

ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิกของ
ชาลโคนและฟลาโวน

Antimicrobial Activity of Heterocyclic Derivatives of
Chalcones and Flavone



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิกของ
ชาลโคนและฟลาโวน

Antimicrobial Activity of Heterocyclic Derivatives of
Chalcones and Flavone



71306135

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

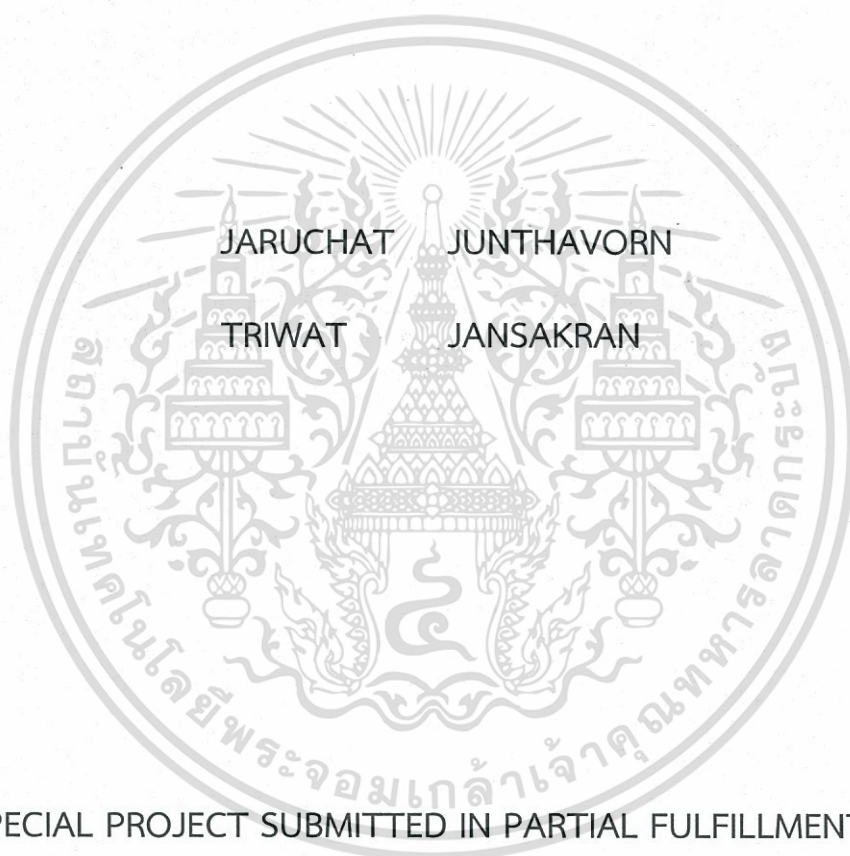
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HETEROCYCLIC
DERIVATIVES OF CHALCONES AND FLAVONE



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิกของชาลโคนและ
 ฟลาโวน
 Antimicrobial Activity of Heterocyclic Derivatives of Chalcones
 and Flavone

ชื่อนักศึกษา นางสาวจารุฉัตร จุนถาวร รหัสนักศึกษา 56050455
 นายตริยวรรณ จันทร์สคราญ รหัสนักศึกษา 56050494


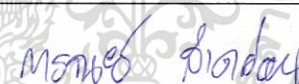

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2559

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. นวสิทธิ์ โชติแสง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
 อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
 (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี ประธานกรรมการ	
ดร.การุณย์ สาดอ่อน กรรมการ	
ดร.นวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิกของซาลิโคนและฟลาโวน	
	Antimicrobial Activity of Heterocyclic Derivatives of Chalcones and Flavone	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจรรุฉิรา จุณถาวร	รหัสนักศึกษา 56050455
	นายตรียวรรธน์ จันทร์ศราญ	รหัสนักศึกษา 56050494
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	เคมี	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2559	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง	

บทคัดย่อ

ฟลาโวกาเวน บี อนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิก 12, 13 และ 14 สามารถสังเคราะห์ได้โดยปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ระหว่าง xanthoxylone และ aromatic aldehydes ในสภาวะเบส เพอร์เซ็นต์ผลผลิตของปฏิกิริยานี้มีค่าต่ำถึงปานกลาง จากการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของซาลิโคนทั้ง 4 ชนิดโดยวิธี Agar Well Diffusion Test พบว่ามีเพียง ฟลาโวกาเวน บี เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *P. aeruginosa* นอกจากนั้นซาลิโคน 12 ถูกเปลี่ยนไปเป็นฟลาโวน 15 โดยปฏิกิริยาการปิดวงที่มี iodine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และจากการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบตัวนี้พบว่าฟลาโวน 15 ไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ

คำสำคัญ: ฟลาโวกาเวน บี, เฮเทอโรไซคลิกซาลิโคน, ฟลาโวน, ต้านเชื้อแบคทีเรีย

Title	Antimicrobial Activity of Heterocyclic Derivatives of Chalcones and Flavone
Student	Miss Jaruchat Junthavorn Student ID 56050455 Mr Triwat Chansakran Student ID 56050494
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year	2016
Advisor	Dr.Nawasit Chotsaeng

Abstract

Flavokawain B and its heterocyclic chalcone derivatives 12, 13 and 14 were prepared by Claisen-Schmidt condensation reaction under basic conditions between xanthoxyline and a variety of aromatic aldehydes. The yields of these reactions were low to moderate. Antibacterial activities of these chalcones on both gram positive and gram negative bacteria namely *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were investigated by Agar Well Diffusion method. It was found that only flavokawain B showed the antibacterial activity against *P. aeruginosa*. Furthermore, chalcone 12 was transformed to flavone 15 by a cyclisation reaction using iodine as a catalyst. This flavone was then evaluated for the antibacterial activities and it exhibited no inhibitory effect at a tested concentration.

Keywords: Flavokawain B, heterocyclic chalcones, flavone, antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง รับหน้าที่เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ซึ่งได้มอบความรู้ สอนทักษะการปฏิบัติงานต่างๆ เทคนิคที่เกี่ยวข้อง ให้คำแนะนำและการช่วยเหลือ พร้อมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.กานต์ วงศาริยะ ซึ่งเป็นผู้มอบความรู้ สอนวิธีการปฏิบัติงานต่างๆ เกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย พร้อมทั้งให้คำปรึกษา คำแนะนำ การช่วยเหลือและแก้ไขปัญหาต่างๆ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี และ ดร.การุณย์ สาดอ่อน คณะกรรมการโครงการพิเศษ ที่เป็นผู้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำ พร้อมทั้งชี้แนะถึงปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนการแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น จึงทำให้โครงการพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ภาควิชาเคมี เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีและเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาเคมี ของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่เป็นผู้อำนวยความสะดวก ให้คำแนะนำและการช่วยเหลือมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา ของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่เป็นผู้อำนวยความสะดวก ให้คำแนะนำและการช่วยเหลือมาโดยตลอดเช่นกัน

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวของผู้วิจัย และขอบคุณพี่และเพื่อนในภาควิชาเคมีและภาควิชาชีววิทยา ตลอดจนบุคคลต่างๆที่ไม่สามารถกล่าวชื่อนามได้หมดในที่นี้ ที่ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือและกำลังใจ ผู้วิจัยรู้สึกเป็นพระคุณอย่างยิ่งที่ได้รับความปรารถนาดีจากทุกท่าน ขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

จารุฉัตร จุนถาวร
ตริยวรรธน์ จันทรศรกาญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
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 แบคทีเรีย (Bacteria).....	3
2.2 ชาลโคน (Chalcones).....	9
2.2.1 คุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของชาลโคน.....	10
2.3 ฟลาโวนาเวิน (Flavokawains).....	11
2.4 เฮเทอโรไซคลิกชาลโคน (Heterocyclic chalcones).....	14
2.5 ฟลาโวน (flavones).....	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	17
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	17
3.1.1 จุลินทรีย์สำหรับการทดลอง.....	17
3.1.2 สารเคมี.....	17
3.1.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	17
3.1.2.2 สารเคมีทั่วไป.....	17
3.1.2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร.....	18
3.1.2.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	19
3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง.....	19
3.2.1 การสังเคราะห์ชาลโคนจาก xanthoxyline และ aromatic aldehydes.....	19
3.2.2 การสังเคราะห์ฟลาโวนจากชาลโคน.....	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของ flavokawains และอนุพันธ์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test.....	21
3.2.3.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสำหรับทำการทดสอบ.....	21
3.2.3.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับทำการทดสอบ.....	21
3.2.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	21
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	22
4.1 ผลการสังเคราะห์ซาลิโคนจาก xanthoxylone และ aromatic aldehydes.....	22
4.2 ผลการสังเคราะห์ฟลาโวนจากซาลิโคน.....	25
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของ flavokawains และอนุพันธ์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test.....	26
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	28
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	28
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	28
เอกสารอ้างอิง.....	29
ภาคผนวก ยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์โดยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ และ $^{13}\text{C NMR}$	36

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด <i>Staphylococcus aureus</i>	26
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด <i>Bacillus subtilis</i>	27
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด <i>Escherichia coli</i>	27
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 ตัวอย่างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	1
2.1 โคโลนีของแบคทีเรีย.....	3
2.2 (a) บาซิลลัส (bacillus) (b) คีออคคัส (coccus) (c) สไปริลลัส (spirillus).....	4
2.3 การติดสีแกรมของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (gram positive bacteria) และแกรมลบ (gram negative bacteria).....	5
2.4 วิธีเรพลิคาเพลตติ้ง (replica plating) ใช้สำหรับตรวจหาการกลายพันธุ์และการรวมตัวกันทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย.....	6
2.5 แบคทีเรียชนิด <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ที่เป็นสาเหตุของวัณโรค.....	7
2.6 กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วยเป็นโรคติดต่อทางเพศที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โรคหนองใน โรคซิฟิลิส และโรคหนองในเทียม.....	8



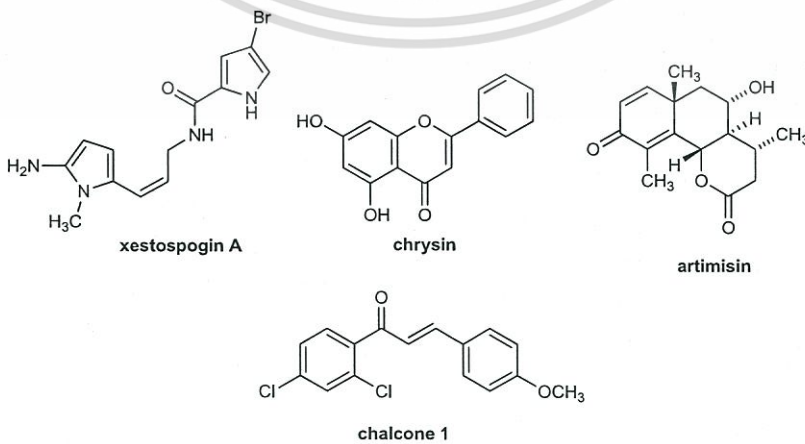
บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันไม่สามารถปฏิเสธได้ว่าเรื่องสุขภาพเป็นเรื่องที่สำคัญที่สุดสำหรับทุกคน ซึ่งมีอีกหนึ่งสิ่งที่มีมักจะเป็นของคู่กันกับสุขภาพคือโรคภัยไข้เจ็บ ที่ไม่ว่าจะเพศหรือวัยใดก็สามารถเกิดอาการเจ็บป่วยได้ทั้งสิ้น โดยสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคส่วนใหญ่มักเกิดจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมรอบตัวเรา สิ่งมีชีวิตชนิดนี้คือแบคทีเรีย ซึ่งในการวิจัยจะมุ่งเน้นไปที่แบคทีเรียที่ถูกจำแนกด้วยการใช้ชั้นตอนการย้อมสีที่เรียกว่าคราบแกรม โดยแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (gram positive bacteria) จะมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วย peptidoglycan ที่หนาและเกิดการรวมตัวของเม็ดสีเป็นจำนวนมากทำให้ติดคราบสีม่วง ส่วนแบคทีเรียชนิดแกรมลบ (gram negative bacteria) จะมีผนังเซลล์ที่บางและไม่สามารถจับเม็ดสีม่วงได้ แต่จะติดเป็นคราบสีแดงบริเวณเยื่อหุ้มชั้นนอกแทน โดยแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ล้วนก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ เช่น วัณโรค อหิวาตกโรค โรคเรื้อน โรคบาดทะยัก โรคปอดบวม และโรคอื่นๆอีกมากมาย และถ้าหากแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์หรือการรวมตัวกันทางพันธุกรรมจะยิ่งทำให้ยากต่อการรักษามากยิ่งขึ้น

จากปัญหาของเชื้อแบคทีเรียดังที่กล่าวไว้ข้างต้น นักวิทยาศาสตร์มีความสนใจในการมองหาสารเคมีทั้งที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural products) และสารสังเคราะห์ (synthetic compounds) เพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือใช้เป็นยารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรีย และพบว่ามีสารอินทรีย์หลากหลายกลุ่ม¹⁻³ ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดี เช่น สารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เทอร์ปีน (terpenes) และซาลิโคน (chalcones) เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 ตัวอย่างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากซาลโคเนหลายชนิดที่สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแล้ว ซาลโคเนที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีชื่อเฉพาะว่า flavokawains (มี 3 ชนิดคือ A B และ C) ยังสามารถแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ อีกมากมาย เช่น ฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการสังเคราะห์ flavokawain B และอนุพันธ์ซาลโคเนและฟลาโวน และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบเหล่านี้ ซึ่งองค์ความรู้และผลการศึกษาในครั้งนี้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการแก้ไขปัญหาในเรื่องสุขภาพหรืออาการป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบที่ผู้คนส่วนมากมักประสบปัญหาในปัจจุบัน หรือนำไปพัฒนาให้เป็นประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 สังเคราะห์ flavokawain B และศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ
- 1.2.2 สังเคราะห์อนุพันธ์ซาลโคเนของ flavokawain B และศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ
- 1.2.3 สังเคราะห์อนุพันธ์ฟลาโวนของ flavokawain B และศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

สารอนุพันธ์ซาลโคเนและฟลาโวนของ flavokawain B มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ โดยอนุพันธ์ที่มีโครงสร้างประกอบไปด้วยวงเฮเทอโรไซคลิกจะทำให้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดียิ่งขึ้น

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

สังเคราะห์ flavokawain B และอนุพันธ์ นำไปศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ในอนาคต

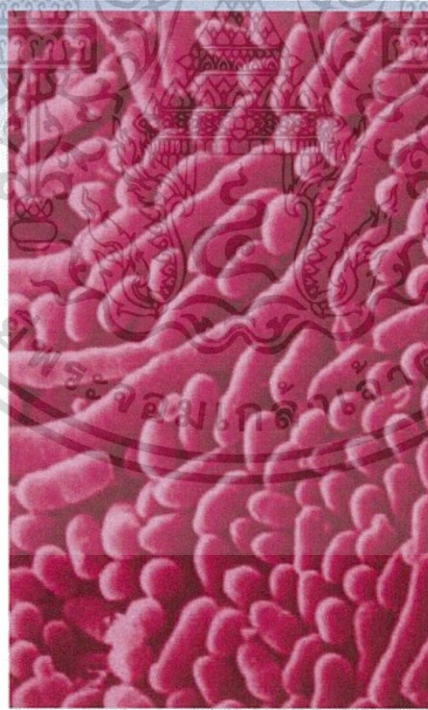
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรีย (Bacteria)⁴

