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้น 800 µM ไอโซเบนโซฟิวแรโนน **31** ยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้สมบูรณ์ ส่วนสารไอโซเบนโซฟิวแรโนนชนิดอื่นๆยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้เพียงเล็กน้อยหรือไม่ยับยั้งเลย ส่วนผลของสารสังเคราะห์ต่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือหญ้าข้าวนก พบว่าสารทุกตัวไม่มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก แต่สาร **29** และ **31-33** สามารถยับยั้งความยาวต้นของหญ้าข้าวนกได้บ้างและยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกได้ดี โดยความเข้มข้นสูงยับยั้งพืชทดสอบได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีความต้านทานสารสังเคราะห์ได้ดีกว่าพืชใบเลี้ยงคู่

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีน

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **31** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ดีมาก ส่วนอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29**, **30** และ **32** ที่ระดับความเข้มข้น 800 µM แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย-ปานกลาง ในขณะเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 400 µM จะแสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย ดังรูปที่ 4.8

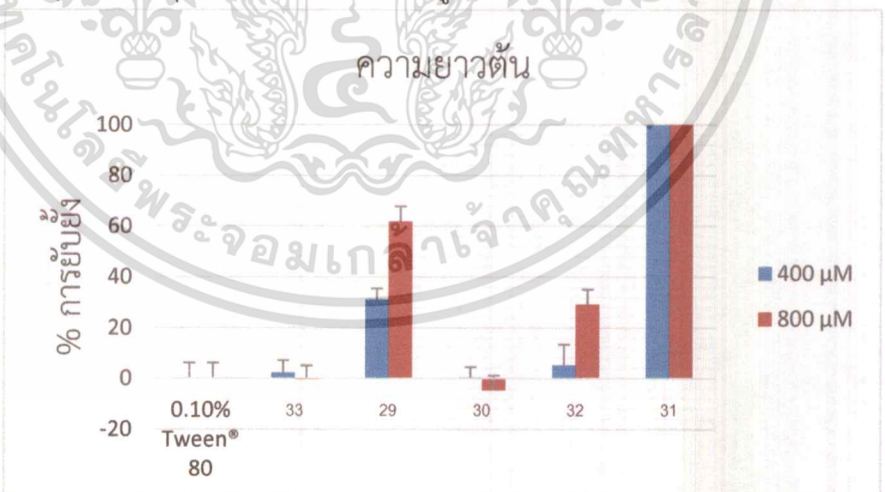
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการงอกของผักโขมจีน

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในผักโขมจีน

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **31** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ดีมาก ที่ระดับความเข้มข้น 800 µM อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29** และ **32** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย-ปานกลาง แต่อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **30** และ **33** ยับยั้งความยาวต้นในผักโขมจีนได้เพียงเล็กน้อยหรือไม่ยับยั้งเลย ในขณะเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 400 µM สารไอโซเบนโซฟิวแรโนนชนิดอื่นๆ จะแสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย ดังรูปที่ 4.9



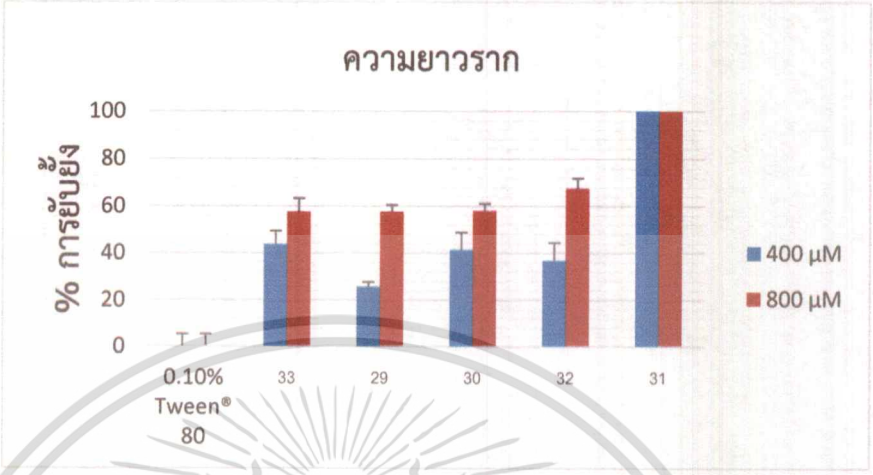
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในผักโขมจีน

