

#### บทที่ 4

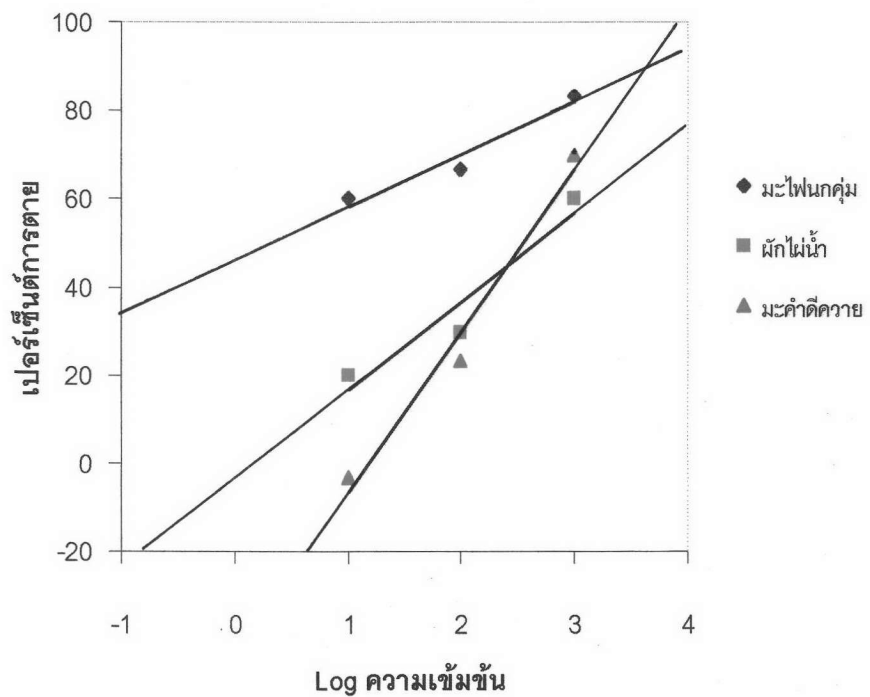
### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะค่าดี ควายที่มีต่อไรสีน้ำตาล

เมื่อนำต้นมะไฟนกุ่ม *A.baccifera*, 934.60 กรัม, เมล็ดมะค่าดีควาย *S.rarak*, 863.33 กรัม และต้นผักไผ่น้ำ *P.hydropiper*, 100.00 กรัม ไปสกัดด้วยตัวทำละลายคือ เอทานอล นำสารสกัดเอทานอลแต่ละชนิดไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นกับไรสีน้ำตาล *Artemia salina* ผลการทดลองที่ได้คือสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มมีฤทธิ์ต่อไรสีน้ำตาลมากที่สุดโดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 1.94  $\mu\text{g/ml}$  รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดมะค่าดีควายและต้นผักไผ่น้ำ ซึ่งให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 314.63 และ 328.04  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ผลของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, เมล็ดมะค่าดีควายและต้นผักไผ่น้ำที่มีฤทธิ์ต่อไรสีน้ำตาลที่เวลา 6 ชั่วโมงแสดงดังตารางที่ 4.1, 4.2 รูปที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะค่าดีควาย โดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ชนิดของพืช	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
มะไฟนกุ่ม	1.94	0.00-16.64	0.94
ผักไผ่น้ำ	328.04	100.86-3,485.59	0.92
มะค่าดีควาย	314.63	154.74-635.08	0.98



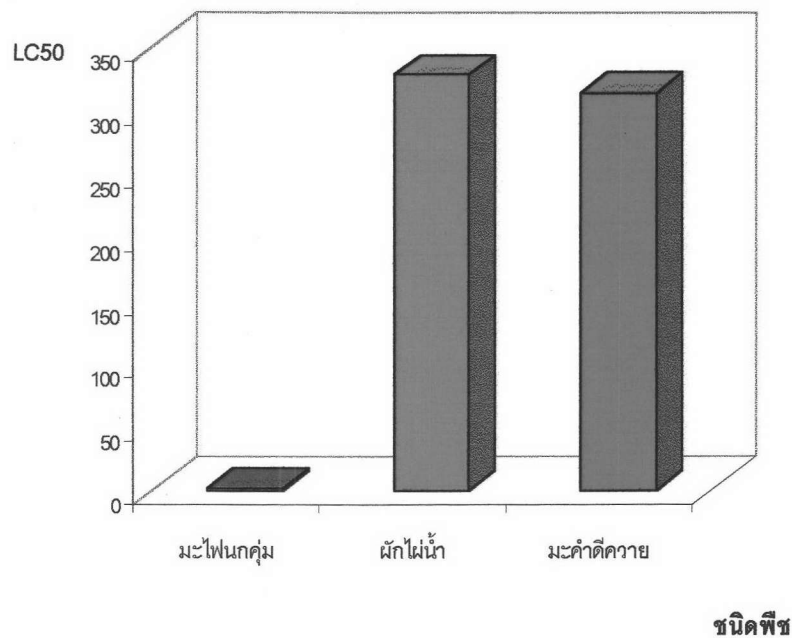
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอจ (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะค่าดีควาย

ตารางที่ 4.2 ผลของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควายที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำ

ताल

ชนิดพืช	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
มะไฟนกุ่ม	934.60	54.89	1.94	+++
ผักไผ่น้ำ	100.00	0.67	328.04	+
มะคำดีควาย	863.33	210.07	314.63	+

หมายเหตุ	+++	LC <sub>50</sub> < 10 µg/ml	ฤทธิ์สูงสุด
	++	LC <sub>50</sub> = 10 - 100 µg/ml	ฤทธิ์ปานกลาง
	+	LC <sub>50</sub> = 100-1,000 µg/ml	ฤทธิ์ต่ำ
	-	LC <sub>50</sub> > 1,000 µg/ml	ไม่มีฤทธิ์



รูปที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ด

มะคำดีควายที่มีพิษต่อโรสน้ำताल

#### 4.2 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายแต่ละชนิดตามลำดับความมีขี้ผึ้งที่มีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาล

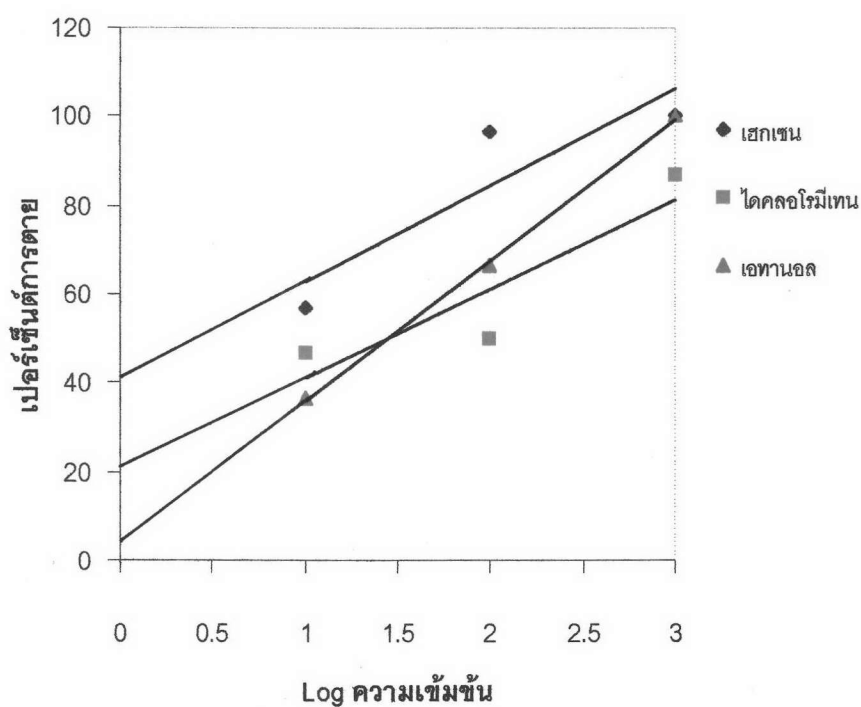
##### 4.2.1 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล ที่มีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาลที่เวลา 6 ชั่วโมง

เมื่อนำต้นมะไฟนกุ่ม (3.80 กก.) มาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลตามลำดับความมีขี้ผึ้งและนำสารสกัดของตัวทำละลายแต่ละชนิดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับโรสื่อน้ำตาลพบว่า สารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์กับโรสื่อน้ำตาลมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลและสารสกัดไดคลอโรมีเทน ซึ่งให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมง เท่ากับ 7.96, 25.26 และ 27.14  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาลที่เวลา 6 ชั่วโมงแสดงดังตารางที่ 4.3, 4.4 รูปที่ 4.3, 4.4

ตารางที่ 4.3 แสดงค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเห็กเซน, ไดคอลลอโรมีเทนและเอทานอลจากต้น

มะไฟนกุ่ม โดยใช้โปรแกรมโพรวิท

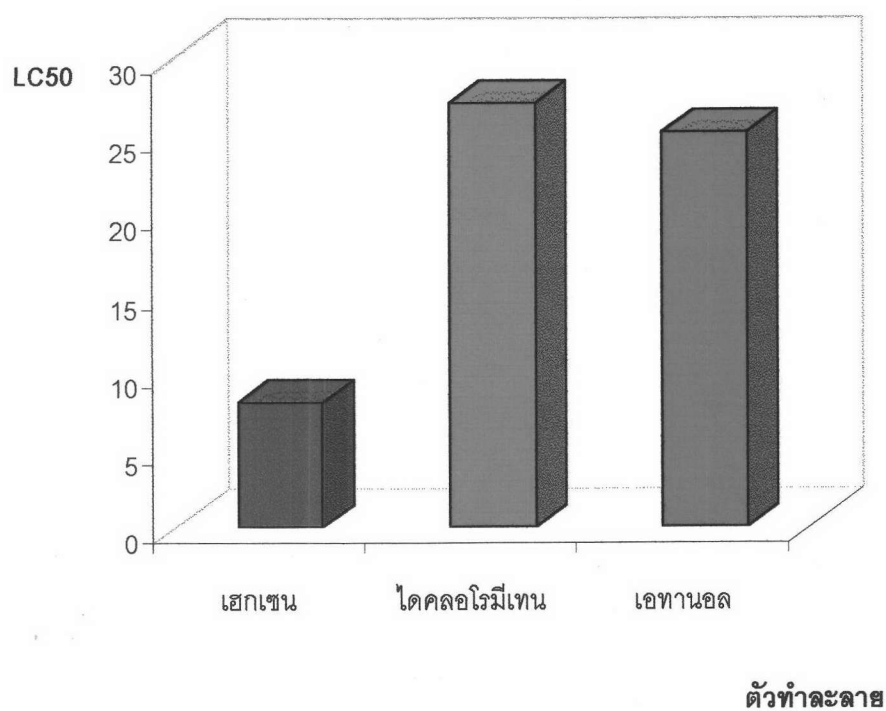
ชนิดของตัวทำ	$LC_{50}$	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 %	$R^2$
ละลาย	( $\mu\text{g/ml}$ )	( $\mu\text{g/ml}$ )	
เห็กเซน	7.96	2.29-13.90	0.81
ไดคอลลอโรมีเทน	27.14	2.30-83.67	0.81
เอทานอล	25.26	10.70-47.37	0.99



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอจ (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเห็กเซน, ไดคอลลอโรมีเทน และเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของสารสกัด จากต้นมะไฟนกุ่ม ในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อไรสีน้ำตาล

สารสกัด	% yield	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
เฮกเซน	0.54	7.96	+++
ไดคลอโรมีเทน	0.43	27.14	++
เอทานอล	2.64	25.26	++



รูปที่ 4.4 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลที่มีฤทธิ์ต่อไรสีน้ำตาล