สิ่งมีชีวิตที่มีโครงสร้างอย่างง่ายที่สุดที่อาศัยอยู่บนโลกในทุกวันนี้คือแบคทีเรีย (bacteria) (รูปที่ 2.1) ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่เป็นโพรคาริโอต (prokaryotic) นักชีววิทยาเชื่อว่าสิ่งมีชีวิตชนิดนี้มีความใกล้เคียงกับสิ่งมีชีวิตชนิดแรกที่มีวิวัฒนาการขึ้นบนโลก โดยแบคทีเรียนี้มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและสามารถอยู่อาศัยได้อย่างอิสระ ทุกชีวิตบนโลกใบนี้ไม่สามารถอยู่อาศัยได้โดยปราศจากแบคทีเรียเพราะแบคทีเรียเป็นสิ่งสำคัญของระบบนิเวศ ทั้งการดักจับไนโตรเจนจากบรรยากาศ การสลายตัวของอินทรีย์วัตถุทั้งบนบกและในแหล่งน้ำต่างๆ รวมทั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง อันที่จริงการสังเคราะห์แสงของแบคทีเรีย (เช่น Cyanobacteria) ถือเป็นแหล่งที่มาของออกซิเจนในอากาศ โดยการวิจัยแบคทีเรียยังคงให้ข้อมูลเชิงลึกในด้าน พันธุศาสตร์นิเวศวิทยาและการก่อให้เกิดโรค ดังนั้นการศึกษาทำความเข้าใจเกี่ยวกับแบคทีเรียจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในปัจจุบัน

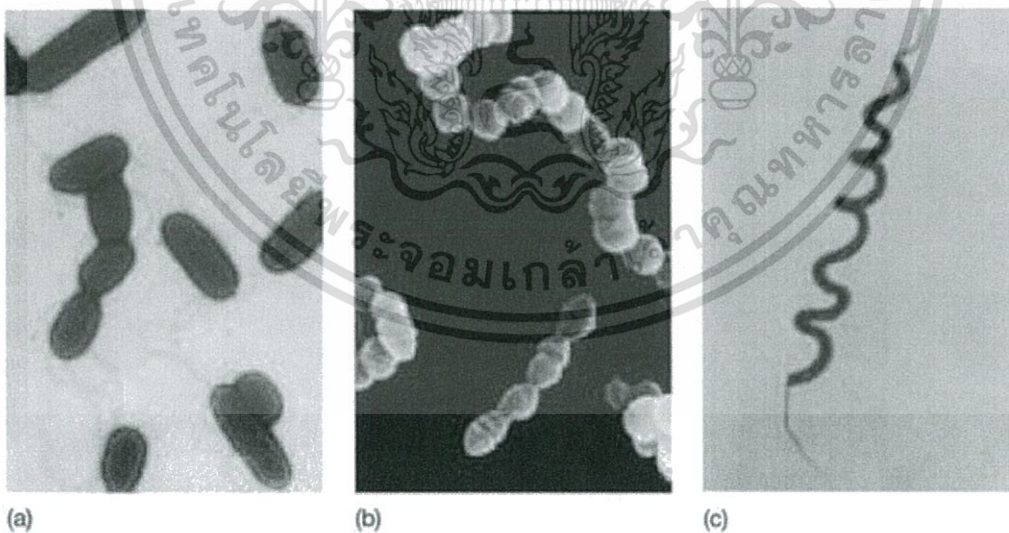


รูปที่ 2.1 โคโลนีของแบคทีเรีย⁴

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 5000 ชนิดของแบคทีเรียที่ได้รับการยอมรับในปัจจุบัน แต่ยังมีอีกหลากหลายสายพันธุ์ที่ยังรอการยืนยันหรือจำแนกชนิด โดยทุกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ถูกค้นพบได้รับการวิเคราะห์ว่ามีความแตกต่างระหว่างโครงสร้างเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น โดยแบคทีเรานั้นสามารถถูกจำแนกชนิดคร่าวๆโดยกระบวนการเมทาบอลิซึมและลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรม และสามารถจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้องยิ่งขึ้นเมื่อถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ที่ทราบอัตราส่วนที่แน่ชัด ซึ่งลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียเหล่านี้มักจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ขึ้นอยู่กับสภาวะการเจริญเติบโต

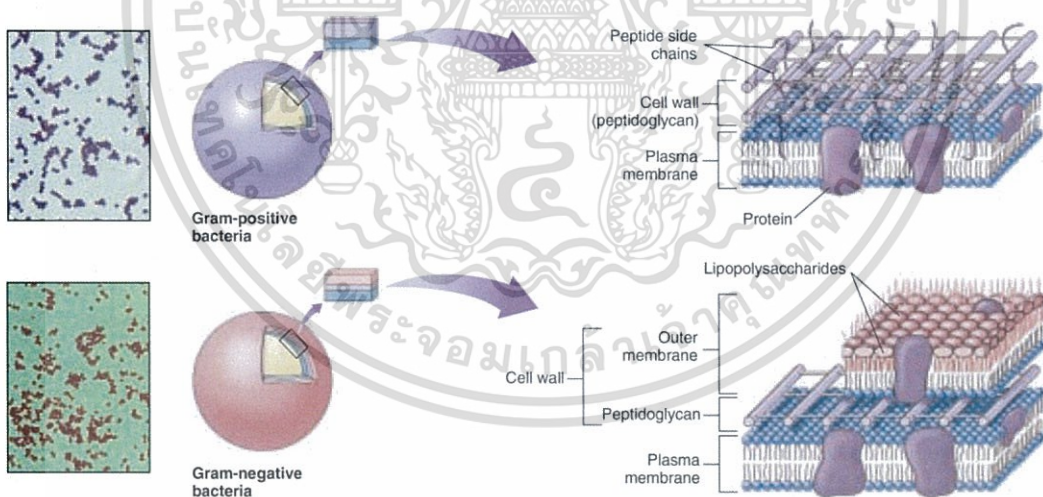
แบคทีเรียส่วนใหญ่มีลักษณะรูปร่างที่เรียบง่ายและสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มโครงสร้างใหญ่ๆได้เป็น 3 โครงสร้างพื้นฐาน ได้แก่ บาซิลลัส (bacillus) มีลักษณะเป็นแท่งตรง (รูปที่ 2.2 (a)) ค็อกคัส (coccus) มีลักษณะเป็นทรงกลม (รูปที่ 2.2 (b)) และสไปริลลัส (spirillus) มีลักษณะคล้ายขดลวดเป็นเกลียวหมุนหรือที่เรียกว่า spirochetes (รูปที่ 2.2 (c)) โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียสไปริลลัสจะอยู่อาศัยอย่างอิสระในสภาพแวดล้อมไม่เกาะกลุ่มเหมือนกับแบคทีเรียรูปร่างอื่น เพราะมีโครงสร้างที่ซับซ้อนภายในเซลล์สามารถทำให้เคลื่อนที่ในลักษณะเป็นเกลียวหมุนผลักไปด้านหน้าได้ ส่วนแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแบบบาซิลลัสและค็อกคัส จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่ๆและเคลื่อนที่ได้หลากหลายรูปแบบอย่างเช่น การต่อยาวเป็นสายโซ่ แต่สำหรับแบคทีเรียบางชนิดอาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้ยาวแยกออกมาเป็นเส้นใยหรือรูปแบบโครงสร้างที่สามารถปล่อยสปอร์ร่างกายเป็นเซลล์เดี่ยวออกมาได้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดจากนักชีววิทยาเกี่ยวกับกลไกการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย



รูปที่ 2.2 (a) บาซิลลัส (bacillus) (b) ค็อกคัส (coccus) (c) สไปริลลัส (spirillus)⁴

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

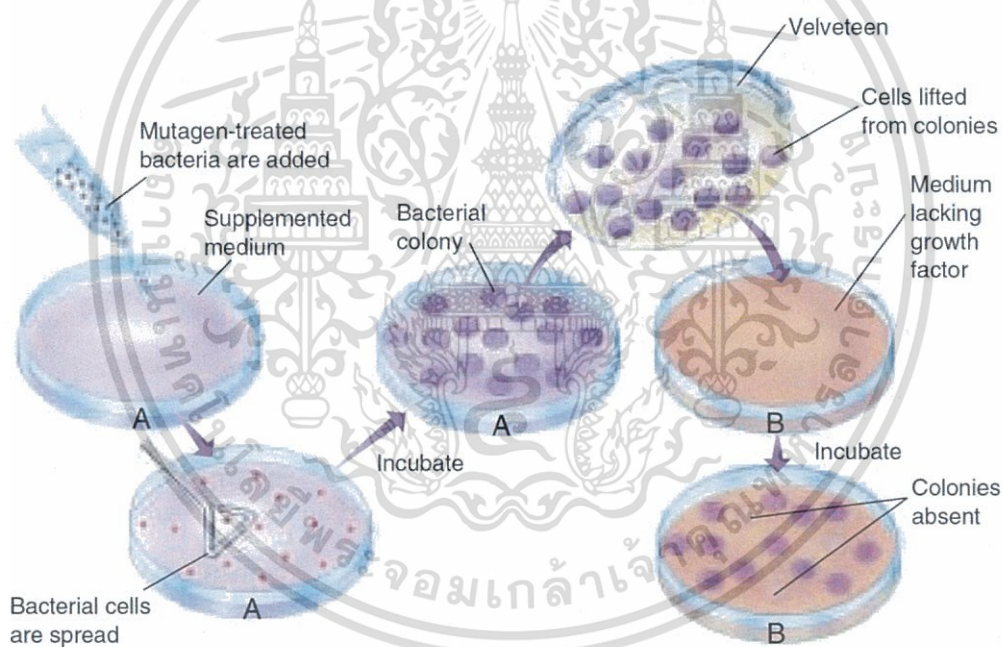
แบคทีเรียจัดเป็นสิ่งมีชีวิตในกลุ่มของโพรคาริโอตที่ประกอบด้วยออร์แกเนลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้ม ไม่มีนิวเคลียส มักเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียจัดเป็นโครงสร้างที่สำคัญเพราะช่วยในการรักษารูปร่างและป้องกันการเสียดสภาพของเซลล์ เมื่อมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ซึ่งผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan เกาะกันในลักษณะของ polypeptide ได้เป็นโมเลกุล polysaccharide เชื่อมโยงกันโดยรอบ แบคทีเรียบางชนิด peptidoglycan จะมีความหนาและซับซ้อนมากขึ้นโดยมี interlaced กับ polypeptide เข้ามาเป็นส่วนประกอบเพิ่มเติม ด้วยเหตุนี้ความแตกต่างของผนังเซลล์ จึงถูกใช้ในการจำแนกประเภทของแบคทีเรีย ที่สามารถระบุได้โดยการใช้ขั้นตอนการย้อมสีที่เรียกว่าคราบแกรม (รูปที่ 2.3) ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive bacteria) จะมีผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan ที่หนาและสามารถติดคราบสีม่วง โดยเม็ดสีจะเกิดการรวมกันเป็นจำนวนมาก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) จะมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วย peptidoglycan ในจำนวนที่น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้มีผนังที่บางและไม่สามารถจัดเก็บเม็ดสีม่วงได้ แต่จะติดเป็นคราบสีแดงบริเวณเยื่อหุ้มชั้นนอก ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แบคทีเรียแกรมลบมีความสามารถต่อต้านยาปฏิชีวนะจำนวนมากที่เข้าไปทำลายการสังเคราะห์ผนังเซลล์ สำหรับแบคทีเรียชนิดแกรมลบบางชนิดอาจสามารถทนต่อยาปฏิชีวนะได้เช่นกัน โดยมีชั้นเมือกมาล้อมรอบผนังเซลล์อีกชั้น หรือที่เรียกว่าแคปซูล (capsule) เพื่อป้องกันการถูกทำลายผนังเซลล์เช่นกัน



รูปที่ 2.3 การติดสีแกรมของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (gram positive bacteria) และแกรมลบ (gram negative bacteria)⁴

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้อย่างรวดเร็ว เพื่อให้สามารถเอาตัวรอดได้ทุกสภาพแวดล้อมที่ต้องพบเจอ โดยมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงอยู่ 2 กระบวนการคือ การกลายพันธุ์และการรวมตัวกันทางพันธุกรรม โดยการกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากข้อผิดพลาดในการคัดลอก DNA ซึ่งมีปัจจัยบางอย่างที่เอกลสารนี้เป็นเอกลสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกลสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเพิ่มโอกาสในการเกิดข้อผิดพลาดขึ้น เช่น รั้งสีอัลตราไวโอเล็ต แสง และสารเคมี เป็นต้น ในแบคทีเรียทั่วไป เช่น *Escherichia coli* มีอยู่ประมาณ 5,000 ยีน ได้มีการศึกษาและคาดการณ์ว่าในทุกๆ 200 ยีนจะเกิดการกลายพันธุ์ 1 ยีน นอกจากนี้หากบริเวณที่แบคทีเรียอาศัยอยู่มีปริมาณอาหารที่เพียงพอเหมาะสมจะทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนประชากรเป็น 2 เท่าได้ภายในเวลา 20 นาที ด้วยเหตุนี้การกลายพันธุ์จึงสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วในกลุ่มของแบคทีเรียและบริเวณสิ่งแวดล้อมนั้นๆ ส่วนอีกกระบวนการคือการรวมตัวกันทางพันธุกรรมของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นโดยการโอนย้ายยีนจากเซลล์หนึ่งไปรวมกับอีกเซลล์หนึ่งที่เป็นเซลล์คนละสายพันธุ์ ซึ่งจะส่งผลให้แบคทีเรียที่เกิดการรวมตัวทางพันธุกรรมมีคุณสมบัติหรือฤทธิ์ในการก่อให้เกิดโรคที่เพิ่มมากขึ้น โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้สามารถตรวจพบได้โดยเทคนิคที่เรียกว่าวิธีเรพลิคาเพลติง (replica plating) (รูปที่ 2.4) ซึ่งจะช่วยให้สังเกตเห็นลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้องการจะตรวจสอบได้ โดยไม่ทำลายเซลล์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้การศึกษากการกลายพันธุ์และการรวมตัวกันทางพันธุกรรมของแบคทีเรียถือว่ามีบทบาทที่สำคัญในการสร้างความหลากหลายของแบคทีเรียอีกด้วย



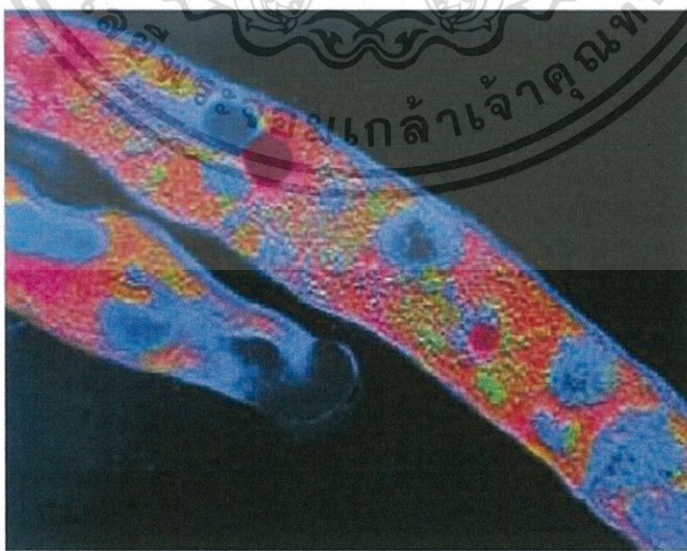
รูปที่ 2.4 วิธีเรพลิคาเพลติง (replica plating) ใช้สำหรับตรวจหาการกลายพันธุ์และการรวมตัวกันทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย⁴