4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในผักโขมจีน

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **31** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

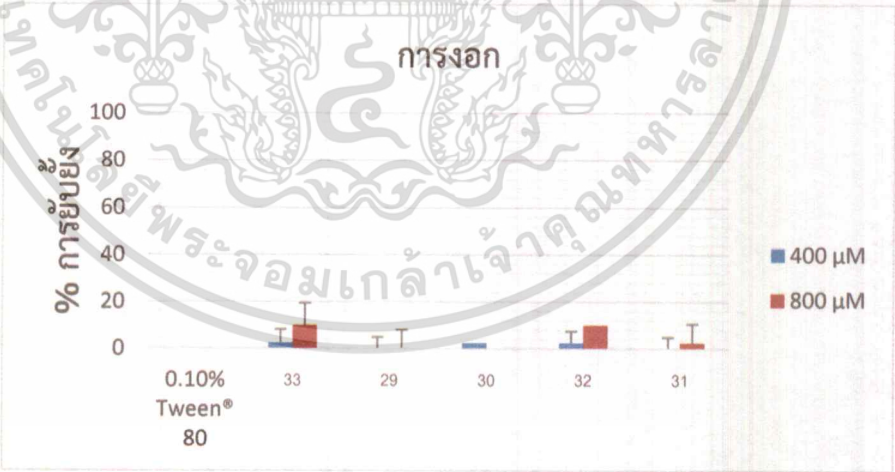
มาก ที่ระดับความเข้มข้น 800 µM อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนนชนิดอื่นๆ แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ปานกลาง-มาก ในขณะเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 400 µM สารไอโซเบนโซฟิวแรโนนชนิดอื่นๆ จะแสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย-ปานกลาง ดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในผักโขมจีน

4.2.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 400 µM และ 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนนทุกตัวที่ทดสอบ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกได้เพียงเล็กน้อยหรือไม่ยับยั้งเลย ดังรูปที่ 4.11

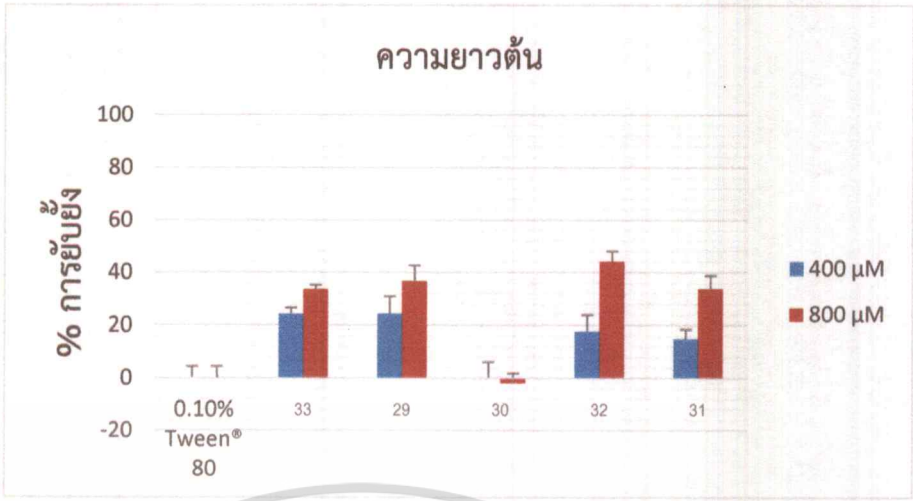


รูปที่ 4.11 กราฟแสดงฤทธิ์การยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก