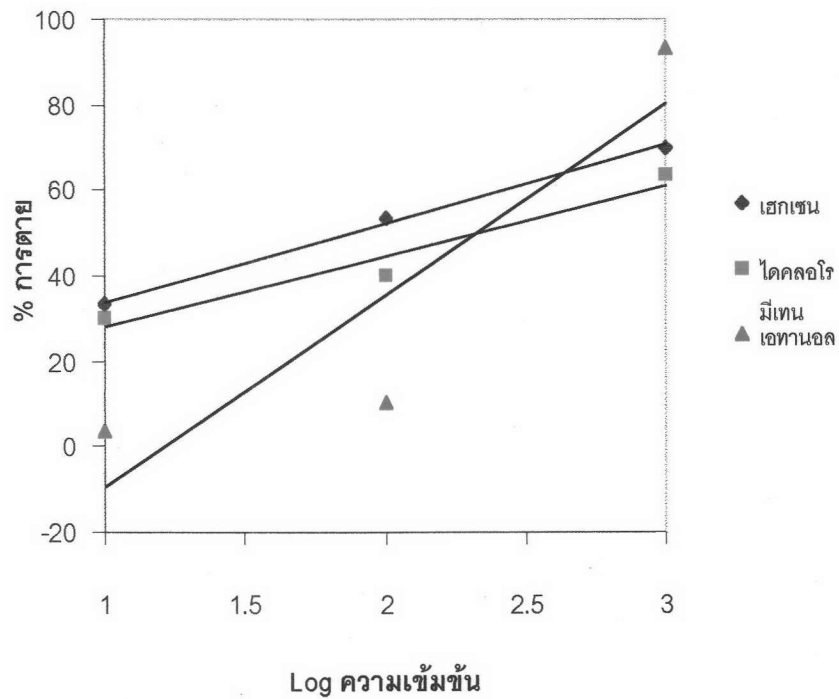
#### 4.2.2 ผลของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล ที่มีพิษต่อโรสน้ำตาล ที่เวลา 6 ชั่วโมง

เมื่อนำต้นผักไผ่น้ำ (100.00 กรัม) มาสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลตามลำดับและนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับโรสน้ำตาลพบว่า สารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์กับโรสน้ำตาลในระดับปานกลางโดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 6 ชั่วโมง เท่ากับ 74.97  $\mu\text{g/ml}$  ส่วนสารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาลในระดับต่ำ โดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 6 ชั่วโมง เท่ากับ 218.76 และ 270.90  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ผลของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล ที่มีพิษต่อโรสน้ำตาลแสดงดังตารางที่ 4.5, 4.6 รูปที่ 4.5, 4.6

ตารางที่ 4.5 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากต้นผักไผ่น้ำ

โดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ชนิดของตัวทำ ละลาย	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
เฮกเซน	74.97	9.61-363.41	1.00
ไดคลอโรมีเทน	218.76	46.58-7,181.58	0.95
เอทานอล	270.90	0.00-1,701412E+33	0.81

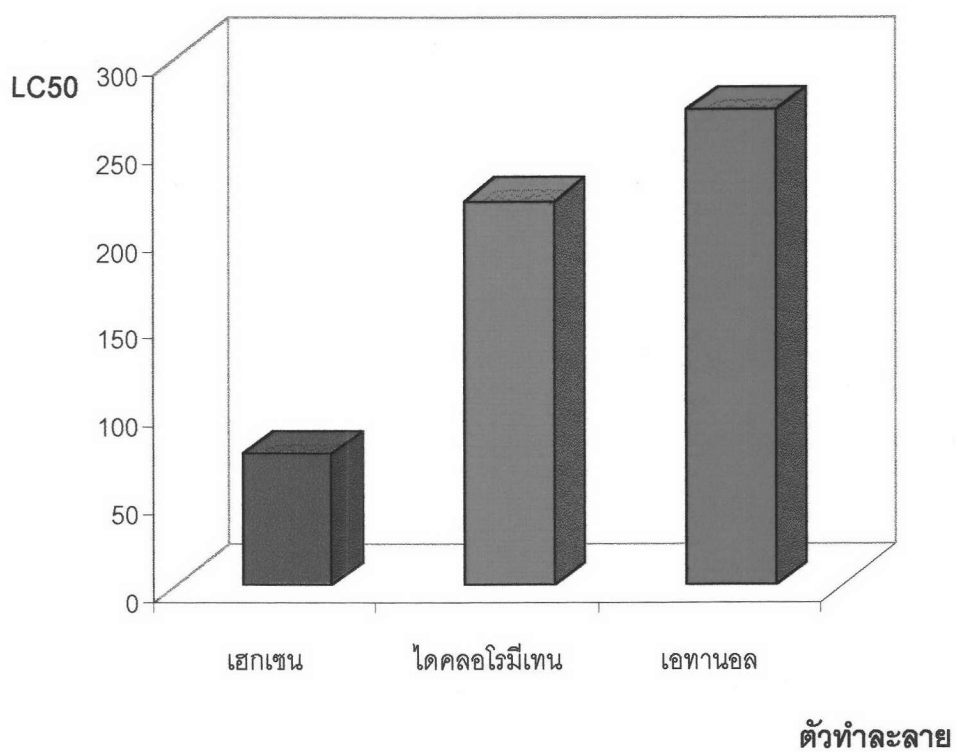


รูปที่ 4.5 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอจ (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากต้นผักไผ่น้ำ



ตารางที่ 4.6 ผลของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อไรสีน้ำตาล

สารสกัด	% yield	LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	ระดับความเป็นพิษ
เฮกเซน	0.73	74.97	++
ไดคลอโรมีเทน	1.08	218.76	+
เอทานอล	1.57	270.90	+



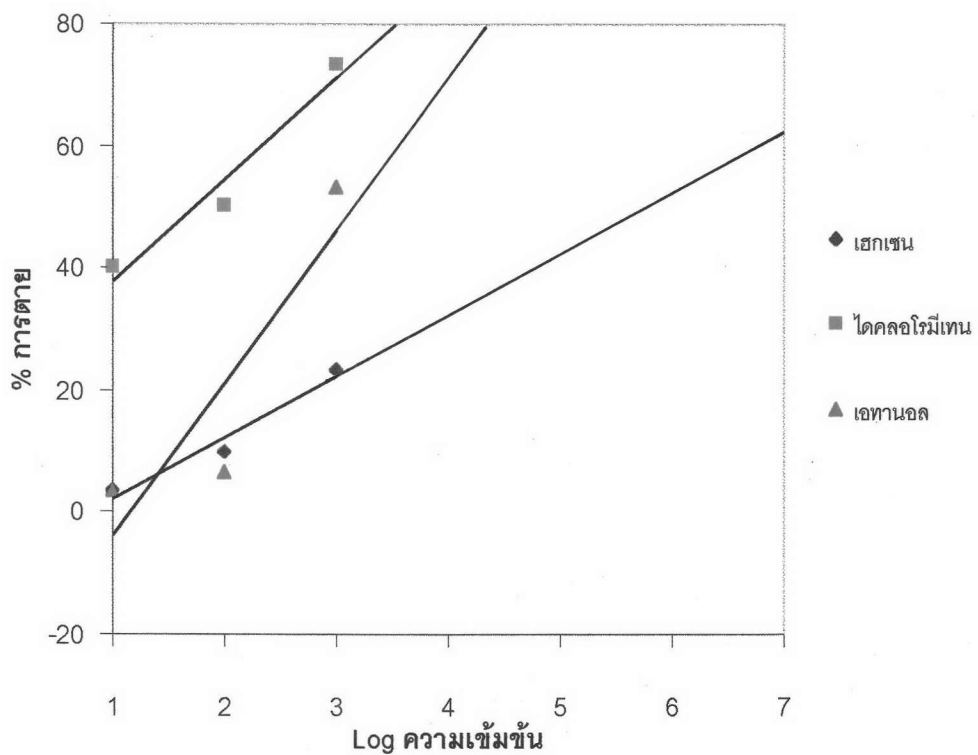
รูปที่ 4.6 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่พิษต่อไรสีน้ำตาล