เนื่องด้วยแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถปรับตัวเพื่ออยู่อาศัยได้ทุกสภาพแวดล้อมบนโลกใบนี้ จึงทำให้ไม่ว่าส่วนใดของโลกก็สามารถพบแบคทีเรียได้ทุกที่รวมถึงร่างกายของมนุษย์ ซึ่งแบคทีเรียยังถูกจัดเป็นจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคทั้งในมนุษย์ สัตว์และพืช หรืออาจจะเป็นสิ่งมีชีวิตทุกชนิดก็เป็นได้ โดยแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์มีเป็นจำนวนมาก จึงทำให้เกิดโรคที่หลากหลาย เช่น อหิวาตกโรค โรคเรื้อน โรคบาดทะยัก โรคปอดบวมที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โรคไอกรนและโรคคอติด ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแต่ละชนิดจะสามารถก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกันออกไป เช่น แบคทีเรียชนิด *Streptococcus* จะมีความเกี่ยวข้องกับโรคไขข้ออักเสบ ไข้รูมาติก โรคปอดบวมและการติดเชื้ออื่นๆ สำหรับวัณโรคจัดเป็นอีกโรคหนึ่งที่เกิดจากแบคทีเรียและทำให้เสียชีวิตได้ ส่วนใหญ่ของโรคเหล่านี้สามารถแพร่กระจายได้ทางอากาศหรือไอน้ำที่ออกจากร่างกายของผู้ที่ติดเชื้อ เช่น การไอหรือจาม เป็นต้น ส่วนแบคทีเรียบางชนิดอาจจะแพร่กระจายไปตามแหล่งอาหารหรือน้ำ เมื่อรับประทานเข้าไป จึงทำให้เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในร่างกายและก่อให้เกิดโรคได้มากมาย เช่น โรคไข้รากสาด โรคบิด โรคท้องร่วง เป็นต้น โดยส่วนใหญ่จะอาศัยพาหะนำโรคในการแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรีย เช่น หนูและแมลงต่างๆ

วัณโรคถูกจัดเป็นอันดับ 1 ในการพรากชีวิตของมนุษย์มานานนับพันๆปี ปัจจุบันประมาณ 1 ใน 3 ของประชากรทั่วโลกมีการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Mycobacterium tuberculosis* ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดวัณโรค (รูปที่ 2.5) จากการรายงานการเจ็บป่วยประจำปี พบว่า 3 ล้านจาก 8 ล้านคน เสียชีวิตด้วยสาเหตุที่เกิดจากวัณโรค (องค์การอนามัยโลกคาดการณ์การเสียชีวิตประมาณ 4 ล้านคน ต่อปี ในปี ค.ศ.2005) โดยสาเหตุของการแพร่กระจายโรคนี้นี้มีปัจจัยหลักทางสังคม เช่น ความยากจน เรื้อรัง และการถูกตัดสินจำคุก เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ส่วนมากกระตุ้นให้เกิดความหนาแน่นของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดวัณโรคเพิ่มมากขึ้นและถ้าหากมีการแพร่กระจายในกลุ่มคนที่ติดเชื้อ HIV จะยังมีแนวโน้มที่จะพัฒนาวัณโรคได้ดียิ่งกว่าคนปกติที่มีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีต่อสุขภาพ นอกจากนี้ในปี 1995 ได้มีการระบาดของสายพันธุ์ *tuberculosis* ที่มีฤทธิ์ดื้อยาที่ใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดวัณโรค จึงทำให้ต้องใช้เวลาและค่าใช้จ่ายในการรักษาที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก โดยมีสาเหตุมาจากหลายด้านทั้งฤทธิ์ของเชื้อแบคทีเรีย ภูมิคุ้มกันของร่างกาย รวมไปถึงจำนวนเงินที่ไม่เพียงพอในการทำการรักษาด้วยเช่นกัน

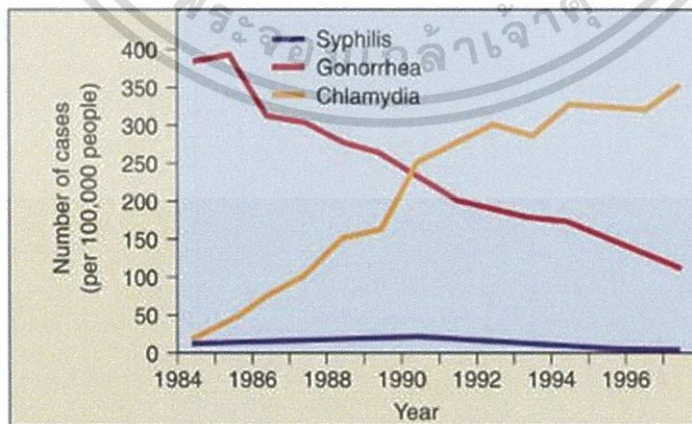


รูปที่ 2.5 แบคทีเรียชนิด *Mycobacterium tuberculosis* ที่เป็นสาเหตุของวัณโรค⁴

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคฟันผุจัดเป็นหนึ่งในโรคของมนุษย์ที่เรามักไม่ค่อยคิดว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งความจริงแล้วเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในคราบจุลินทรีย์ สามารถพบได้ง่ายในบริเวณที่เข้าถึงได้ยากอย่างเช่นแปรงสีฟัน และอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลเป็นส่วนประกอบสูงจะเป็นอันตรายอย่างยิ่ง เพราะแบคทีเรียจะทำการหมักน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติก ซึ่งเป็นสารที่จะช่วยลดความเป็นกรดต่างภายในช่องปากก่อให้เกิดการสูญเสียแคลเซียมจากฟัน การรับประทานอาหารของหวานเป็นเวลานานหรือการดูดลูกอม ในช่วงเวลานั้นจะทำให้ระดับค่าพีเอช (pH) ภายในช่องปากต่ำลง ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของสารเคลือบฟันจนถึงขั้นที่แคลเซียมจะถูกปล่อยออก เหลือแต่เพียงเนื้อฟันที่มีลักษณะนิ่มกว่าแคลเซียม ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการที่เชื้อแบคทีเรียจะเข้าไปทำลายโปรตีนและก่อให้เกิดโรคฟันผุได้อย่างรวดเร็วในภายหลัง

โรคติดต่อทางเพศ มักมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียหลักๆ อยู่ 3 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกัน โดยที่โรคเหล่านี้เป็นโรคที่มีมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งมีจำนวนผู้ป่วยที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละปี ขึ้นอยู่กับวิธีการทำการศึกษาที่ถูกพัฒนาขึ้น รวมถึงพฤติกรรมของมนุษย์ด้วยเช่นกัน (รูปที่ 2.6) ได้แก่ โรคหนองในหรือที่เรียกว่าหนองในแท้ เป็นโรคที่มีความแพร่หลายมากที่สุด โดยเฉพาะในทวีปอเมริกาเหนือที่มีสาเหตุของโรคมารจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Neisseria gonorrhoeae* โดยหนองที่อยู่ภายในจะสามารถส่งผ่านการมีเพศสัมพันธ์ไม่ว่าจะเป็นทางใดก็ตาม ซึ่งของเหลวในร่างกายจะมีการแลกเปลี่ยนได้หลากหลายช่องทาง เช่น การมีเพศสัมพันธ์ทางทวารหนักหรือทางช่องปาก สามารถที่จะติดเชื้อหนองในได้ทั้งบริเวณคอ ท่อปัสสาวะ ปากมดลูกหรือทวารหนักได้ทั้งสิ้น และยังสามารถแพร่กระจายไปยังดวงตาและอวัยวะภายในต่างๆ ที่ของเหลวนี้สามารถเคลื่อนที่ไปได้ ก่อให้เกิดโรคอื่นๆ ตามมาในภายหลัง เช่น โรคตาแดง (เป็นอาการติดเชื้ออย่างรุนแรงบริเวณดวงตา) โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคข้ออักเสบ (เกิดจากการติดเชื้อบริเวณข้อต่อ) สำหรับในผู้หญิงถ้าหากติดเชื้อของโรคหนองในจะทำให้เป็นโรคอุ้งเชิงกรานอักเสบ โดยสภาพภายในท่อนำไข่จะเกิดบาดแผลจนอักเสบเป็นหนองในเวลาต่อมา



รูปที่ 2.6 กราฟแสดงจำนวนผู้ป่วยเป็นโรคติดต่อทางเพศที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โรคหนองใน โรคซิฟิลิส และโรคหนองในเทียม⁴

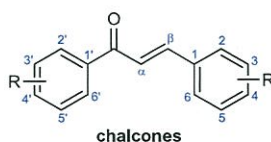
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับอีกโรคติดต่อทางเพศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียคือ โรคซิฟิลิส ซึ่งอดีตถูกจัดว่าเป็นโรคที่เกิดขึ้นอย่างแพร่หลาย แต่ในปัจจุบันมีปริมาณผู้ป่วยที่ลดน้อยลงเนื่องด้วยวิธีการรักษาและยาปฏิชีวนะที่ได้รับการพัฒนาให้ดียิ่งขึ้น โดยโรคซิฟิลิสเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Treponema pallidum* ซึ่งจะถูกส่งผ่านการมีเพศสัมพันธ์ได้โดยตรงและยังสามารถถ่ายทอดจากมารดาไปยังทารกในครรภ์ได้ ซึ่งก่อให้เกิดความผิดปกติกับอวัยวะต่างๆ เช่น หัวใจ ดวงตาและระบบประสาทของทารก

และอีกโรคที่สามารถติดต่อทางเพศสัมพันธ์คือโรคหนองในเทียม จัดว่าเป็นภัยเงียบที่เกิดขึ้นในผู้หญิง เพราะผู้หญิงที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียมักจะไม่แสดงอาการจนกระทั่งหลังจากการติดเชื้อได้เกิดการแพร่กระจายในร่างกายเป็นที่เรียบบรื้อแล้ว โดยโรคนี้นี้มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Chlamydia trachomatis* แต่โรคนี้อาจเกิดจากแบคทีเรียหรือไวรัสก็ได้ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียจะเข้าไปอาศัยเป็นปรสิตอยู่ภายในร่างกายและถูกส่งผ่านทางช่องคลอด ทวารหนัก ช่องปาก ระหว่างการมีเพศสัมพันธ์กับผู้ติดเชื้อ ทั้งนี้โรคหนองในเทียมยังก่อให้เกิดโรคอื่นๆตามมาในภายหลัง เช่น โรคอุ้งเชิงกรานอักเสบที่อาจส่งผลกระทบต่อปัสสาวะเป็นหมันได้ และเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถก่อให้เกิดโรคหัวใจโดยที่แบคทีเรียจะผลิตเปปไทด์ (peptide) ที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงกับเปปไทด์ที่กล้ามเนื้อหัวใจผลิต ทำให้ภูมิคุ้มกันในร่างกายที่พยายามจะทำลายเชื้อแบคทีเรีย เกิดความสับสนและทำลายเส้นใยกล้ามเนื้อหัวใจร่วมไปกับเชื้อแบคทีเรีย โดยที่ไม่ได้ตั้งใจจึงทำให้เกิดอาการอักเสบของหัวใจและปัญหาเรื่องอื่นๆตามมาอีกด้วย

2.2 ชาลโคน (Chalcones)

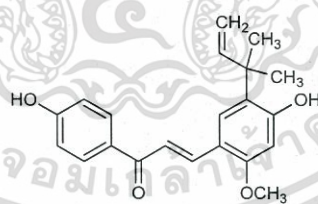
ในปี ค.ศ.2013 Yerragunta และคณะ⁵ ได้ทำการศึกษาและรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวกับชาลโคนได้ว่า สารประกอบชาลโคนเป็นที่สนใจในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ในระดับโลก ซึ่งชื่อชาลโคนนี้ถูกกำหนดขึ้นโดย Kostanecki และ Tambor⁶ ชาลโคนยังเป็นที่รู้จักกันในรูปของ benzyl acetophenone หรือ benzylidene acetophenone โดยโครงสร้างหลักของ ชาลโคนจะประกอบด้วยวงอะโรมาติก 2 วงที่มีพันธะเชื่อมโยงด้วย aliphatic 3 คาร์บอน มีชื่อเรียกตาม IUPAC ว่า *trans*-1,3-diaryl-2-propen-1-one เป็นอะโรมาติก α,β -unsaturated ketone ที่มีหมู่แทนที่ที่หลากหลาย ชาลโคนถูกนำมาใช้เป็นตัวกลางสำหรับเตรียมสารประกอบที่มีประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา นอกจากนี้ชาลโคนยังได้รับการระบุว่า เป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆที่น่าสนใจ⁷⁻¹³ เมื่อชาลโคนบางชนิดถูกปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้มีลักษณะเป็น heterocycles อาจทำให้มีฤทธิ์ในทางการรักษาที่ดีขึ้นอีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 คุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของชาลโคน

สำหรับฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของชาลโคนมีการรายงานข้อมูลไว้เป็นจำนวนมาก โดยกลุ่มนักวิจัยได้ทำการแยกและระบุโครงสร้างของชาลโคนที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย หรือการสังเคราะห์ หรือการนำชาลโคนจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ ตัวอย่างเช่น Tsukiyama และคณะ¹⁴ สกัดแยก licochalcone A จากรากของชะเอม (*Glycyrrhiza inflata*) และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์พบว่า licochalcone A นั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Miorococcus luteus* เป็นผู้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วย licochalcone A ซึ่งจะแสดงที่ MICs 2-15 µg/mL พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รวมถึงแบคทีเรียที่อยู่ในรูปของสปอร์ได้ เช่น *Bacillus coagulans*, *B. subtilis* และ *Bacillus stearothermophilus* (MIC = 2 µg/mL) เช่นเดียวกับ *Clostridium sporogenes* (8 µg/mL) และแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารพิษได้ เช่น *Bacillus cereus* (3 µg/mL) และ *S. aureus* (3 µg/mL) เป็นต้น licochalcone A ยังมีประสิทธิภาพในการต่อต้านอื่นๆอีก เมื่อนำมาทดสอบต้าน *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* กับ MICs 5 µg/mL เช่นเดียวกับ *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* กับ MICs 6 µg/mL และมีการนำมาใช้กับ *Streptococcus lactis* และ *Staphylococcus mutans* กับ MICs ที่ 8 และ 5 µg/mL และตามลำดับ นอกจากนี้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของ licochalcone A ยังสามารถทนต่อความร้อนในช่วง 80-121°C ได้นานถึง 15 นาทีและยังมีเสถียรภาพที่ดีจากค่า pH 5-7 ถึงแม้ว่าจะต้องออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในที่มีค่าความเป็นกรดต่างสูงก็ยังสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงในน้ำย่อยด้วยเช่นกัน



licochalcone A

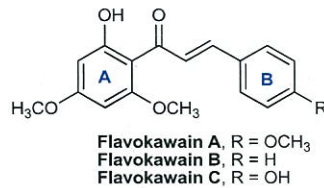
นอกจากนั้น Friis-Möller และคณะ¹⁵ รายงานว่า licochalcone A ที่ความเข้มข้นประมาณ 1-2 µg/L สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Legionella pneumophila*, *Legionella longbeachae*, *Legionella wadsworthii*, *Legionella bozamanii*, *Legionella dumoffi* และ *Legionella feelei* นอกจากนี้เมื่อ Fukai และคณะ¹⁶ ได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมทำให้พบว่า licochalcone A ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Helicobacter pylori* ในหลอดทดลอง (MIC = 25 µg/mL) ได้อีกด้วย