4.2.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในหญ้าข้าวนก

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวต้นในหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29, 31, 32** และ **33** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย-ปานกลาง ที่ระดับความเข้มข้น 400 µM อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29, 31, 32** และ **33** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้น้อย แต่อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **30** ไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้งความยาวต้นในหญ้าข้าวนก ดังรูปที่ 4.12

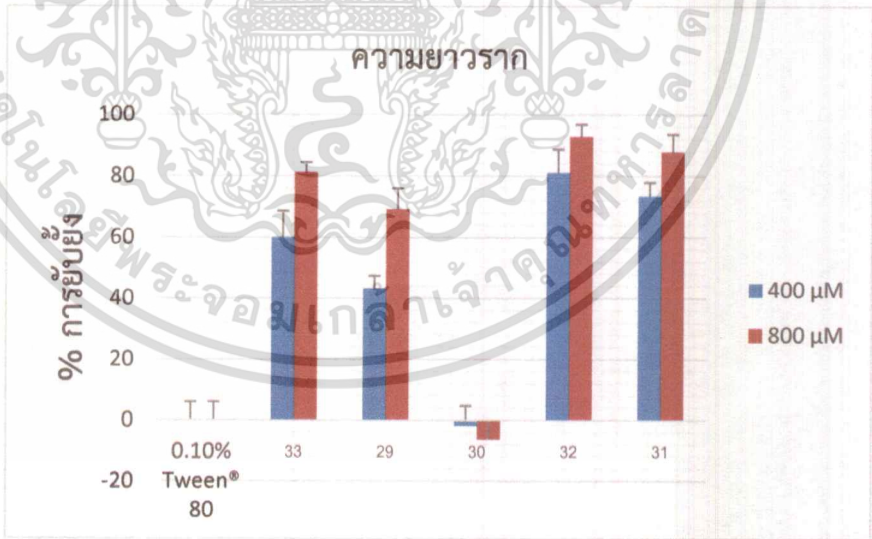
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงฤทธิ์การการเจริญเติบโตของความยาวต้นในหญ้าข้าวนก

4.2.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในหญ้าข้าวนก

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของความยาวรากในหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 800 µM พบว่าอนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29**, **31**, **32** และ **33** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้มาก ที่ระดับความเข้มข้น 400 µM อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **29**, **31**, **32** และ **33** แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ปานกลาง-มาก ในขณะเดียวกัน แต่อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน **30** ไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้งความยาวรากในหญ้าข้าวนก ดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงฤทธิ์การการเจริญเติบโตของความยาวรากในหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 อภิปรายผล

จากผลการทดสอบทั้งหมดพบว่าอนุพันธ์ของสารไอโซเบนโซฟิวแรโนน มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีกว่าหญ้าข้าวนก ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nawasit และคณะ[15] ที่ได้ทำการทดสอบสารกลุ่มแอลดีไฮด์ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก โดยมีผลยับยั้งสูงในผักโขมจีนซึ่งยับยั้งได้สูงสุด 85.13% แต่ในส่วนของหญ้าข้าวนกนั้นสารกลุ่มแอลดีไฮด์ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด

ผลการทดลองในครั้งนี้สังเกตเห็นว่าสาร3-(2-Oxo-2-(thiophen2yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one **(31)** มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของพืชได้ดีที่สุด โดยพบว่าสารที่ 31 มีหมู่ thiophene เป็นส่วนประกอบ ทำให้แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารเคมีกำวัชพืช (herbicide) พบว่ามีผลคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Rychter และคณะ[16] ซึ่งกล่าวไว้ว่าสารที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบโดยสังเคราะห์มาจากสารกลุ่ม thiophene แสดงความเป็นพิษต่อพืชทดสอบ นักวิจัยได้ทำการทดลองกับข้าวโอ๊ตและหัวไชเท้าซึ่งเป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ตามลำดับ พบว่าหัวไชเท้ามีความไวต่อสารเคมีมากกว่าข้าวโอ๊ต และมีการประเมินความเป็นพิษของสารกลุ่ม thiophene จากการงอกและน้ำหนักของพืชที่ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไอโซเบนโซฟิวแรโนน (Isobenzofuranone) โดยปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ต่อด้วยปฏิกิริยาการปิดวง และศึกษาฤทธิ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) และพืชใบเลี้ยงคู่คือผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) ซึ่งพบว่าได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีเปอร์เซ็นผลผลิตปานกลาง และสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่มีมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวหรือสีเหลืองชีด ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้งสองชนิด พบว่าไอโซเบนโซฟิวแรโนน 31 ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 µM มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของผักโขมจีนอย่างสมบูรณ์ ส่วนผลต่อหญ้าข้าวนกพบว่าสารประกอบไอโซเบนโซฟิวแรโนนทุกชนิด ยกเว้นสาร 30 สามารถยับยั้งความยาวต้นของหญ้าขาวนกได้ปานกลาง และยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกได้ดี โดยสารที่สังเคราะห์ได้ทุกชนิดไม่มีผลยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก อีกทั้งพบว่าฤทธิ์ในการปราบวัชพืชของไอโซเบนโซฟิวแรโนนนั้นขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้ โดยความเข้มข้นสูงยับยั้งพืชทดสอบได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำและรากของพืชทดสอบได้รับผลกระทบจากสารสังเคราะห์มากกว่าต้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภัณฑ์ของสารบางตัวต่ำ เนื่องจากผ่านการตกผลึกหลายครั้งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์สูญหายไปบางส่วน ควรหาวิธีหรือสภาวะการทดลองที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น

2. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชในงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาเฉพาะวัชพืชและพืชบางชนิดเท่านั้น ซึ่งพบว่าสารประกอบที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่มีฤทธิ์ปานกลาง-ดี ถ้าหากนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาเพิ่มเติมกับวัชพืชชนิดอื่นอาจจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1]. Molisch, H., Der Einfluss einer Pflanze auf die andere, Allelopathie. *Fischer Jena* **1937.**

[2]. Macias, F. A.; Molinillo, J. M.; Varela, R. M.; Galindo, J. C., Allelopathy—a natural alternative for weed control. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* **2007,** *63* (4), 327-348.

[3]. Duke, *Weed Physiology: Volume I: Reproduction and Ecophysiology*. CRC Press: **2017.**

[4]. Heisey, R.; DeFrank, J.; Putnam, A. In *A survey of soil microorganisms for herbicidal activity*, ACS Symposium series-American Chemical Society (USA), **1985.**

[5]. Putnam, A. R., Weed allelopathy. *Weed physiology* **1985,** *1*, 131-155.

[6]. Zeng, R. S.; Luo, S. M.; Shi, Y. H.; Shi, M. B.; Tu, C. Y., Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid F on higher plants. *Agronomy journal* **2001,** *93* (1), 72-79.

[7]. Huang, X.-Z.; Zhu, Y.; Guan, X.-L.; Tian, K.; Guo, J.-M.; Wang, H.-B.; Fu, G.-M., A novel antioxidant isobenzofuranone derivative from fungus Cephalosporium sp. AL031. *Molecules* **2012,** *17* (4), 4219-4224.

[8]. Li, P.; Li, J.; Liu, C.; Wang, J.; Liu, X.; Li, Y.; Yang, G.; Zhang, F.; Hu, Q., A new isobenzofuranone derivative from Phlomis betonicoides and its antibacterial activity. *Zhongguo Zhong yao za zhi Zhongguo zhongyao zazhi China journal of Chinese materia medica* **2018,** *43* (20), 4074-4076.

[9]. Strobel, G.; Ford, E.; Worapong, J.; Harper, J. K.; Arif, A. M.; Grant, D. M.; Fung, P. C.; Chau, R. M. W., Isopestacin, an isobenzofuranone from Pestalotiopsis microspora, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry* **2002,** *60* (2), 179-183.