#### 4.2.3 ผลของสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อโรสน้ำตาล ที่เวลา 6 ชั่วโมง

เมื่อนำเมล็ดมะคำดีควาย (4.0 กก.) มาสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล ตามลำดับ และนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบความเป็นพิษต่อโรสน้ำตาล พบว่าสารสกัดจากไดคลอโรมีเทนให้ฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาลดีที่สุดในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดโดยให้ค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 53.01  $\mu\text{g/ml}$  ส่วนสารสกัดเฮกเซนและเอทานอลไม่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล ค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 6 ชั่วโมงของแต่ละสารสกัด แสดงดังตารางที่ 4.7, 4.8 รูปที่ 4.7, 4.8

ตารางที่ 4.7 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากเมล็ดมะค่าตีควาย โดยใช้โปรแกรมโพรบิท

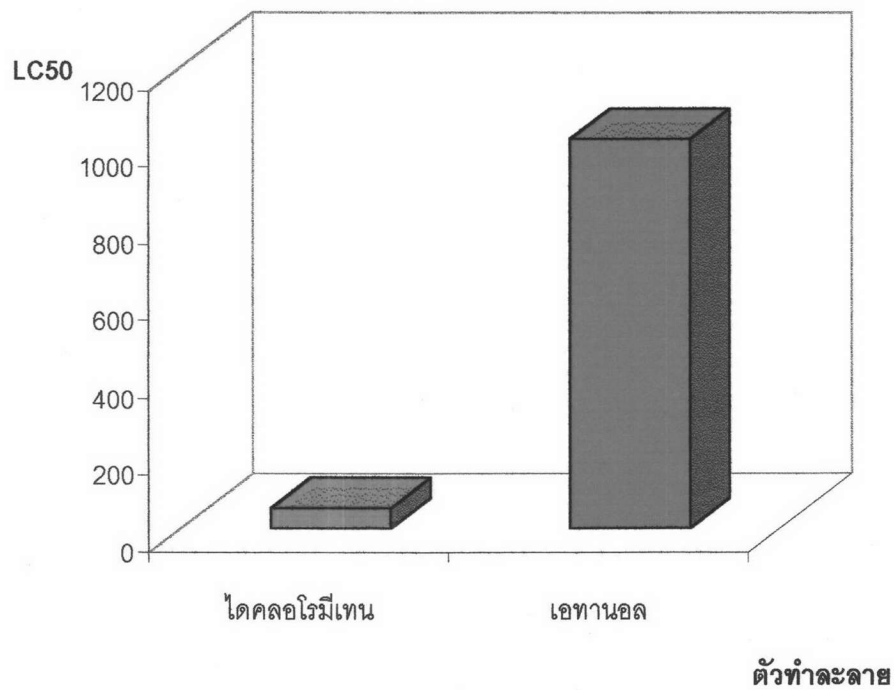
ชนิดของตัวทำละลาย	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
เฮกเซน	20711.00	1936.02-1.1458E+16	0.96
ไดคลอโรมีเทน	53.01	2.22 - 265.81	0.95
เอทานอล	1,012.99	491.62 - 4,164.67	0.80



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอจ (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากเมล็ดมะค่าตีควาย

ตารางที่ 4.8 ผลของสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อไรสีน้ำตาล

สารสกัด	% yield	LC <sub>50</sub>	
		( $\mu\text{g/ml}$ )	ระดับความเป็นพิษ
เฮกเซน	1.95	20,711.00	-
ไดคลอโรมีเทน	0.36	53.01	++
เอทานอล	4.89	1,012.99	-