Kromann และคณะ¹⁷ ได้ทำการทดสอบ analogues ของ licochalcone A ที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ *S. aureus* และแสดงให้เห็นว่ากลุ่ม hydroxyl อิสระในตำแหน่งที่ 4 ของวงอะโรมาติก B ของโครงสร้างมีความจำเป็นในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ในทางกลับกันจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ เมื่อกลุ่ม hydroxyl ในตำแหน่งที่ 4 ของวงอะโรมาติก A ถูกลบออกหรือบล็อกด้วย methyl หรือถูกแทนที่ด้วย chlorine (สารประกอบ 2 MIC = 10 µg/mL ที่สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* การถอดหรือการบล็อกกลุ่ม hydroxyl ทั้งสอง ด้วย methylation จะเป็นการกำจัดฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียอย่างสมบูรณ์ เมื่อกลุ่ม lipophilic prenyl เป็นตัวช่วยลดการสูญเสียคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ ถ้าหากกลุ่ม phenyl มีการแลกเปลี่ยนด้วยกลุ่ม propyl จะส่งผลให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียอยู่ที่ระดับปานกลาง ในเบื้องต้นกลุ่ม hexyl ในซาลโคน 3 มีคุณสมบัติที่ดีกว่า licochalcone A เมื่อทำการเปรียบเทียบ Clog P กับสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่กำลังศึกษาอยู่ ทำให้มีความชัดเจนของความสัมพันธ์ในด้านที่ตีระหว่าง lipophilicity และฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดย lipophilic มีลักษณะโมเลกุลที่แข็งแรงทำให้มีบทบาทสำคัญในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากตัวอย่างฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่หลากหลายชนิดของซาลโคน ดังนั้นซาลโคนจึงจัดว่าเป็นแม่แบบที่มีความหลากหลายเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยคุณสมบัติของกลุ่ม phenolic ที่มีอยู่ในซาลโคนจำนวนมาก ทำให้สามารถนำสารประกอบซาลโคนมาใช้หรือทำการสกัดออกมาจากพืชประยุกต์ทำเป็นยารักษาโรคหรือสารกันบูดในอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการติดเชื้อและต้านการอักเสบด้วยเช่นกัน

2.3 ฟลาโวกาเวิน (Flavokawains)

Flavokawains¹⁸ นั้นเป็นซาลโคนชนิดหนึ่งที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและมีโครงสร้างหลักเป็น 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone ซึ่งมีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ Flavokawain A, Flavokawain B และ Flavokawain C สารเหล่านี้มีสายโซ่หลักคล้ายคลึงกัน แตกต่างที่หมู่เกาะด้านข้างในตำแหน่งที่ 4 ของวงอะโรมาติก B ซึ่ง flavokawain A ประกอบด้วยหมู่ methoxy ส่วน flavokawain B นั้นไม่มีหมู่แทนที่ และ flavokawain C มีหมู่ hydroxyl โดยฟลาโวกาเวินทั้ง 3 ชนิดนั้น มีเพียง flavokawain B เท่านั้นที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในทางวิทยาศาสตร์ที่รู้จักกันในชื่อ 6'-hydroxy-2',4'-dimethoxychalcone ซึ่งเป็นสารประกอบชนิดแรกที่พบในรากของคาวา หลังจากนั้นก็ถูกค้นพบในพืชอีกหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *Aniba riparia*, *P. triangularis var. palloda* และ *Didymocarpus corchorijolia*



ได้มีการรายงานมากมายว่า flavokawains และอนุพันธ์สามารถแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายและน่าสนใจ¹⁹⁻²⁵ เช่น ในปี ค.ศ.2008 Tang และคณะ²⁶ ดำเนินการวิจัยพบว่า flavokawain A ได้ส่งผลกระทบต่อการควบคุมวัฏจักรเซลล์ p53-wild-type ของเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ(RT4) ทำให้พบว่า flavokawain A ที่เพิ่มปริมาณ P21 และ P27 ในวัฏจักรเซลล์โปรตีนและเหนี่ยวนำให้เกิดการจับ G1 นอกจากนี้ยังพบว่าในเซลล์ p53-mutant type T24 flavokawain A ชักนำให้เกิดการจับ G2/M แทน Tang และคณะชี้ให้เห็นว่ากลไกในระดับโมเลกุลพื้นฐานที่เกิดการลดลงของการยับยั้ง kinases, Mytl และ Weel ในการศึกษาที่คล้ายกับ ในปี ค.ศ. 2005 Zi และคณะ²⁷ flavokawain A แสดงให้เห็นถึงการตายของไมโทคอนเดรียในเซลล์ T24 ทำให้พิสูจน์ได้ว่า flavokawain A ทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะได้ จากการศึกษารายงานว่าสารประกอบนี้ยังเกาะติดกับ caspase 3, caspase 9 และ poly-(ADP-ribose) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับปริมาณ โดยความคิดนี้ยังได้รับการสนับสนุนเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงในเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียที่มีศักยภาพที่จะนำไปสู่การเปิดตัวของ cytochrome C นอกจากนี้อัตราส่วนของ Bax/Bcl-xl เปลี่ยนเมื่อการรักษาของ flavokawain A มีอัตราส่วนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆถึง 650% ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับเวลา สารประกอบนี้ยังสามารถลดระดับการยับยั้งของ X-linked การตายของเซลล์ (XIAP) และ survivinb ในเซลล์ T24 ในรูปแบบของ xenograft ของโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะในร่างกาย โดยที่ flavokawain A จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณเนื้องอกประมาณ 57%

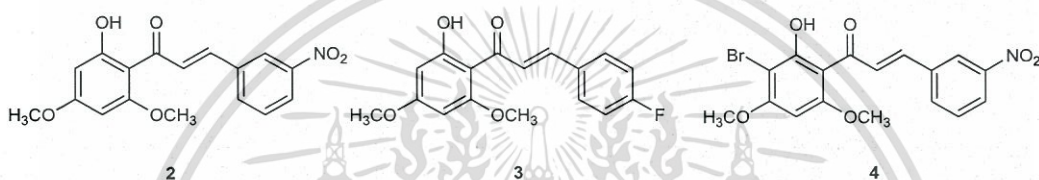
ในปี ค.ศ.2012 An และคณะ²⁸ ได้ศึกษาพบว่า flavokawain B มีฤทธิ์ในการต้านเนื้องอกของเซลล์มะเร็งปอด ซึ่งผลการวิจัยที่ได้คล้ายกับการศึกษาอื่นๆที่ว่า flavokawain B มีการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ นอกจากนี้ในปีเดียวกัน Eskander และคณะ²⁹ ได้ทำการทดสอบผลกระทบของ flavokawain B ที่มีต่อเซลล์มะเร็งกล้ามเนื้อเรียบในหลอดทดลอง ได้ข้อสรุปว่า flavokawain B สามารถเหนี่ยวนำ G2/M ในการจับเซลล์ที่ต้องการทำการรักษา คล้ายกับผลของงานวิจัยอื่นๆที่ได้มีการศึกษามา นอกจากนี้ Tang และคณะ ได้ทำการศึกษางานบางส่วนและทดลองวิเคราะห์ในร่างกายกับหนู พบว่า flavokawain B สามารถช่วยลดการเจริญเติบโตของเนื้องอกได้โดยประมาณ 67%

Flavokawain C ได้มีการนำมาศึกษาและทดสอบเกี่ยวกับฤทธิ์ในการป้องกันเซลล์มะเร็งและเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ²⁷ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า flavokawain C สามารถต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ โดยค่า IC₅₀ จะอยู่ในระดับที่ต่ำ ($\leq 17 \mu\text{M}$) นอกจากนี้สำหรับการต้านเซลล์มะเร็งตับ, L02 และ HepG2 กลับมีค่า IC₅₀ ที่สูงขึ้นอย่างมาก ($< 60 \mu\text{M}$) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์มะเร็ง

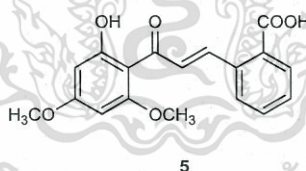
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระเพาะปัสสาวะ³⁰ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์โดยส่วนใหญ่ควรจะคำนึงถึงผลกระทบของ flavokawain C ที่มีต่อเซลล์ปกติเป็นสำคัญ

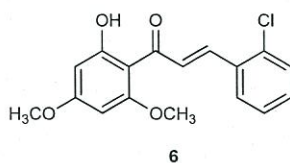
Rossi-Bergmann และคณะ³¹ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ flavokawains 18 ชนิด และศึกษาฤทธิ์ในการต้านโปรโตซัวชนิด *Leishmania amazonensis* ซึ่งเป็นโปรโตซัวที่ก่อโรคเลิชมาเนียซิส (Leishmaniasis) ทั้งในคนและสัตว์ โดยใช้ยา Pentostan และ Pentamidine เป็นยาอ้างอิง และพบว่า อนุพันธ์ไนโตร 2 ฟลูออโร 3 และโบรมไนโตร 4 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโปรโตซัวได้ดีทั้งใน ระยะโปรแมสติโกต (Promastigotes) และแอมแมสติโกต (Amastigotes) โดยอนุพันธ์ 2 นั้น สามารถแสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้ดีเท่ากับยา Pentostan ถึงแม้ว่าจะถูกใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าถึง 100 เท่า



Cechinel-Filho และคณะ³² ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านการเจ็บปวด (antinociceptive effects) ของอนุพันธ์ของ flavokawains กว่า 17 ชนิดต่อหนูทดลอง โดยใช้ยา Acetyl salicylic acid และยา Acetaminophen เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าอนุพันธ์หลายตัว สามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเจ็บปวดได้ดีกว่ายาอ้างอิงถึง 8-15 เท่าและจากการศึกษาการให้สารสังเคราะห์แก่หนูทดลองทางปากพบว่า มีเพียงอนุพันธ์ carboxy 5 เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ต้านการเจ็บปวด



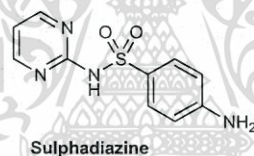
Kachadourian และคณะ³³ ได้ศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของซาลโคน 30 ชนิดต่อการเพิ่มปริมาณกลูตาไทโอน (glutathione, GSH) ภายในเซลล์มะเร็งเต้านม และพบว่า อนุพันธ์ของ flavokawains คือสารอนุพันธ์คลอโร 6 มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการกระตุ้น NF-E2 related factor 2 ซึ่งช่วยในการปรับปริมาณของ GSH ในเซลล์



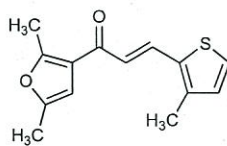
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เฮเทอโรไซคลิกซาลโคน (Heterocyclic chalcones)

สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกหรือสารประกอบที่มีเฮเทอโรอะตอมเป็นองค์ประกอบภายในวงนั้นมีความสำคัญทางเคมีอินทรีย์และเภสัชวิทยาอย่างมาก โดย ในปี ค.ศ.2013 Mukhtyar และคณะ³⁴ ได้ทำการรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับความสำคัญทางชีวภาพของสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก พบว่าเฮเทอโรไซคลิกมีความเกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมยาและเคมีทางการเกษตร อีกทั้งเมื่อนำสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่ได้จากธรรมชาติหรือที่ได้จากการสังเคราะห์เหล่านี้มาทำการปรับปรุงหมู่ฟังก์ชันเพื่อให้โครงสร้างที่หลากหลาย อนุพันธ์ของสารประกอบเหล่านี้จึงมีความเฉพาะเจาะจงและหลากหลายในการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพมากขึ้น เช่น ฤทธิ์การต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอาการชัก ต้านมะเร็งและเป็นสารกำจัดวัชพืชได้และยังพบว่ากว่า 90% ของอุตสาหกรรมยาที่พบใหม่มีเฮเทอโรไซคลิกเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง ตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญที่มีส่วนของโครงสร้างเป็นเฮเทอโรไซคลิก เช่น กรดอะมิโน, proline, histidine และ tryptophan สารตั้งต้นในวิตามินและโคเอนไซม์ เช่น thiamine, riboflavin, pyridoxine, folic acid, biotin, B12 กลุ่มของวิตามิน E และยาต้านเชื้อแบคทีเรีย Sulphadiazine เป็นต้น



สำหรับฤทธิ์ทางชีวภาพของเฮเทอโรไซคลิกซาลโคนนั้น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง³⁵⁻⁴² ตัวอย่างเช่น Kulathooran และคณะ⁴³ ได้สังเคราะห์เฮเทอโรไซคลิกซาลโคนกว่า 20 ตัวอย่าง และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ และพบว่าสารประกอบ 1-(2,5-dimethylfuran-3-yl)-3-(3-methylthiophen-2-yl)prop-2-en-1-one 7 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* [ATCC-25923], *Klebsiella pneumoniae* [ATCC-13883] และ *Rhizopus arrhizus* [ATCC-11145] โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 12.5, 8.4, และ 3.9 µg/mL ตามลำดับ

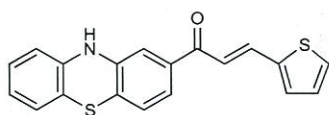


7

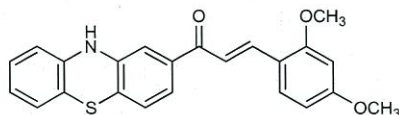
Tran และ คณะ⁴⁴ ได้สังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกซาลโคนและศึกษาผลของโครงสร้างที่แตกต่างกัน เช่น การมีหมู่ methoxy เกาะที่วง รวมถึงการมีวง phenothiazine, thiophene, furan และ pyridine ต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ rhabdomyosarcoma (RMS) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

noncancerous (LLC-PK1) และพบว่าสารที่มีหมู่ methoxy ที่ตำแหน่งที่ 3, 4, 5 ของวงแหวน B มีความสำคัญสำหรับการเป็นพิษต่อเซลล์ สารประกอบที่แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ RMS มากที่สุดคืออนุพันธ์ thiophenyl 8 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $26.6 \mu M$ และสารประกอบที่แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ LLC-PK1 มากที่สุดคืออนุพันธ์ 2,5-dimethoxy 9

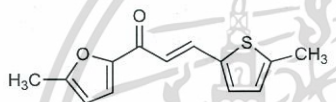


thiophenyl derivative 8

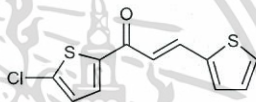


2,5-dimethoxy derivative 9

Jamalis และคณะ⁴⁵ 2017 ได้สังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกซาลโคโคโรนโครงสร้างประกอบด้วยวงไทโอฟีน และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Aspergillus niger* ของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ พบว่า สารอนุพันธ์ methyl-furan 10 และ chloro-thiophene 11 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด



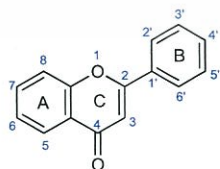
methyl-furan derivative 10



chloro-thiophene derivative 11

2.5 ฟลาโวน (flavones)

ฟลาโวนเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 2-phenylchromen-4-one หรือ 2-phenyl-1-benzopyran-4-one ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานนี้ประกอบด้วย 15 คาร์บอน ซึ่งวงหกเหลี่ยมอะโรมาติก 2 วง (A และ B) ถูกเชื่อมโยงกันด้วยวง heterocyclic pyran (วง C) โดยมีรายงานว่าฟลาโวนและอนุพันธ์นั้นมีฤทธิ์ทางชีวภาพหรือฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและน่าสนใจ⁴⁶⁻⁵² เช่น ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (antimalarial) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ต้านแบคทีเรีย (antibacterial) ต้านรา (antifungal) ต้านไวรัส (antiviral) และต้านมะเร็ง (anticancer) เป็นต้น

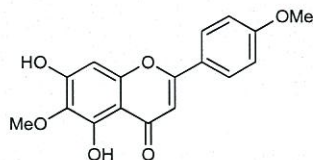


Flavones

Baskar และคณะ⁵³ ได้ศึกษาผลของสารสกัดจาก *Clerodendrum phlomidis* ซึ่งเป็นพืชดอกในวงศ์ Lamiaceae ต่อการยับยั้งการกินอาหาร (antifeedant) การเจริญเติบโตของตัวอ่อน (larvicidal) และการยับยั้งการสร้างไข่ (ovicidal) ของหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa*