[10]. Mishra, A.; Vinayagam, J.; Saha, S.; Chowdhury, S.; Roychowdhury, S.; Jaisankar, P.; Majumder, H. K., Isobenzofuranone derivatives exhibit antileishmanial effect by inhibiting type II DNA topoisomerase and inducing host response. *Pharmacology research & perspectives* **2014,** *2* (6).

[11]. Xie, Z. P.; Zhang, H. Y.; Li, F. C.; Liu, B.; Yang, S. X.; Wang, H. P.; Pu, Y.; Chen, Y.; Qin, S., A new isobenzofuranone derivative from a marine Streptomyces sp. *Chinese Chemical Letters* **2012,** *23* (8), 941-944.

[12]. Lee, K. Y.; Kim, J. M.; Kim, J. N., Facile synthesis of 3-alkylidene-3H-isobenzofuranones from the Baylis-Hillman reaction of 2-carboxybenzaldehyde. *Synlett* **2003,** *2003* (03), 0357-0360.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[13]. Sueki, S.; Wang, Z.; Kuninobu, Y., Manganese-and borane-mediated synthesis of isobenzofuranones from aromatic esters and oxiranes via C–H bond activation. *Organic letters* **2016,** *18* (2), 304-307.

[14]. Rahman, A.; Ali, R.; Jahng, Y.; Kadi, A. A., A Facile Solvent Free Claisen-Schmidt Reaction: Synthesis of α, α′-bis-(Substituted-benzylidene) cycloalkanones and α, α′-bis-(Substituted-alkylidene) cycloalkanones. *Molecules* **2012,** *17* (1), 571-583.

[15]. Chotsaeng, N.; Laosinwattana, C.; Charoenying, P., Inhibitory Effects of a Variety of Aldehydes on Amaranthus tricolor L. and Echinochloa crus-galli (L.) Beauv. *Molecules* **2018,** *23* (2), 471.

[16]. Lewkowski, J.; Malinowski, Z.; Matusiak, A.; Morawska, M.; Rogacz, D.; Rychter, P., The effect of new thiophene-derived aminophosphonic derivatives on growth of terrestrial plants: a seedling emergence and growth test. *Molecules* **2016,** *21* (6), 694.

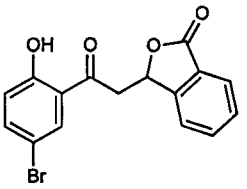
[17]. **รังสิต สุวรรณเขตนิคม.2533.สารกำจัดวัชพืชกับผลทางสรีรวิทยาของพืช.กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

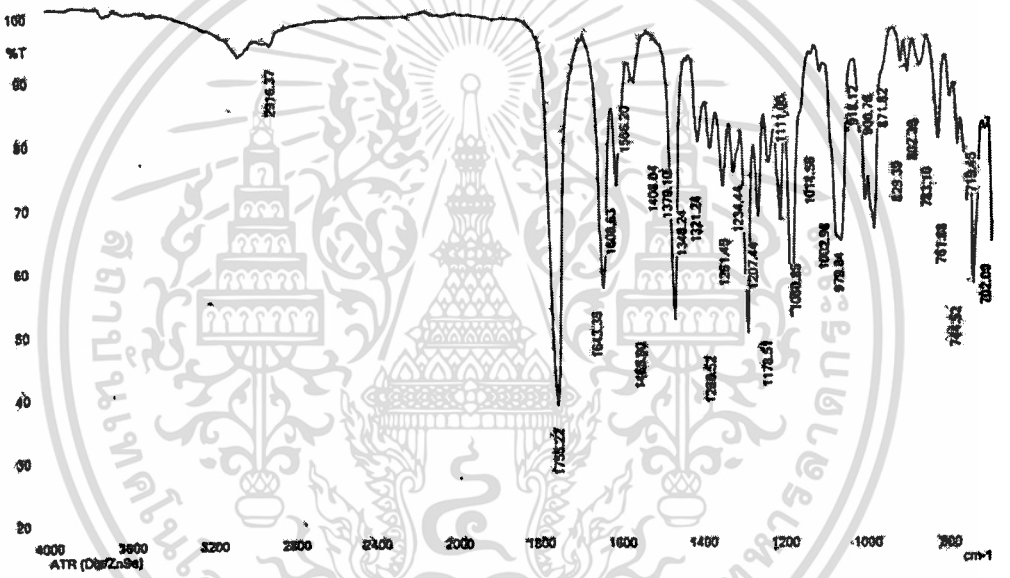
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IR Spectra of synthetic isobenzofuranones