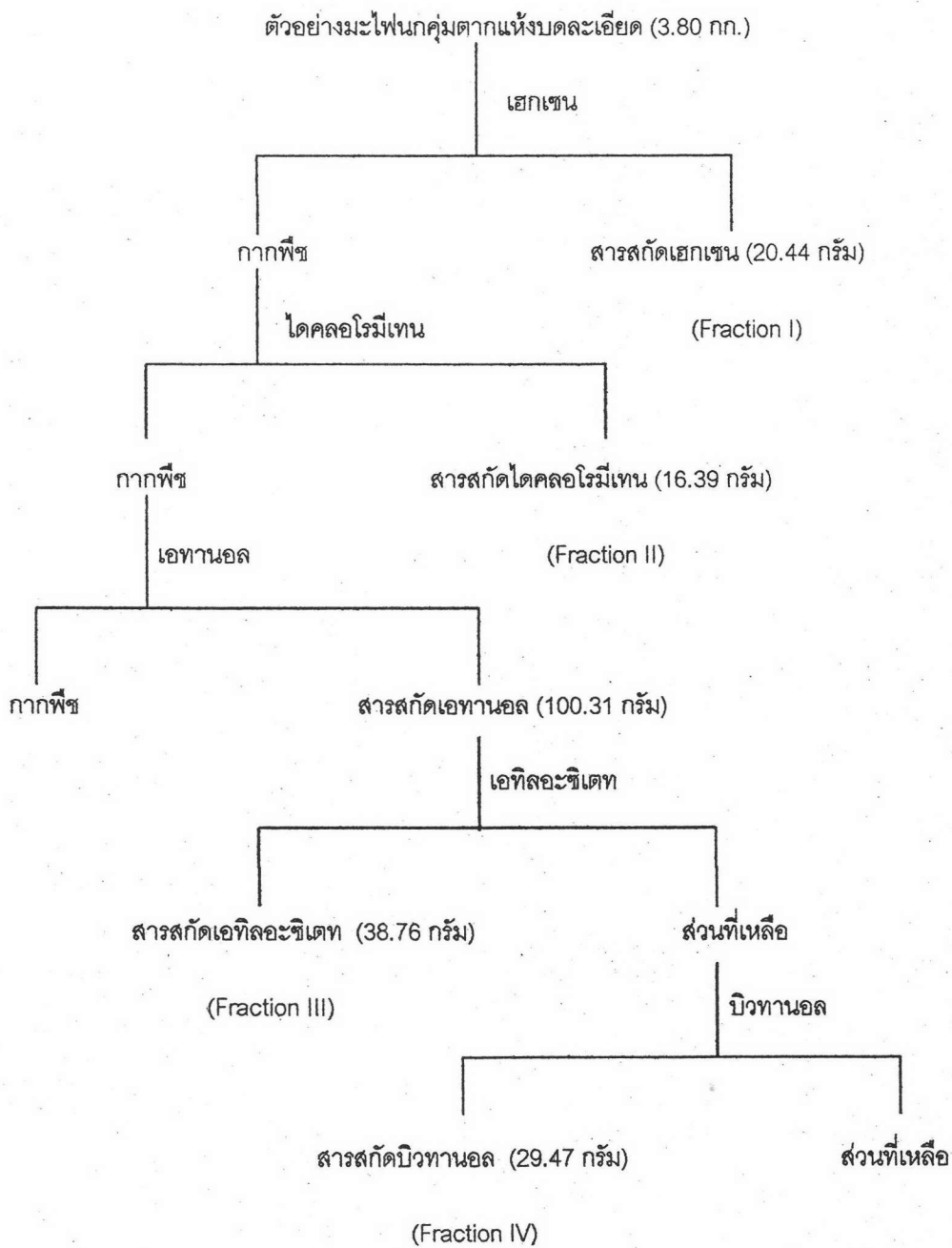
รูปที่ 4.8 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อไรสีน้ำตาล

#### 4.3 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มในตัวทำลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลที่มีฤทธิ์ต่อไรสีน้ำตาลและปลาตะเพียนขาว

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 จะเห็นว่ามะไฟนกุ่มให้ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลมากที่สุด โดยให้ค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 1.94  $\mu\text{g/ml}$  ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงเลือกมะไฟนกุ่ม *Ammannia baccifera* มาทำการแยกหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป โดยนำสารสกัดเอทานอลมาทำการสกัดต่อโดยกวนด้วยเอทิลอะซิเตท และบิวทานอล ผลของสารสกัดแสดงดังแผนภาพที่ 4.1 จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดและสารมาตรฐาน คือ 1,4-Naphthoquinone และ Rotenone ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับไรสีน้ำตาลและปลาตะเพียนขาว

*Puntius gonionotus*

แผนภาพที่ 4.1 ผลการสกัดต้นมะไฟนกลุ่มในตัวอย่างละลายแต่ละชนิดตามลำดับความมีขั้ว



#### 4.3.1 ผลของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลที่มีฤทธิ์ต่อไรสี

##### น้ำตาล

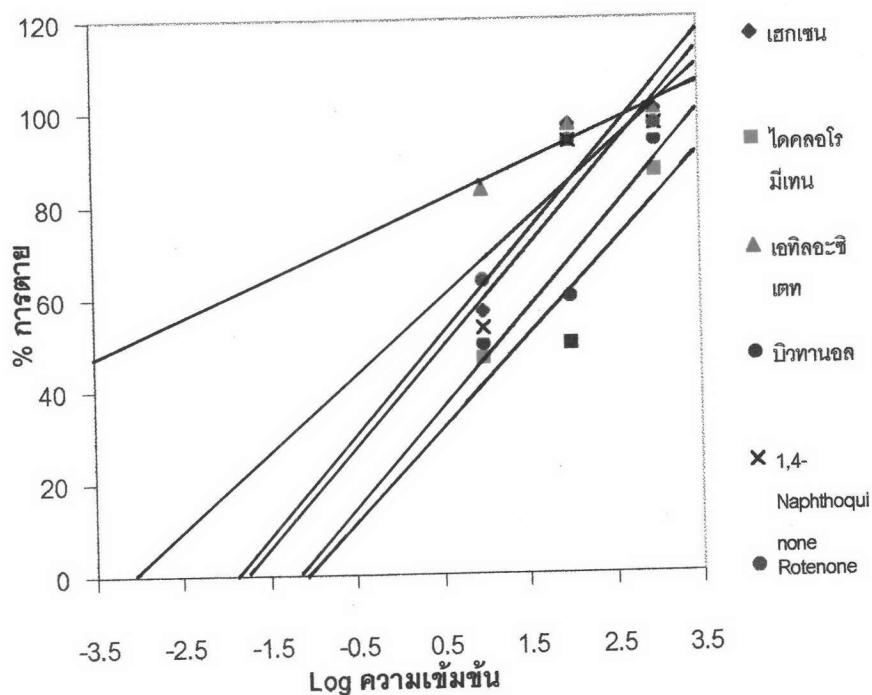
เมื่อนำสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของต้นมะไฟนาคุ่มไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับไรสีน้ำตาลพบว่า สารสกัดเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนให้ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อไรสีน้ำตาลในระดับรุนแรงโดยให้ค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 1.02 และ 7.96  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 1,4-Naphthoquinone และ Rotenone ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อปลาพบว่า สารสกัดเอทิลอะซิเตทจะให้ฤทธิ์กับไรสีน้ำตาลสูงกว่า Rotenone 5 เท่าและสูงกว่า 1,4-Naphthoquinone 8 เท่า และสารสกัดเฮกเซนจะให้ฤทธิ์กับไรสีน้ำตาลใกล้เคียงกับสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด ส่วนสารสกัดบิวทานอลและไดคลอโรมีเทนให้ฤทธิ์ในระดับปานกลางโดยให้ค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 15.94 และ 27.14  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ซึ่งผลของสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ของต้นมะไฟนาคุ่มที่ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับไรสีน้ำตาลแสดงดังตารางที่ 4.9, 4.10 และรูปที่ 4.9, 4.10