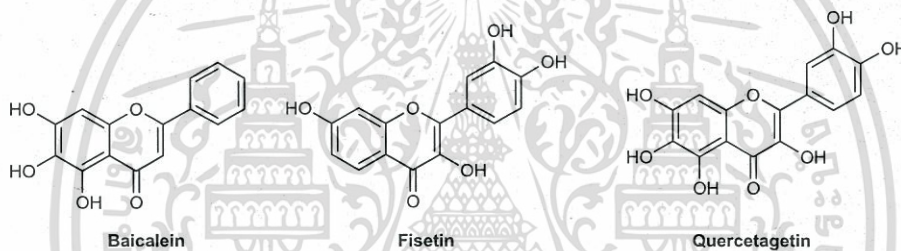
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

armigera) ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญและพบว่าสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์มแสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ดี หลังจากทำการแยกสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์มให้บริสุทธิ์พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งคือ pectolinarigenin



Pectolinarigenin

ในปี 2016 Zandi และคณะ⁵⁴ ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านไวรัสชิคุนกุนยา (*Chikungunya virus*) ของฟลาโวน 3 ชนิดคือ Baicalein, Fisetin และ Quercetagenin และพบว่าสารทั้ง 3 ชนิดแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งไวรัสชิคุนกุนยาได้ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.89 mg/mL, 8.44 mg/mL และ 13.85 mg/mL ตามลำดับ และฟลาโวนเหล่านี้ยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติดำมาก (minimal cytotoxicity)



เนื่องจากชาลโคน ฟลาโวนคาเวนและอนุพันธ์ ฟลาโวน และสารประกอบเฮเทอร์โรไซคลิกมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจมากมายดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุพันธ์เฮเทอร์โรไซคลิกของฟลาโวนคาเวนรวมทั้งฟลาโวน โดยคาดหวังว่าจะค้นพบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดี และเพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการค้นคว้าทางด้านเชื้อแบคทีเรียต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 จุลินทรีย์สำหรับการทดลอง

- 3.1.1.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- 3.1.1.2 *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- 3.1.1.3 *Escherichia coli* ATCC 25922
- 3.1.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.1.2.1.1 Agar
- 3.1.2.1.2 Trypticase soy broth (TSB)

3.1.2.2 สารเคมีทั่วไป

- 3.1.2.2.1 10% Hydrochloric acid
- 3.1.2.2.2 2-Thiophenecarboxaldehyde
- 3.1.2.2.3 Acetone
- 3.1.2.2.4 Benzaldehyde
- 3.1.2.2.5 Dichloromethane
- 3.1.2.2.6 Dimethyl Sulfoxide
- 3.1.2.2.7 Distilled water
- 3.1.2.2.8 Ethanol
- 3.1.2.2.9 Ethyl acetate
- 3.1.2.2.10 Furfural
- 3.1.2.2.11 Hexane
- 3.1.2.2.12 Iodine
- 3.1.2.2.13 Methanol
- 3.1.2.2.14 N-Methyl-2-pyrrolecarboxaldehyde
- 3.1.2.2.15 Potassium hydroxide
- 3.1.2.2.16 Silica gel
- 3.1.2.2.17 Sodium sulfate
- 3.1.2.2.18 Sodium thiosulfate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

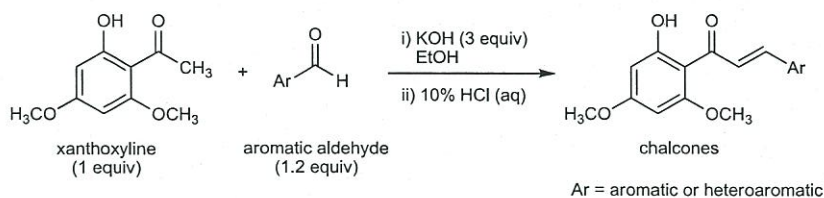
- 3.1.2.2.19 Xanthoxylene
- 3.1.2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการสังเคราะห์สาร
- 3.1.2.3.1 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 3.1.2.3.2 กรวยบุชเนอร์ (Büchner funnel)
- 3.1.2.3.3 กรวยแยก (Separatory funnel)
- 3.1.2.3.4 กระบอกตวง (Cylinder)
- 3.1.2.3.5 ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
- 3.1.2.3.6 ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
- 3.1.2.3.7 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- 3.1.2.3.8 ขวดลดความดัน (Suction flask)
- 3.1.2.3.9 คอนเดนเซอร์ (Condenser)
- 3.1.2.3.10 คอลัมน์แก้ว (Glass column)
- 3.1.2.3.11 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)
- 3.1.2.3.12 เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer)
- 3.1.2.3.13 เครื่องชั่งแบบดิจิทัล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Balance)
- 3.1.2.3.14 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในช่วงอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared spectrophotometer; FT-IR)
- 3.1.2.3.15 เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)
- 3.1.2.3.16 เครื่องฟูเรียรทรานฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance spectrometer; FT-NMR)
- 3.1.2.3.17 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.1.2.3.18 ขาตั้ง (Stand)
- 3.1.2.3.19 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)
- 3.1.2.3.20 เตาให้ความร้อน (Hot plate)
- 3.1.2.3.21 ที่จับ (Clamp)
- 3.1.2.3.22 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic Bar)
- 3.1.2.3.23 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.1.2.3.24 แผ่น TLC (Thin-layer Chromatography)
- 3.1.2.3.25 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.1.2.3.26 หลอดแคพิลลารี (Capillary tube)
- 3.1.2.3.27 หลอดทดลอง (Test tube)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.2.3.28 หลอดหยด (Pasteur pipette)
- 3.1.2.3.29 ห่วงวงแหวนเหล็ก (Iron ring)
- 3.1.2.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 3.1.2.4.1 กระจกบอขวด (Cylinder)
- 3.1.2.4.2 ขวด (Bottle)
- 3.1.2.4.3 คิวเวทท์ (Cuvettes)
- 3.1.2.4.4 เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ความละเอียด 2 ตำแหน่ง (Balance)
- 3.1.2.4.5 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)
- 3.1.2.4.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นอัลตราไวโอเล็ตและช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (UV-Vis spectrophotometer)
- 3.1.2.4.7 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.1.2.4.8 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.1.2.4.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)
- 3.1.2.4.10 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)
- 3.1.2.4.11 เตาให้ความร้อน (Hot plate)
- 3.1.2.4.12 ถุงซิปล็อค (Zip lock bag)
- 3.1.2.4.13 ที่เขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.1.2.4.14 ที่เจาะหลุมอาหาร (Cork borer)
- 3.1.2.4.15 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.1.2.4.16 ปิเปต (pipette)
- 3.1.2.4.17 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.1.2.4.18 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- 3.1.2.4.19 หลอดทดลอง (Test tube)

3.2 วิธีการดำเนินงานทดลอง

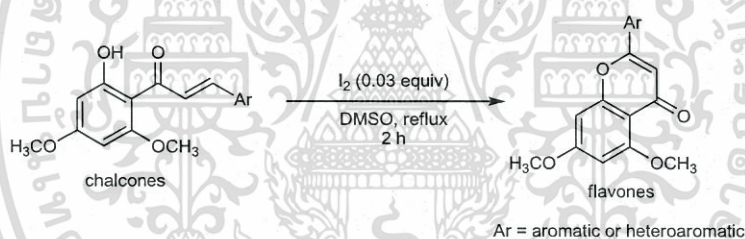
3.2.1 การสังเคราะห์ชาลโคนจาก xanthoxyline และ aromatic aldehydes⁵⁵



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสม xanthoxylone 2 mmol, aromatic aldehydes หรือ heteroaromatic aldehydes 2.4 mmol และ ethanol 6 mL ในขวดกันกลมขนาด 50 mL จากนั้นปั่นกวนของผสมให้ละลาย เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 5 นาที เติม potassium hydroxide ที่บดละเอียด 6 mmol และปั่นกวน ของผสมที่อุณหภูมิห้องจนปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ (ตรวจสอบด้วย TLC) จากนั้นเทของผสมที่ได้ลงในปิ๊บ เกอร์ขนาด 25 mL ที่บรรจุด้วยเกล็ดน้ำแข็งประมาณ 20 g เติมสารละลาย 10% hydrochloric acid ลงไปที่ละลาย (พร้อมทั้งคนของผสมด้วยแท่งแก้ว) จนของผสมมี pH ประมาณ 5 และทิ้งของ ผสมให้เกิดการตกตะกอนของซาลิโคนที่เป็นสารผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอน ซาลิโคนที่ได้แบบลดความดันด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 พร้อมทั้งล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำ กลั่นเย็น ทิ้งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำตะกอนที่ได้ไปตกผลึกใหม่ใน methanol เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอนของซาลิโคนที่บริสุทธิ์แบบลดความดัน ล้างตะกอนซาลิโคนด้วย methanol เย็นปริมาตรเล็กน้อย ทิ้งตะกอนซาลิโคนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและหา เปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% yield) ยืนยันโครงสร้างซาลิโคนที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR

3.2.2 การสังเคราะห์ฟลาโวนจากซาลิโคน⁵⁵



ซิงซาลิโคนที่ได้จาก 3.2.1 ปริมาณ 1 mmol ใส่ขวดกันกลมขนาด 50 mL จากนั้นซิง iodine 0.03 mmol ใส่ขวดแก้วขนาดเล็กแล้วละลาย iodine ด้วย DMSO 4 mL เติมสารละลาย iodine ใน DMSO ที่ได้ใส่ในขวดกันกลมที่มีซาลิโคนอยู่แล้ว ทำการรีฟลักซ์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อปฏิกิริยาเกิด สมบูรณ์แล้ว (ตรวจสอบด้วย TLC) เติมสารละลาย 1% sodium thiosulfate ปริมาตร 10 mL เติม ethyl acetate ปริมาตร 10 mL เทของผสมลงกรวยแยกขนาด 50 mL ทิ้งให้ของผสมแยกชั้น กำจัด ชั้นสารละลาย sodium thiosulfate จากนั้นล้างชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำกลั่น (3 × 10 mL) ล้าง ชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำเกลืออิ่มตัว 10 mL เก็บชั้น ethyl acetate และเติม sodium sulfate ที่ ปราศจากน้ำ กรองสารละลายชั้น ethyl acetate ที่ได้โดยการกรองด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก ระเหย ตัวทำละลาย ethyl acetate ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน จากนั้นแยกฟลาโวนให้บริสุทธิ์ด้วย เทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ hexane และ ethyl acetate ชั่งน้ำหนักและหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% yield) ยืนยันโครงสร้างฟลาโวนที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของ flavokawains และอนุพันธ์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test

3.2.3.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสำหรับการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบทั้ง 4 ชนิดลงบนอาหาร Trypticase soy agar (TSA) ด้วยวิธี streak plate method จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และนำเชื้อบริสุทธิ์ที่เจริญเป็นโคโลนีเดี่ยว (isolated colony) ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller-Hinton agar เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อที่เจริญมาใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับการทดสอบ

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับการทดสอบจะเตรียมโดยใช้วิธี Direct plating method เริ่มต้นโดยการนำ isolated colony ของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบมาละลายในสารละลาย 0.85% Normal saline และปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับระดับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland (ทำการทดลองภายใน 15 นาทีหลังจากปรับค่าความขุ่นของเชื้อที่จะใช้ในการทดสอบแล้ว)

3.2.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

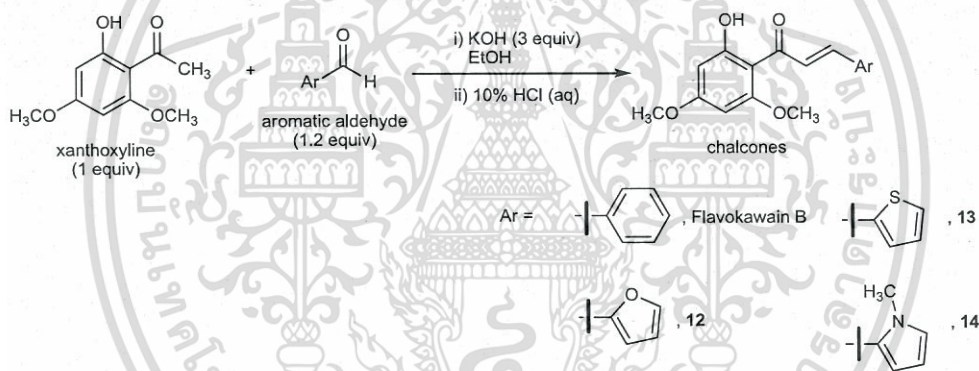
นำเชื้อที่มีการปรับค่าความขุ่นเป็นที่เรียบร้อยแล้ว 100 μ L หยดลงบนผิวหน้าอาหารที่ใช้ในการทดสอบ นำแท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (Sterilized glass spreader) เกลี่ยให้ทั่วและสม่ำเสมอบนผิวหน้าอาหาร MHA จนกระทั่งผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm แล้วหยดสารที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้น 3 mg/900 μ L ปริมาณ 50 μ L นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) บนผิวหน้าอาหารทดสอบโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณส่วนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบหลุมที่บรรจุในการทดสอบ

บทที่ 4

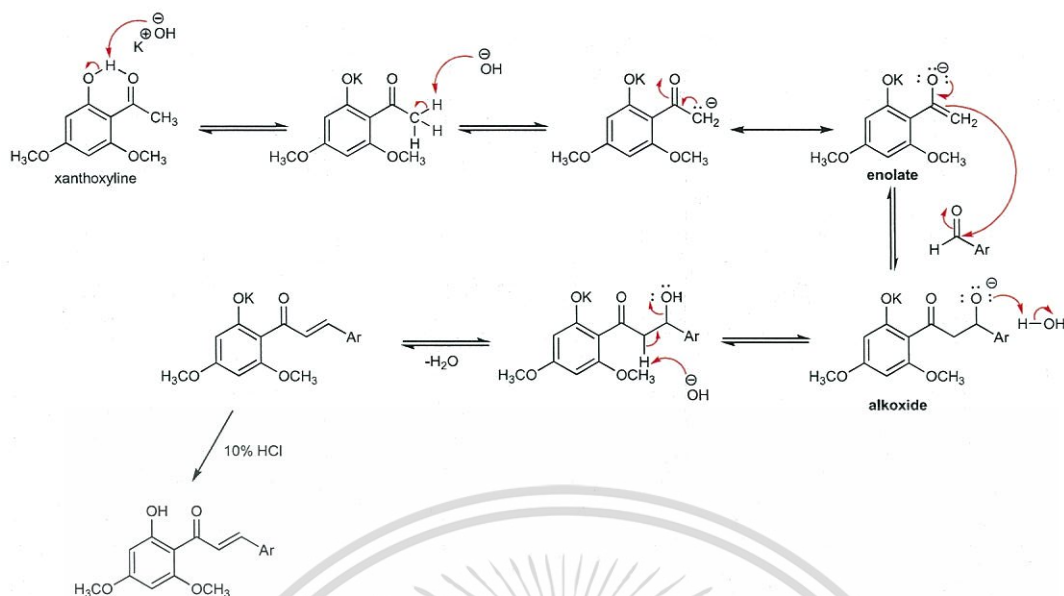
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการสังเคราะห์ซาลโคนจาก xanthoxylone และ aromatic aldehydes⁵⁵