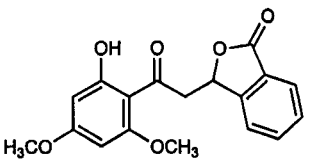


29

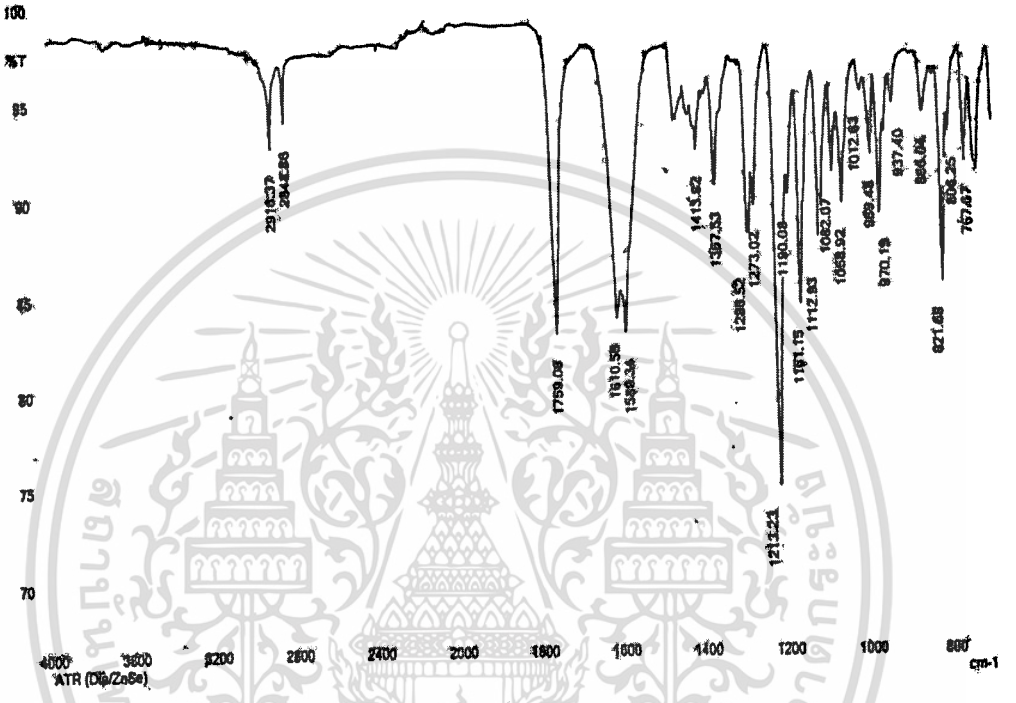


ภาพ IR ของ 3-(2-(5-Bromo-2-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

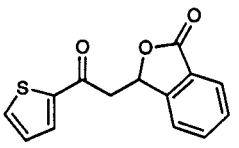


30

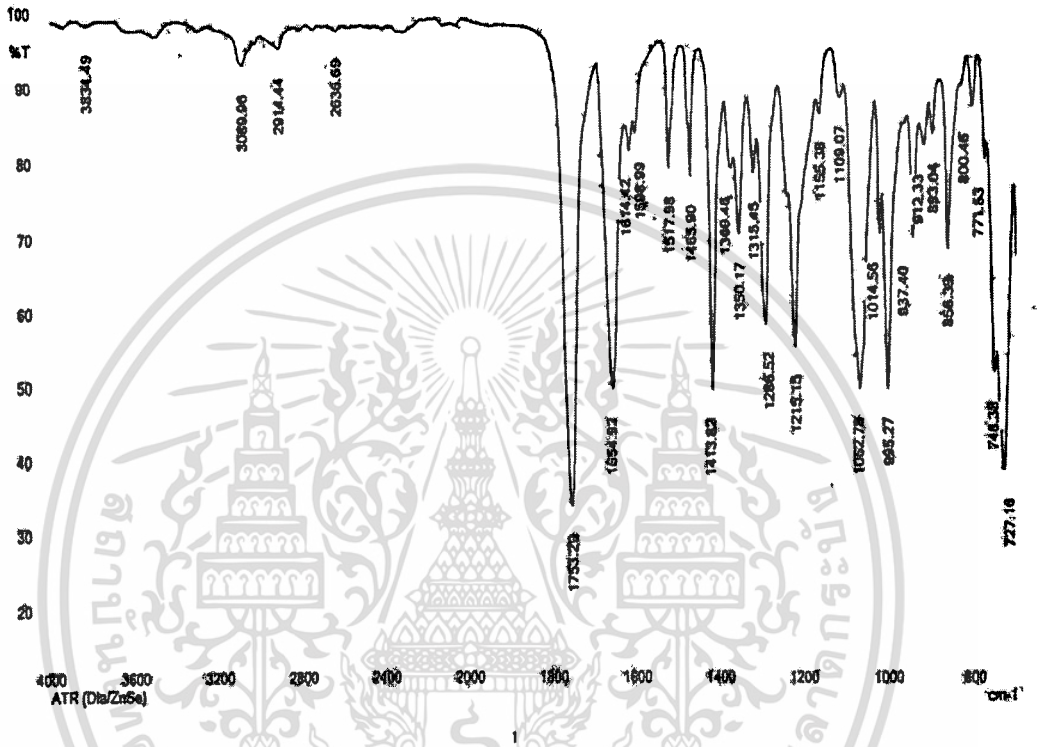


ภาพ IR ของ 3-(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