ตารางที่ 4.9 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอล

จากต้นมะไฟนกลุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์กับโรส่น้ำตาลโดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ชนิดของตัวทำ ละลาย	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
เฮกเซน	7.96	2.29-13.90	0.81
ไดคลอโรมีเทน	27.14	2.30-83.67	0.81
เอทิลอะซิเตท	1.02	0.00-5.20	0.89
บิวทานอล	15.94	1.74-43.48	0.91
1,4-Naphthoquinone*	8.40	2.50-14.71	0.81
Rotenone**	5.32	0.47-10.99	0.82

หมายเหตุ \* ซื้ของบริษัท Fluka \*\* ซื้ของบริษัท Aldrich



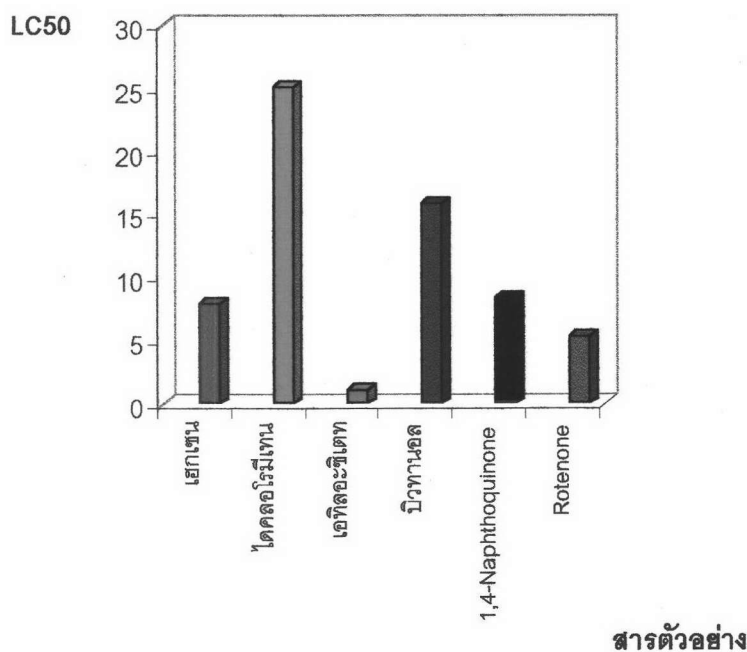
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรส่น้ำตาลกับล็อกจ (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮก

เซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนกลุ่มและสารมาตรฐาน



ตารางที่ 4.10 ผลของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนกุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล

สารตัวอย่าง	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
สารสกัดเฮกเซน	7.96	+++
สารสกัดไดคลอโรมีเทน	27.14	++
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	1.02	+++
สารสกัดบิวทานอล	15.94	++
1,4-Naphthoquinone	8.39	+++
Rotenone	5.32	+++



รูปที่ 4.10 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่ 6 ชั่วโมง ของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของต้นมะไฟนกุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล

#### 4.3.2 ผลของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลที่มีฤทธิ์ต่อ

##### ปลาตะเพียนขาว

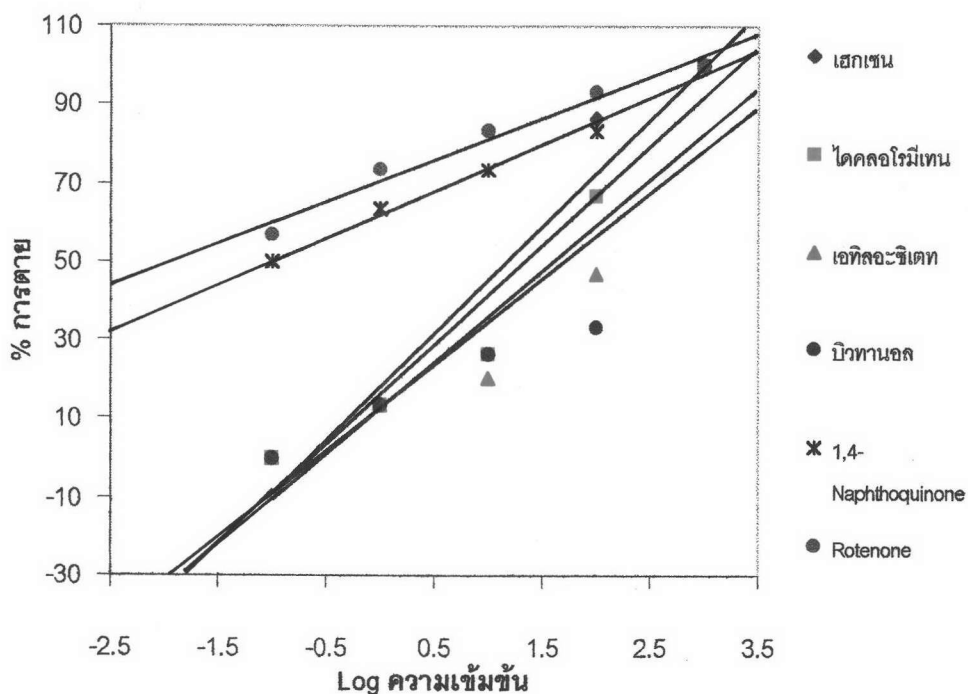
ผลการทดลองวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลองสำหรับทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อปลาตะเพียนขาวแสดงดังตารางที่ 4.11 จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนและหลังการทดลองไม่ค่อยแตกต่างกันเท่าไรนัก ดังนั้นจำนวนปลาที่ตายจึงมาจากการได้รับสารพิษเข้าไป และในการทดสอบความเป็นพิษกับปลานี้แบ่งออกเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกคือช่วงหาความเข้มข้นของสารพิษอย่างกว้าง ๆ ผลของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาวในช่วงนี้แสดงดังตารางที่ 4.12, 4.13 รูปที่ 4.11, 4.12 และช่วงที่สองคือช่วงหาความเข้มข้นอย่างละเอียดเพื่อหาค่า  $LC_{50}$  ที่แท้จริง โดยนำค่า  $LC_{50}$  ในช่วงแรกมาชอยความเข้มข้นให้ละเอียดขึ้น ซึ่งผลของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อปลามากที่สุดคือ สารสกัดเอทิลอะซิเตท รองลงมาคือสารสกัดเฮกเซน ให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 6.91 และ 18.42  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิดพบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อปลาดังสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด 40 และ 108 เท่า ตามลำดับ เนื่องจากสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นสารที่ซื้อมาจากบริษัทที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นและไม่บริสุทธิ์มากนัก จากการทำ TLC พบว่าจุดของสารจะเป็นทางแสดงว่าสารไม่บริสุทธิ์นักและมีสารอื่นปะปนอยู่ ซึ่งอาจจะปนมากับสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ได้ ดังนั้นจึงทำให้ได้ค่า  $LC_{50}$  ที่ค่อนข้างต่ำมาก ๆ ส่วนสารสกัดบิวทานอลและไดคลอโรมีเทนให้ฤทธิ์กับปลาตะเพียนขาวในระดับปานกลาง ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของสารสกัดจากตัวทำละลายแต่ละชนิดที่มีพิษต่อปลาตะเพียนขาวแสดงดังตารางที่ 4.14, 4.15 รูปที่ 4.13, 4.14