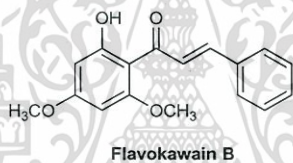
Flavokawain B และอนุพันธ์สามารถเตรียมโดยประยุกต์ใช้กรรมวิธีของ González⁵⁵ โดยเป็นปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ระหว่าง xanthoxylone และ aromatic aldehydes ในสถานะเบสและมี ethanol เป็นตัวทำละลาย หลังจากหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย 10% hydrochloric acid สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นโดยการตกผลึกใหม่ใน methanol หรือการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตต่ำถึงปานกลาง และมีการยืนยันโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR ดังข้อมูลที่แสดงด้านล่าง



กลไกการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นแบบ Claisen-Schmidt ของ xanthoxylone นั้นเริ่มจาก base hydroxide ดึงโปรตอนจาก hydroxyl group ของ xanthoxylone เกิดเป็นเกลือ phenoxide จากนั้นเบสอีกโมเลกุลดึงโปรตอนในตำแหน่งแอลฟา (α) ของ carbonyl group ของ xanthoxylone เกิดเป็น α -carbanion ซึ่งอยู่ในสมดุลกับ enolate form และ enolate ทำหน้าที่เป็น nucleophile เข้าทำปฏิกิริยากับ aromatic aldehydes เกิดเป็น alkoxide anion ซึ่งจับโปรตอนจากโมเลกุลของน้ำได้เป็น hydroxyl group จากนั้นเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นโดยที่เบสดึงโปรตอนจากคาร์บอนที่ตำแหน่งแอลฟา และเกิดการสร้างพันธะคู่พร้อมๆกับการที่ hydroxyl group หลุดออก และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลาย 10% hydrochloric acid phenoxide group ของสารผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปเป็น hydroxyl group ตามลำดับ

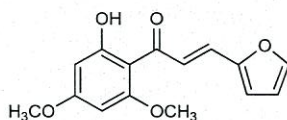


Flavokawain B

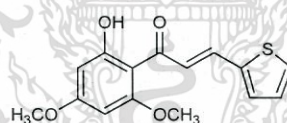


สาร flavokawain B สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก xanthoxyline (196.2 mg, 1 mmol) และ benzaldehyde (127.2 mg, 1.2 mmol) ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วย methanol ได้สาร flavokawain B มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (125.8 mg 44.2%) $R_f = 0.21$ (10% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) 3057, 2972, 1616 (C=O), 1578, 1562, 1449, 1416, 1213 (C-O), 1157, 744 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 14.30 (1H, s, OH), 7.92 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH), 7.79 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH), 7.66-7.57 (2H, m, ArH), 7.47-7.35 (3H, m, ArH), 6.12 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 5.98 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 3.93 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3) δ 192.63 (C=O), 168.39 (C), 166.23 (C), 162.50 (C), 142.31 (CH), 135.55 (C), 130.04 (CH), 128.86 (2 \times CH), 128.34 (2 \times CH), 127.52 (CH), 106.33 (C), 93.78 (CH), 91.26 (CH), 55.84 (CH_3), 55.57 (CH_3) ผลการทดลองที่ได้เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง⁵⁶

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

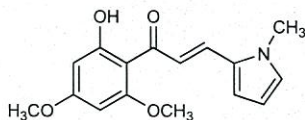
(E)-3-(furan-2-yl)-1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one (12)

สาร 12 สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก xanthoxyline (392.4 mg, 2 mmol) และ furfural (230.59 mg, 2.4 mmol) ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วย methanol ได้สาร 12 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (341 mg 62%) $R_f = 0.59$ (30% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) 2941, 1616 (C=O), 1578, 1547, 1313, 1335, 1279, 1217 (C-O), 1157, 1113 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ 14.38 (1H, s, OH), 7.79 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, CH=CH), 7.58 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, CH=CH), 7.52-7.50 (1H, m, ArH), 6.66 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, ArH), 6.49 (1H, dd, $J = 3.4, 1.8$ Hz, ArH), 6.09 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 5.94 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 3.90 (3H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125.8 MHz) δ 192.01 (C=O), 168.35 (C), 166.14 (C), 162.49 (C), 152.22 (C), 144.61 (CH), 128.89 (CH), 124.97 (CH), 115.37 (CH), 112.48 (CH), 106.27 (C), 93.71 (CH), 91.14 (CH), 55.71 (CH_3), 55.50 (CH_3) ผลการทดลองที่ได้เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง⁵⁷

(E)-1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-one (13)

สาร 13 สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก xanthoxyline (392.4 mg, 2 mmol) และ 2-thiophenecarboxaldehyde (269.2 mg, 2.4 mmol) ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกใหม่ด้วย methanol ได้สาร 13 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (287.7 mg 49.5%) $R_f = 0.69$ (30% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) 3103, 3940, 2349, 1612, 1584, 1549, 1437, 1368, 1209, 1155 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ 14.33 (1H, s, OH), 7.91 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH), 7.73 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH), 7.37 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, ArH), 7.30 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, ArH), 7.09-7.04 (1H, m, ArH), 6.09 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 5.94 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 3.90 (3H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125.8 MHz) δ 191.86 (C=O), 168.37 (C), 166.17 (C), 162.42 (C), 141.21 (C), 134.99 (CH), 131.24 (CH), 128.23 (CH), 128.18 (CH), 126.48 (CH), 106.17 (C), 93.77 (CH), 91.19 (CH), 55.74 (CH_3), 55.52 (CH_3).

(*E*)-1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)prop-2-en-1-one (14)

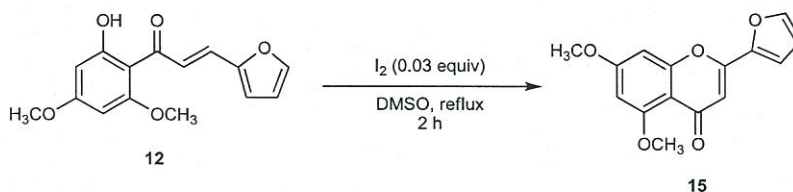


สาร 14 สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.1 โดยเริ่มจาก xanthoxyline (392.4 mg, 2 mmol) และ *N*-methyl-2-pyrrolicarboxaldehyde (261.9 mg, 2.4 mmol) ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (10% ethyl acetate/hexane) ได้สาร 14 มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้ม (50 mg 8.7%) $R_f = 0.45$ (10% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) 2922, 1613 (C=O), 1549, 1477, 1334, 1269, 1213 (C-O), 1155, 814, 732 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 14.59 (1H, s, OH), 7.81 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH), 7.69 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH), 6.80-6.78 (1H, m, ArH), 6.76 (1H, dd, $J = 3.9, 1.4$ Hz, ArH), 6.21 (1H, dd, $J = 3.5, 2.7$ Hz, ArH), 6.10 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 5.95 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, ArH), 3.89 (3H, s, CH_3), 3.83 (3H, s, CH_3), 3.76 (3H, s, CH_3); ^{13}C NMR (125.8 MHz, CDCl_3) δ 191.98 (C=O), 168.27 (C), 165.73 (C), 162.33 (C), 130.86 (C), 130.73 (CH), 127.59 (CH), 122.26 (CH), 112.56 (CH), 109.61 (CH), 106.31 (C), 93.82 (CH), 91.15 (CH), 55.74 (CH_3), 55.50 (CH_3), 34.45 (CH_3).

4.2 ผลการสังเคราะห์ฟลาโวนจากซาลิโคน

ฟลาโวน 15 สามารถสังเคราะห์ได้โดยประยุกต์ใช้กรรมวิธีของ González⁵⁵ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการปิดวงของซาลิโคน 12 โดยมี iodine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและ DMSO เป็นตัวทำละลาย หลังจากผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อนและมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่สูงถึง 79.6% จากนั้นมีการยืนยันโครงสร้างสารที่สังเคราะห์ได้โดยเทคนิค FT-IR และ FT-NMR ดังข้อมูลที่แสดงด้านล่าง

2-(furan-2-yl)-5,7-dimethoxy-4H-chromen-4-one (15)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาโวน 15 สังเคราะห์โดยวิธีการตามหัวข้อ 3.2.2 โดยเริ่มจาก ซาลิโคน 12 (82.28 มิลลิกรัม, 0.30 mmol) จากนั้นทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (20-100% ethyl acetate/hexane) ได้ฟลาโวน 15 มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน (65 mg 79.6%) $R_f = 0.48$ (100% ethyl acetate/hexane); IR (ATR) 2982, 1655, 1611 (C=O), 1412, 1348, 1265 (C-O), 1161, 1124, 826, 737 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.58 (1H, dd, $J = 1.7, 0.7$ Hz, ArH), 7.02 (1H, dd, $J = 3.5, 0.6$ Hz, ArH), 6.58-6.56 (2H, m, ArH), 6.50 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, ArH), 6.35 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, ArH), 3.94 (3H, s, OCH_3), 3.90 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3) δ 176.95 (C=O), 163.96 (C), 160.89 (C), 159.37 (C), 152.72 (C), 146.18 (C), 145.26 (CH), 112.21 (C), 112.02 (C), 109.41 (C), 107.04 (CH), 96.11 (CH), 92.79 (CH), 56.35 (CH_2), 55.69 (CH_3).

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของ flavokawains และอนุพันธ์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test⁵⁸

ในการทดสอบมุ่งศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยศึกษาแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิดได้แก่ *S. aureus* และ *B. subtilis* แบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิดได้แก่ *E. coli* และ *P. aeruginosa* โดยในการทดลองได้ทำการปรับค่า O.D. Normal saline ตามหลัก 0.5 McFrandl ที่กำหนดให้ค่าการดูดกลืนอยู่ในช่วง 0.08-0.125 ซึ่งในการทดลองเลือกใช้อยู่ที่ 0.088 ± 0.001 ทำการวัดที่ความยาวคลื่น 625 nm และใช้น้ำกลั่นเป็น blank

สารที่เตรียมนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียมีความเข้มข้นเท่ากับ 3 mg ต่อ 0.9 mL หรือ 3 mg ต่อ 900 μL ทำการหยดสารลงในหลุมทดสอบที่ปริมาตร 50 μL แสดงว่ามีเนื้อสารที่ใช้ในการทดลองอยู่ที่ 0.167 mg ต่อ 1 หลุมทดลอง และใช้ DMSO เป็นสารละลายควบคุม (control)

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *Staphylococcus aureus*

สารที่สังเคราะห์ได้	Clear zone (mm)	ผลในการออกฤทธิ์
Flavokawain B	-	negative
12	-	negative
13	-	negative
14	-	negative
15	-	negative

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *Bacillus subtilis*

สารที่สังเคราะห์ได้	Clear zone (mm)	ผลในการออกฤทธิ์
Flavokawain B	-	negative
12	-	negative
13	-	negative
14	-	negative
15	-	negative

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Escherichia coli*

สารที่สังเคราะห์ได้	Clear zone (mm)	ผลในการออกฤทธิ์
Flavokawain B	-	negative
12	-	negative
13	-	negative
14	-	negative
15	-	negative

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Pseudomonas aeruginosa*

สารที่สังเคราะห์ได้	Clear zone (mm)	ผลในการออกฤทธิ์
Flavokawain B	10	positive
12	-	negative
13	-	negative
14	-	negative
15	-	negative

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบของ Flavokawain B ซาลโคน 12 13 14 และ ฟลาโวน 15 ดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.4 พบว่ามีเพียง Flavokawain B เท่านั้นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *P. aeruginosa* โดยทราบได้จากบริเวณที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยรอบหลุมที่บรรจุสาร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 10 mm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ flavokawain B อนุพันธ์เฮเทอโรไซคลิกชาลโคนและฟลาโวน และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารที่สังเคราะห์ได้ ซึ่งสามารถสรุปผลการวิจัยได้ว่า การสังเคราะห์สารประกอบ flavokawain B และอนุพันธ์ชาลโคน พบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองถึงสีส้ม ส่วนการสังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ฟลาโวนจากชาลโคน พบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน จากนั้นนำสารประกอบ flavokawain B อนุพันธ์ชาลโคนและฟลาโวนที่สังเคราะห์มาทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ พบว่า Flavokawain B มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *P. aeruginosa* โดยทราบได้จากบริเวณที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยรอบหลุมที่บรรจุสาร มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 10 mm