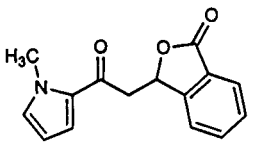


31

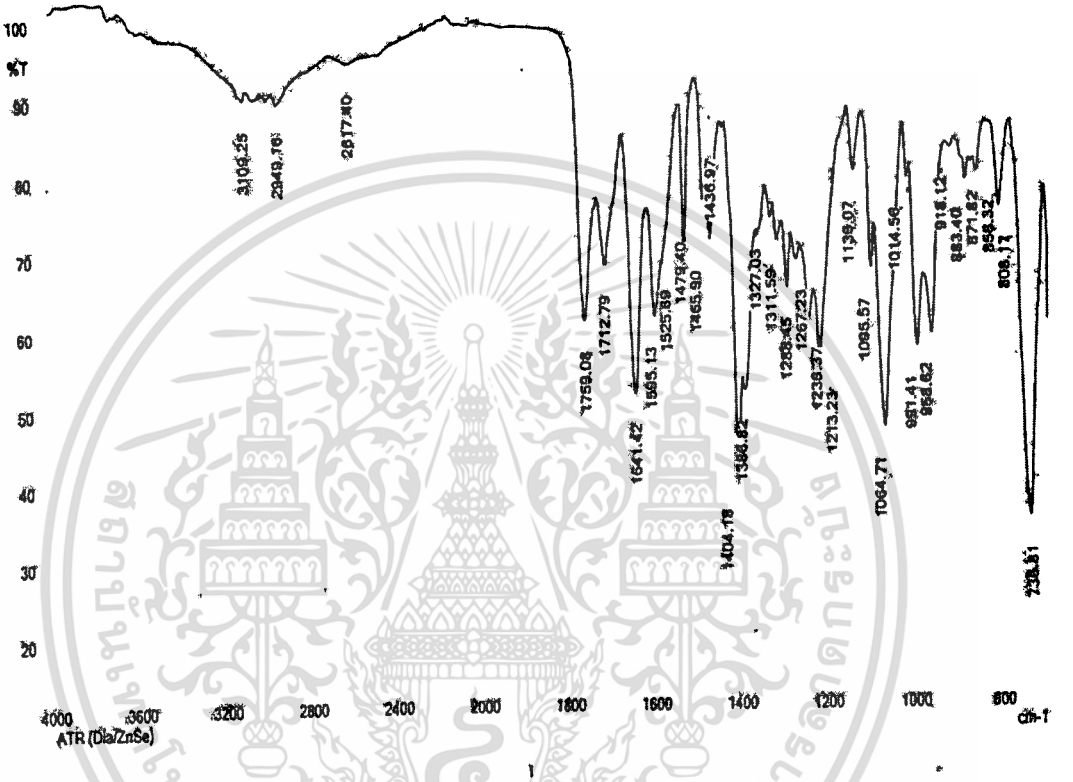


ภาพ IR ของ 3-(2-Oxo-2-(thiophen-2-yl)ethyl)isobenzofuran-1(3H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

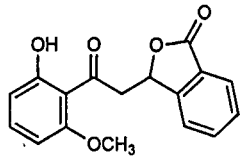


32

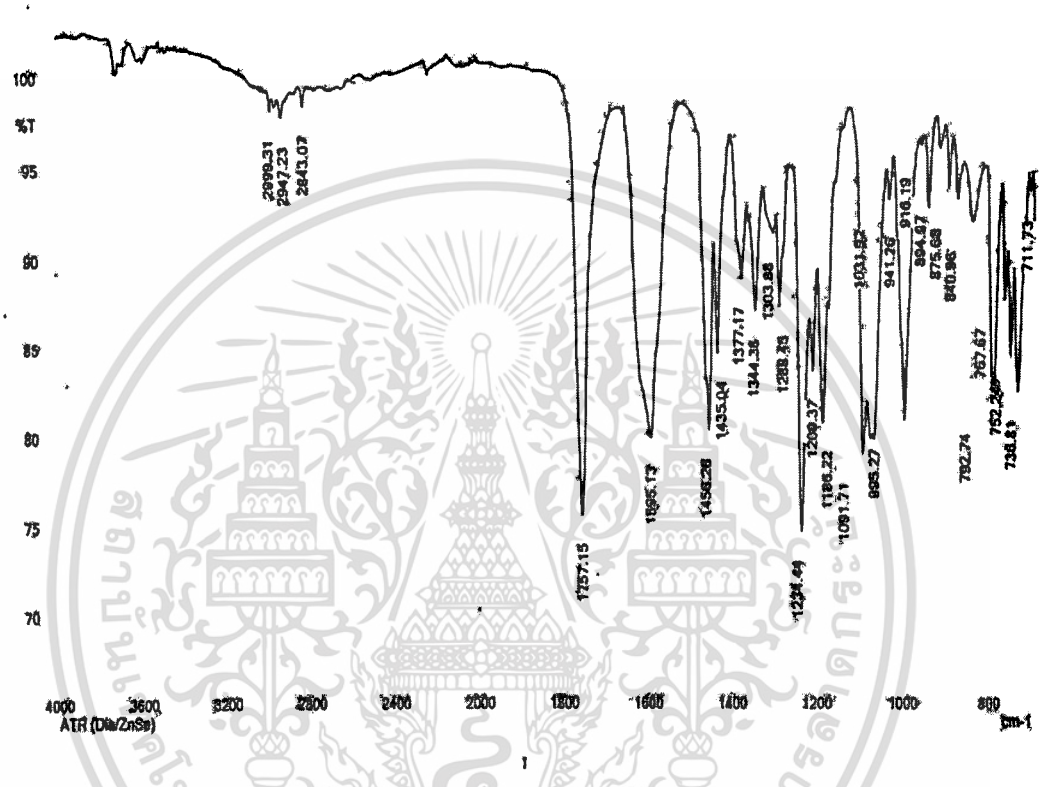


ภาพ IR ของ 3-(2-(1-Methyl-1H-pyrrol-2-yl)-2-oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



33



ภาพ IR ของ 3-(2-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-2oxoethyl)isobenzofuran-1(3H)-one

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้