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1) การสังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ของชาลโคน ในขั้นตอนการเติมสารละลาย 10% Hydrochloric acid ไม่ควรเติมจนค่า pH ต่ำกว่า 5 เพราะอาจจะส่งผลให้สารผลิตภัณฑ์ที่ได้เกิดการสลายตัว
- 5.2.2) เปอร์เซ็นต์ผลผลิตต่ำ ควรหาวิธีหรือสภาวะการทดลองที่ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงขึ้น
- 5.2.3) การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียในงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาเฉพาะเชื้อแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น ซึ่งพบว่าสารประกอบที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ถ้าหากนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาเพิ่มเติมกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นอาจจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Cowan, M. M., Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews* **1999**, *12* (4), 564-582.
- [2] Compean, K.; Ynalvez, R., Antimicrobial activity of plant Secondary metabolites: A Review. *Res J Med Plant* **2014**, *8* (5), 204-13.
- [3] Bajpai, V. K., Antimicrobial bioactive compounds from marine algae: A mini review. **2016**.
- [4] Peter H. Raven, G. B. J., *Biology*. 6 ed.; McGraw-Hill: Boston, MA, 2002; p 570.
- [5] Yerragunta, V.; Kumaraswamy, T.; Suman, D.; Anusha, V.; Patil, P.; Samhitha, T., A review on Chalcones and its importance. *PharmaTutor* **2013**, *1* (2), 54-59.
- [6] V. Kostanecki, S.; Tambor, J., Ueber die sechs isomeren Monooxybenzalacetophenone (Monooxychalkone). *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1899**, *32* (2), 1921-1926.
- [7] Nowakowska, Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *42* (2), 125-137.
- [8] Patil, C. B.; Mahajan, S.; Katti, S. A., Chalcone-A versatile molecule.
- [9] Alam, M. S., Biological Potentials of Chalcones A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive* **2012**, *3* (6).
- [10] Mahapatra, D. K.; Asati, V.; Bharti, S. K., Chalcones and their therapeutic targets for the management of diabetes: structural and pharmacological perspectives. *European journal of medicinal chemistry* **2015**, *92*, 839-865.
- [11] Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K.; Asati, V., Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry* **2015**, *98*, 69-114.
- [12] Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K.; Asati, V., Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry* **2015**, *101*, 496-524.
- [13] Gutierrez, R. M. P.; Muñoz-Ramirez, A.; Saucedo, J. V., Review: The potential of chalcones as a source of drugs. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2015**, *9* (8), 237-257.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [14] Tsukiyama, R.; Katsura, H.; Tokuriki, N.; Kobayashi, M., Antibacterial activity of licochalcone A against spore-forming bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2002, 46 (5), 1226-30.
- [15] Friis-Møller, A.; Chen, M.; Fursted, K.; Christensen, S. B.; Kharazmi, A., In vitro antimycobacterial and antilegionella activity of licochalcone A from Chinese licorice roots. *Planta medica* 2002, 68 (05), 416-419.
- [16] Fukai, T.; Marumo, A.; Kaitou, K.; Kanda, T.; Terada, S.; Nomura, T., Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. *Life Sciences* 2002, 71 (12), 1449-1463.
- [17] Kromann, H.; Larsen, M.; Boesen, T.; Schønning, K.; Nielsen, S. F., Synthesis of prenylated benzaldehydes and their use in the synthesis of analogues of licochalcone A. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2004, 39 (11), 993-1000.
- [18] Abu, N.; Ho, W. Y.; Yeap, S. K.; Akhtar, M. N.; Abdullah, M. P.; Omar, A. R.; Alitheen, N. B., The flavokawains: uprising medicinal chalcones. *Cancer Cell International* 2013, 13 (1), 102.
- [19] Liu, H.-r.; Huang, X.-q.; Lou, D.-h.; Liu, X.-j.; Liu, W.-k.; Wang, Q.-a., Synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity of Mannich base derivatives flavokawain B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2014, 24 (19), 4749-4753.
- [20] Akhtar, M. N.; Sakeh, N. M.; Zareen, S.; Gul, S.; Lo, K. M.; Ul-Haq, Z.; Shah, S. A. A.; Ahmad, S., Design and synthesis of chalcone derivatives as potent tyrosinase inhibitors and their structural activity relationship. *Journal of Molecular Structure* 2015, 1085, 97-103.
- [21] Kuo, Y.-F.; Su, Y.-Z.; Tseng, Y.-H.; Wang, S.-Y.; Wang, H.-M.; Chueh, P. J., Flavokawain B, a novel chalcone from *Alpinia pricei* Hayata with potent apoptotic activity: Involvement of ROS and GADD153 upstream of mitochondria-dependent apoptosis in HCT116 cells. *Free Radical Biology and Medicine* 2010, 49 (2), 214-226.
- [22] Kwon, D.-J.; Ju, S. M.; Youn, G. S.; Choi, S. Y.; Park, J., Suppression of iNOS and COX-2 expression by flavokawain A via blockade of NF- κ B and AP-1 activation in RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology* 2013, 58, 479-486.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [23] Lin, E.; Lin, W.-H.; Wang, S.-Y.; Chen, C.-S.; Liao, J.-W.; Chang, H.-W.; Chen, S.-C.; Lin, K.-Y.; Wang, L.; Yang, H.-L., Flavokawain B inhibits growth of human squamous carcinoma cells: Involvement of apoptosis and cell cycle dysregulation in vitro and in vivo. *The Journal of nutritional biochemistry* **2012**, *23* (4), 368-378.
- [24] Hseu, Y.-C.; Lee, M.-S.; Wu, C.-R.; Cho, H.-J.; Lin, K.-Y.; Lai, G.-H.; Wang, S.-Y.; Kuo, Y.-H.; Senthil Kumar, K. J.; Yang, H.-L., The Chalcone Flavokawain B Induces G2/M Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Human Oral Carcinoma HSC-3 Cells through the Intracellular ROS Generation and Downregulation of the Akt/p38 MAPK Signaling Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2012**, *60* (9), 2385-2397.
- [25] Ji, T.; Lin, C.; Krill, L. S.; Eskander, R.; Guo, Y.; Zi, X.; Hoang, B. H., Flavokawain B, a kava chalcone, inhibits growth of human osteosarcoma cells through G2/M cell cycle arrest and apoptosis. *Molecular Cancer* **2013**, *12* (1), 55.
- [26] Tang, Y.; Simoneau, A. R.; Xie, J.; Shahandeh, B.; Zi, X., Effects of the Kava Chalcone Flavokawain A Differ in Bladder Cancer Cells with Wild-type versus Mutant p53. *Cancer Prevention Research* **2008**, *1* (6), 439-451.
- [27] Zi, X.; Simoneau, A. R., Flavokawain A, a Novel Chalcone from Kava Extract, Induces Apoptosis in Bladder Cancer Cells by Involvement of Bax Protein-Dependent and Mitochondria-Dependent Apoptotic Pathway and Suppresses Tumor Growth in Mice. *Cancer Research* **2005**, *65* (8), 3479-3486.
- [28] An, J.; Gao, Y.; Wang, J.; Zhu, Q.; Ma, Y.; Wu, J.; Sun, J.; Tang, Y., Flavokawain B induces apoptosis of non-small cell lung cancer H460 cells via Bax-initiated mitochondrial and JNK pathway. *Biotechnol Lett* **2012**, *34*.
- [29] Tang, Y.; Li, X.; Liu, Z.; Simoneau, A. R.; Xie, J.; Zi, X., Flavokawain B, a kava chalcone, induces apoptosis via up-regulation of death-receptor 5 and Bim expression in androgen receptor negative, hormonal refractory prostate cancer cell lines and reduces tumor growth. *Int J Cancer* **2010**, *127*.

- [30] Nielsen, S. F.; Christensen, S. B.; Cruciani, G.; Kharazmi, A.; Liljefors, T., Antileishmanial Chalcones: Statistical Design, Synthesis, and Three-Dimensional Quantitative Structure–Activity Relationship Analysis. *Journal of Medicinal Chemistry* **1998**, *41* (24), 4819-4832.
- [31] Boeck, P.; Bandeira Falcão, C. A.; Leal, P. C.; Yunes, R. A.; Filho, V. C.; Torres-Santos, E. C.; Rossi-Bergmann, B., Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14* (5), 1538-1545.
- [32] De Campos-Buzzi, F.; Pereira de Campos, J.; Pozza Tonini, P.; Corrêa, R.; Augusto Yunes, R.; Boeck, P.; Cechinel-Filho, V., Antinociceptive Effects of Synthetic Chalcones Obtained from Xanthoxyline. *Archiv der Pharmazie* **2006**, *339* (7), 361-365.
- [33] Kachadourian, R.; Day, B. J.; Pugazhenti, S.; Franklin, C. C.; Genoux-Bastide, E.; Mahaffey, G.; Gauthier, C.; Di Pietro, A.; Boumendjel, A., A Synthetic Chalcone as a Potent Inducer of Glutathione Biosynthesis. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55* (3), 1382-1388.
- [34] Saini, M. S.; Kumar, A.; Dwivedi, J.; Singh, R., A review: biological significances of heterocyclic compounds.
- [35] Venkatesan, P.; Sumathi, S., Piperidine mediated synthesis of n-heterocyclic chalcones and their antibacterial activity. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2010**, *47* (1), 81-84.
- [36] Sharma, P.; Kumar, S.; Ali, F.; Anthal, S.; Gupta, V. K.; Khan, I. A.; Singh, S.; Sangwan, P. L.; Suri, K. A.; Gupta, B. D.; Gupta, D. K.; Dutt, P.; Vishwakarma, R. A.; Satti, N. K., Synthesis and biologic activities of some novel heterocyclic chalcone derivatives. *Medicinal Chemistry Research* **2013**, *22* (8), 3969-3983.
- [37] Ivanova Yordanka, B.; Momekov Georgi, T.; Petrov Ognyan, I., New heterocyclic chalcones. Part 6. Synthesis and cytotoxic activities of 5- or 6-(3-aryl-2-propenoyl)-2(3H)-benzoxazolones. In *Heterocyclic Communications*, 2013; Vol. 19, p 23.

- [38] Elarfi, M. J.; Al-Difar, H. A., Synthesis of some heterocyclic compounds derived from chalcones.
- [39] Kalirajan, R.; Sivakumar, S.; Jubie, S.; Gowramma, B.; Suresh, B., Synthesis and biological evaluation of some heterocyclic derivatives of chalcones. *International Journal of ChemTech Research* **2009**, *1* (1), 27-34.
- [40] Vora, J.; Patel, D. M.; Parmar, K. C.; Patel, B. M.; Vasava, S. B., Antibacterial activity of 1-(4-methyl sulfonylphenyl)-3-(1-phenyl-3-aryl-1H-pyrazol-4-yl)-2-propen-1-ones and it's derivatives.
- [41] Padarthy, P. K.; Namasivayam, E., Synthesis and biological evaluation of chalcones from 2-acetyl-5-methylfuran. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2013**, *4* (7), 2629.
- [42] Sridhar, S.; Dinda, S.; Prasad, Y. R., Synthesis and Biological Evaluation of Some New Chalcones Containing 2, 5-Dimethylfuran Moiety. *Journal of Chemistry* **2011**, *8* (2), 541-546.
- [43] Kulathooran, S.; Selvakumar, B.; Dhamodaran, M., Synthesis and biological activities of novel heterocyclic chalcone derivatives by two different methods using anhydrous potassium carbonate as an efficient catalyst. *Der Pharma Chemica* **2014**, *6* (3), 240-249.
- [44] Do, T.-H.; Nguyen, D.-M.; Truong, V.-D.; Do, T.-H.-T.; Le, M.-T.; Pham, T.-Q.; Thai, K.-M.; Tran, T.-D., Synthesis and Selective Cytotoxic Activities on Rhabdomyosarcoma and Noncancerous Cells of Some Heterocyclic Chalcones. *Molecules* **2016**, *21* (3), 329.
- [45] Ming, L. S.; Jamalis, J.; Al-Maqtari, H. M.; Rosli, M. M.; Sankaranarayanan, M.; Chander, S.; Fun, H.-K., Synthesis, characterization, antifungal activities and crystal structure of thiophene-based heterocyclic chalcones. *Chemical Data Collections* **2017**, *9-10*, 104-113.
- [46] Cushnie, T. P. T.; Lamb, A. J., Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* **2005**, *26* (5), 343-356.
- [47] Tapas, A. R.; Sakarkar, D.; Kakde, R., Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2008**, *7* (3), 1089-1099.
- [48] Banjarnahor, S. D.; Artanti, N., Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia* **2014**, *23* (4), 239.

- [49] Pandey, A.; Kumar, S., Perspective on plant products as antimicrobial agents: a review. **2013**.
- [50] Kumar, S.; Pandey, A. K., Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal* **2013**, *2013*.
- [51] Mierziak, J.; Kostyn, K.; Kulma, A., Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules* **2014**, *19* (10), 16240-16265.
- [52] Seleem, D.; Pardi, V.; Murata, R. M., Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of Oral Biology* **2017**, *76*, 76-83.
- [53] Duraipandiyar, V.; Muthu, C.; Baskar, K.; Al-Dhabi, N. A.; Ignacimuthu, S., Evaluation of fractions and 5, 7-dihydroxy-4', 6-dimethoxy-flavone from *Clerodendrum phlomidis* Linn. F. against *Helicoverpa armigera* Hub. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **2015**, *58* (2), 216-221.
- [54] Lani, R.; Hassandarvish, P.; Shu, M.-H.; Phoon, W. H.; Chu, J. J. H.; Higgs, S.; Vanlandingham, D.; Abu Bakar, S.; Zandi, K., Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antiviral Research* **2016**, *133*, 50-61.
- [55] Cabrera, M.; Simoens, M.; Falchi, G.; Lavaggi, M. L.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Vidal, A.; Azqueta, A.; Monge, A.; de Cerain, A. L.; Sagrera, G.; Seoane, G.; Cerecetto, H.; Gonzalez, M., Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: Biological evaluation and structure-activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15* (10), 3356-3367.
- [56] Jhoo, J.-W.; Freeman, J. P.; Heinze, T. M.; Moody, J. D.; Schnackenberg, L. K.; Begger, R. D.; Dragull, K.; Tang, C.-S.; Ang, C. Y., In vitro cytotoxicity of nonpolar constituents from different parts of kava plant (*Piper methysticum*). *Journal of agricultural and food chemistry* **2006**, *54* (8), 3157-3162.

- [57] Boeck, P.; Leal, P. C.; Yunes, R. A.; Filho, V. C.; Lopez, S.; Sortino, M.; Escalante, A.; Furlan, R. L.; Zacchino, S., Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxylene-derived chalcones. *Archiv der Pharmazie* 2005, 338 (2-3), 87-95.
- [58] Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, 11ed, 2012, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

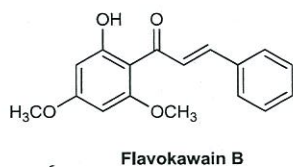
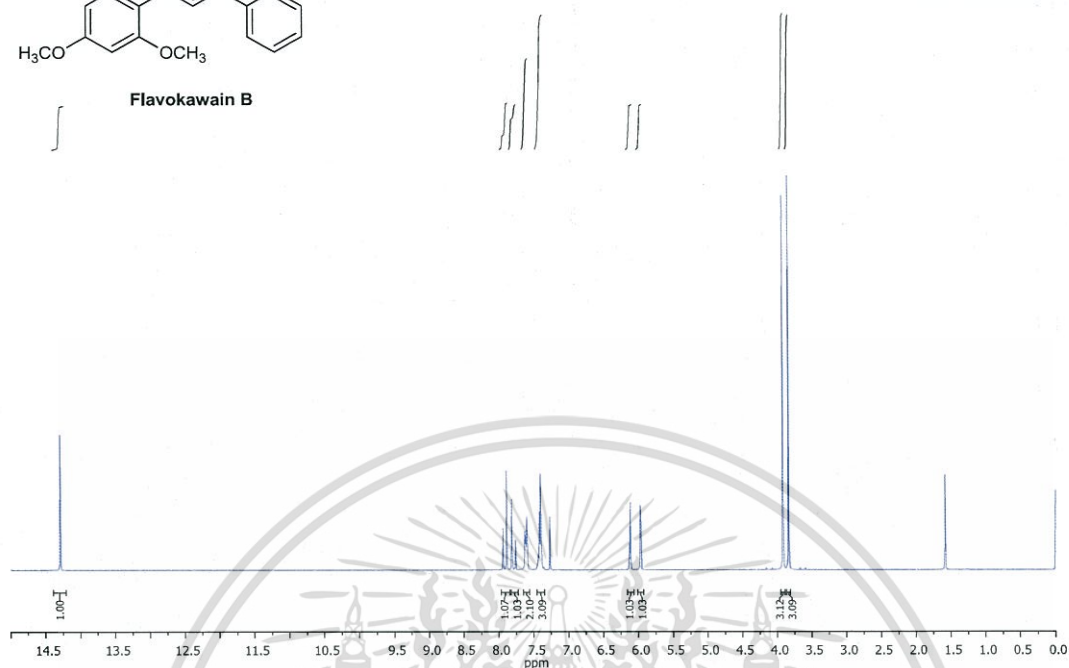
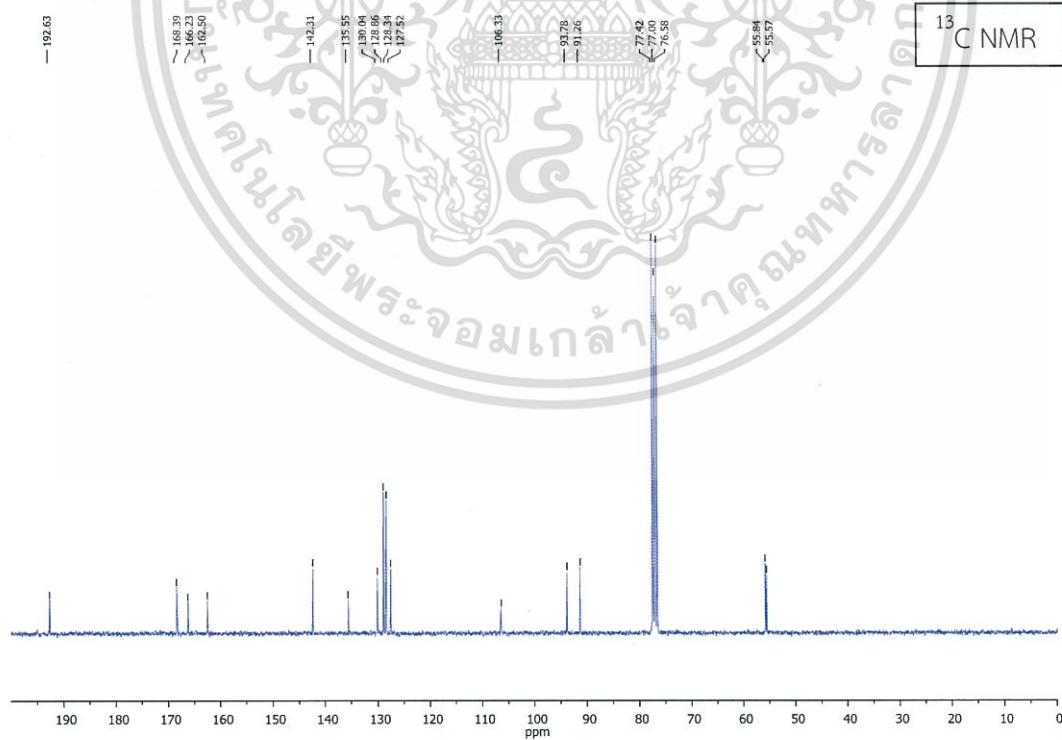


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

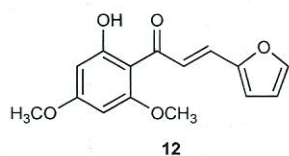
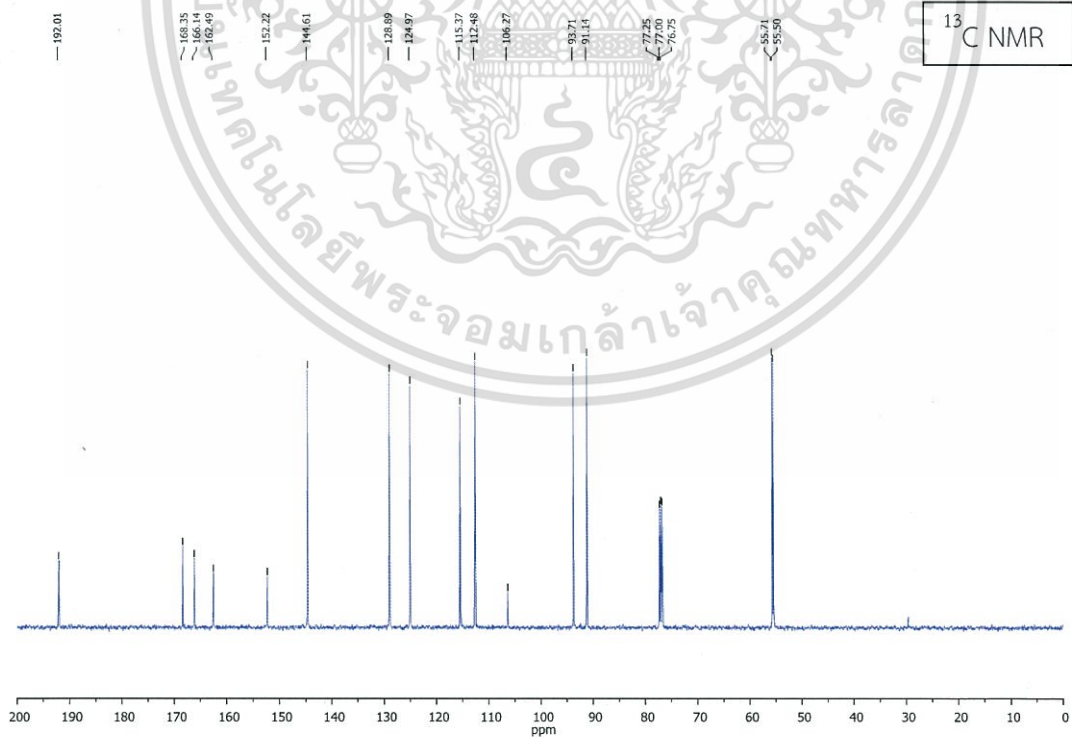
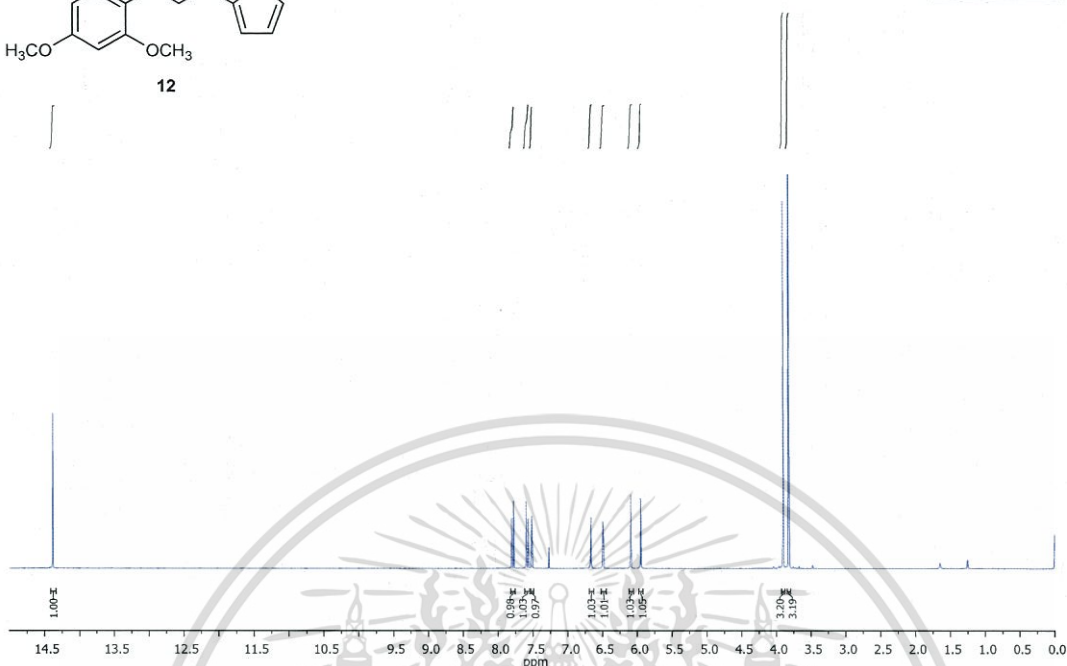


ภาคผนวก

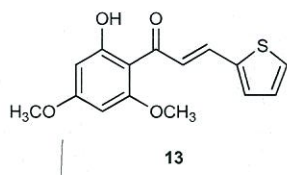
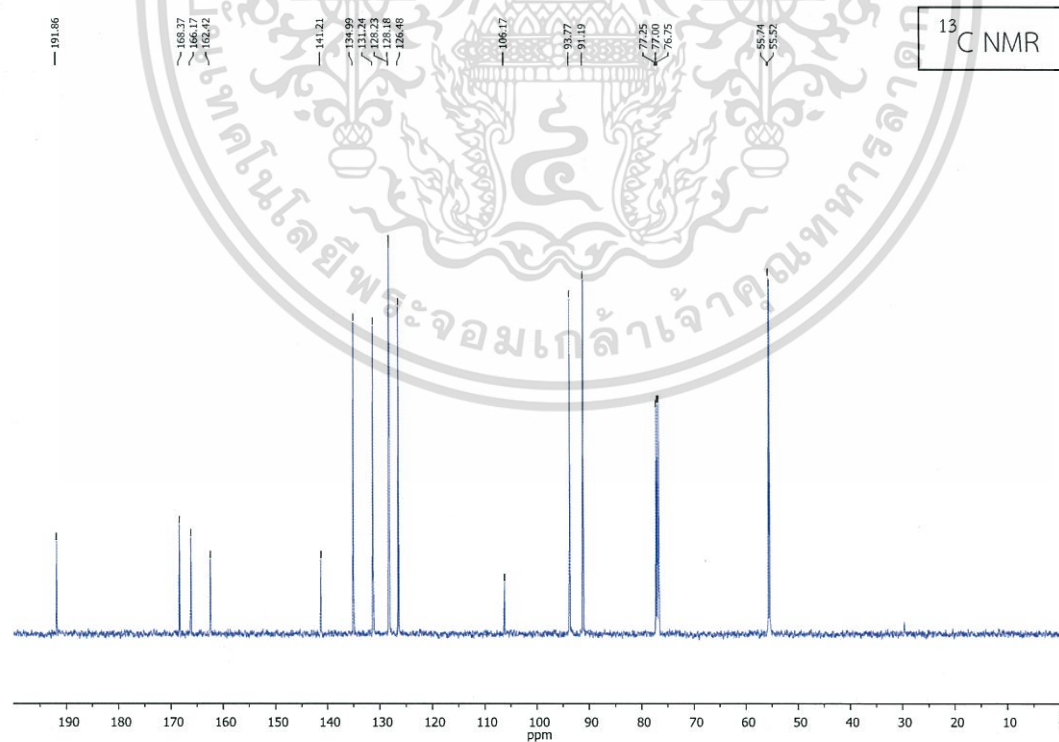
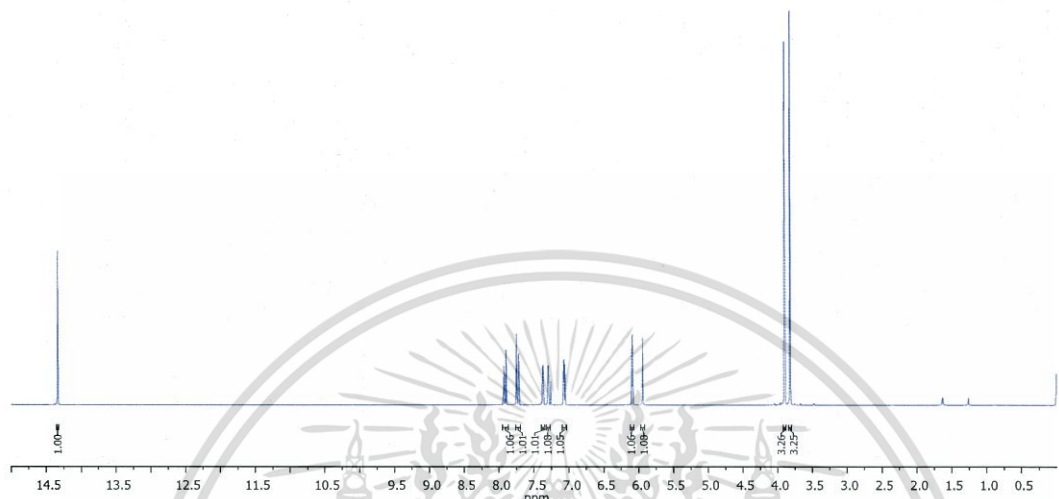
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

 ^1H NMR ^{13}C NMR

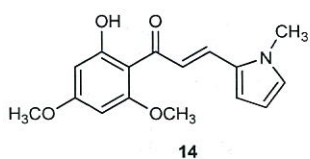
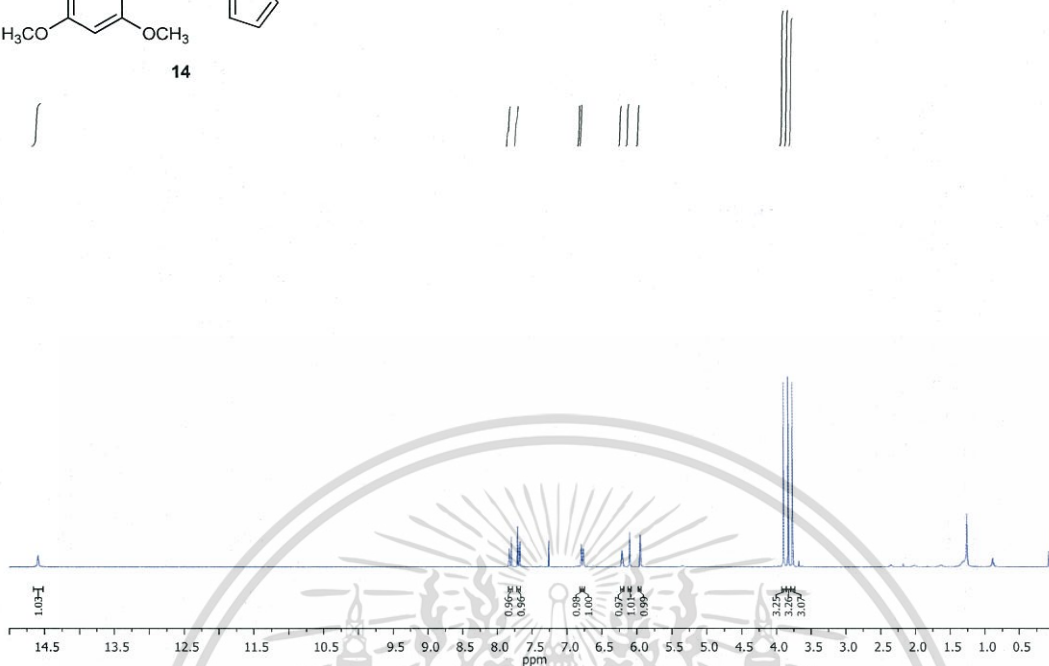
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

¹H NMR

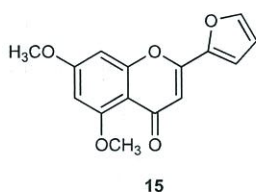
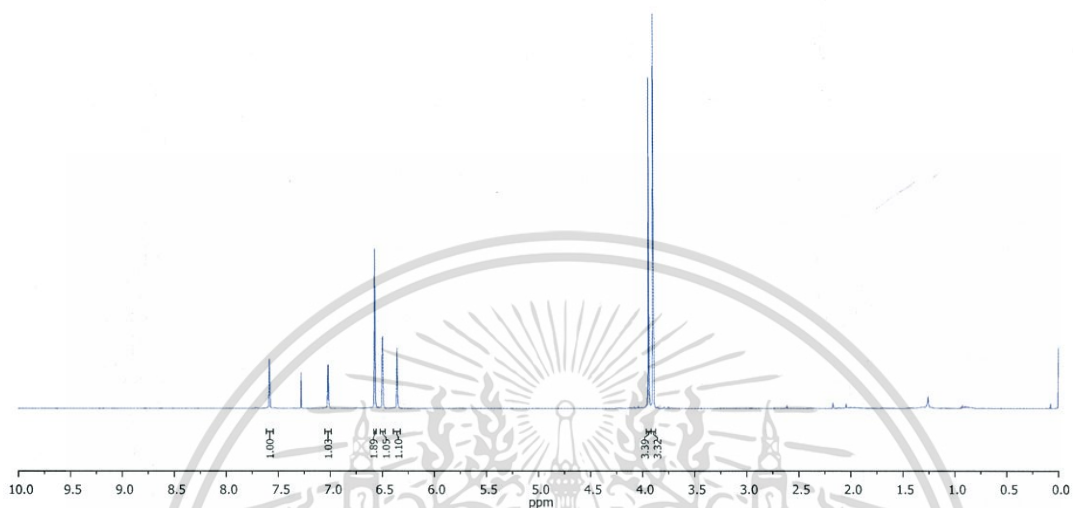
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

 ^1H NMR ^{13}C NMR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

 $^1\text{H NMR}$  $^{13}\text{C NMR}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

¹H NMR

176.95

163.96

159.97

152.72

146.18

145.76

112.71

112.02

109.41

107.04

96.11

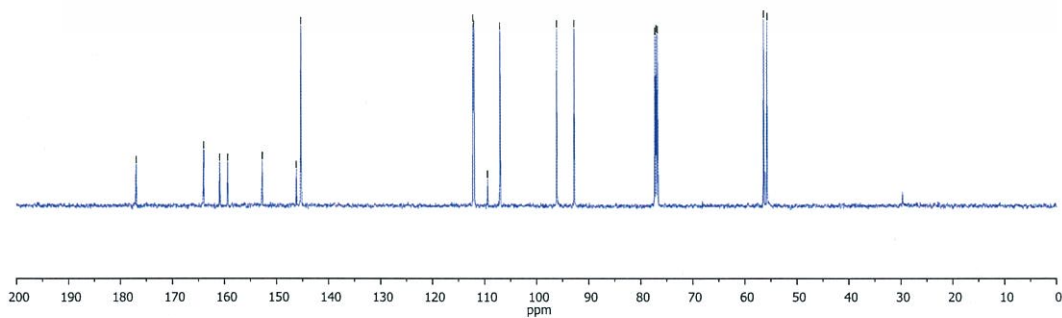
92.79

77.25

76.75

56.35

55.69

¹³C NMR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้