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลองก่อนและหลังทำการทดลอง

ตัวแปรที่ต้องวิเคราะห์	ค่าก่อนทำการทดลอง	ค่าหลังทำการทดลอง
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (OD, ppm)	5.30	4.90
ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH)	7.51	7.02
อุณหภูมิของน้ำ ( $^{\circ}\text{C}$ )	27.97	27.04

ตารางที่ 4.12 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงแรก) ของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและ บิวทานอลจากมะไฟนกลุ่มและสารมาตรฐานที่มีพิษต่อปลาตะเพียนขาวโดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ชนิดของตัวทำ	$LC_{50}$	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 %	$R^2$
ละลาย	( $\mu\text{g/ml}$ )	( $\mu\text{g/ml}$ )	
เฮกเซน	16.05	6.91-37.49	0.92
ไดคลอโรมีเทน	25.69	10.36-65.86	0.95
เอทิลอะซิเตท	47.12	18.31-133.89	0.87
บิวทานอล	56.87	21.09-180.44	0.81
1,4-Naphthoquinone	0.17	0-52774.68	0.99
Rotenone	0.15	0.00001-2,315.32	0.97

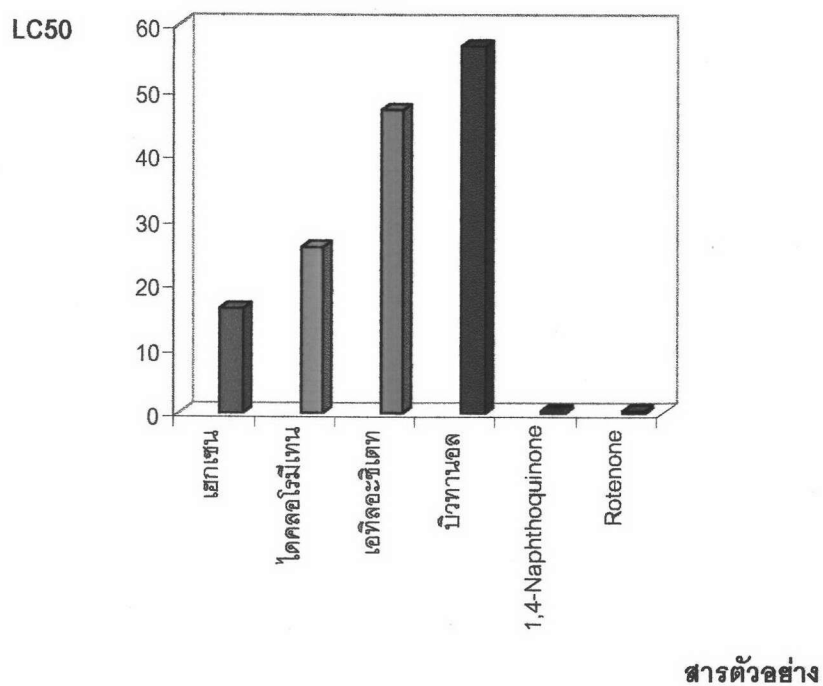


รูปที่ 4.11 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวกับลอจ (log) ความเข้มข้น (ช่วงแรก) ของ สารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากมะไฟนกลุ่มและสารมาตรฐาน

ตารางที่ 4.13 แสดงผลของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของ

ต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงแรก)

สารตัวอย่าง	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
สารสกัดเฮกเซน	16.05	++
สารสกัดไดคลอโรมีเทน	25.69	++
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	47.12	++
สารสกัดบิวทานอล	56.87	++
1,4-Naphthoquinone	0.17	+++
Rotenone	0.15	+++

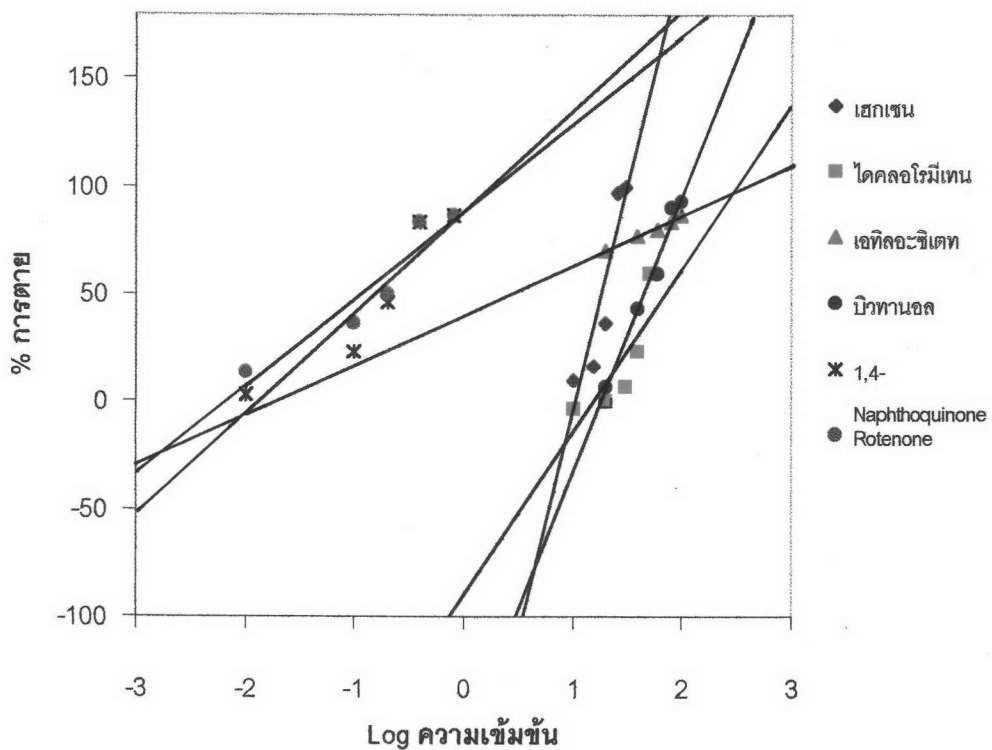


รูปที่ 4.12 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงแรก) ของสารสกัดจากตัวทำละลายของต้นมะไฟนาค

คุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว

ตารางที่ 4.14 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและ บิวทานอลจากมะเฟินกลุ่มและสารมาตรฐานที่มีพิษต่อปลาตะเพียนขาวโดยใช้โปรแกรมโพรบิท

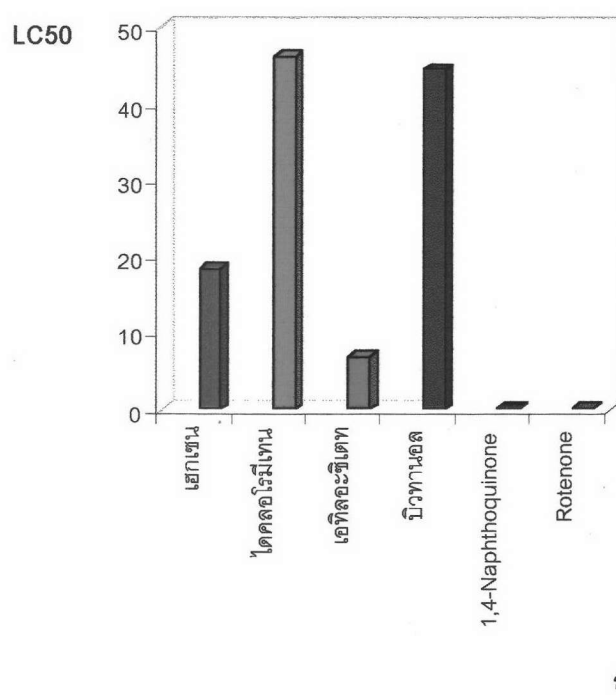
ชนิดของตัวทำละลาย	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
เฮกเซน	18.42	14.07-24.03	0.83
ไดคลอโรมีเทน	46.35	25.20-87.48	0.65
เอทิลอะซิเตท	6.91	0.03-15.85	0.99
บิวทานอล	44.59	37.01-50.56	0.98
1,4-Naphthoquinone	0.17	0-52,774.68	0.87
Rotenone	0.15	0.00001-2,315.32	0.90



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้น (ช่วงสอง) ของ สารสกัดจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ของต้นมะเฟินกลุ่มและสารมาตรฐาน

ตารางที่ 4.15 แสดงผลของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของ  
ต้นมะไฟน้อกุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง)

สารตัวอย่าง	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
สารสกัดเฮกเซน	18.42	++
สารสกัดไดคลอโรมีเทน	46.35	++
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	6.91	+++
สารสกัดบิวทานอล	44.59	++
1,4 -Naphthoquinone	0.17	+++
Rotenone	0.15	+++



รูปที่ 4.14 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดจากตัวทำละลายของต้นมะไฟน้อกุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว

#### 4.4 ผลการแยกสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วและฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อโรสิน้ำตาล

##### 4.4.1 ผลการแยกสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick column) และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลที่เวลา 6 ชั่วโมง

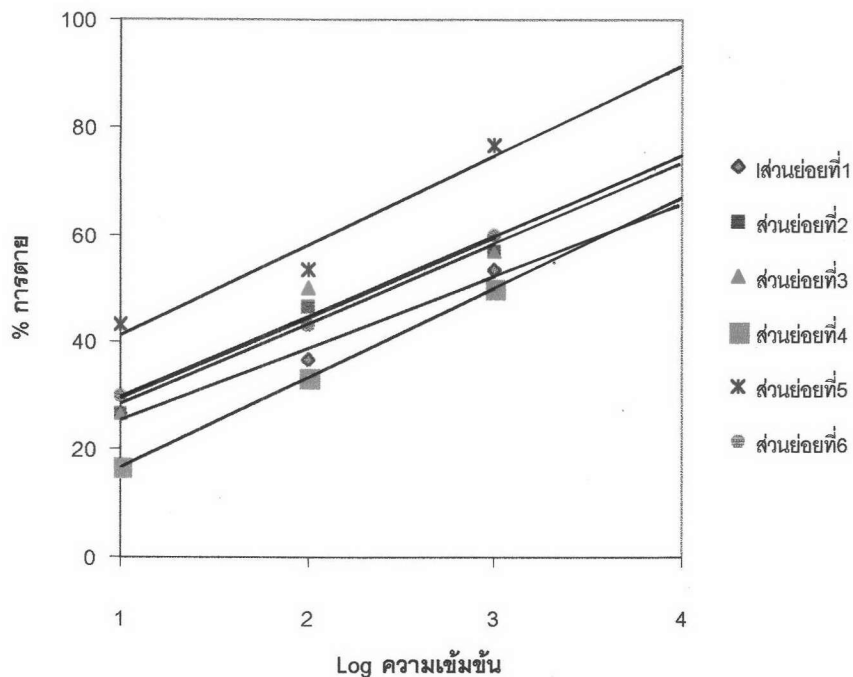
จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อโรสิน้ำตาลของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ดังตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่านอกจากสารสกัดเอทิลอะซิเตทให้ฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาลในระดับรุนแรงแล้ว ยังมีสารสกัดเฮกเซนที่ให้ฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาลในระดับรุนแรงเช่นเดียวกัน โดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 7.96  $\mu\text{g/ml}$  จึงนำสารสกัดเฮกเซน (15.0 กรัม) มาทำการแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อยโดยอาศัยเทคนิคการทำโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว จากนั้นนำส่วนย่อยที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับโรสิน้ำตาล พบว่า ส่วนย่อยที่ 5 ซึ่งมีตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน (80-90% ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นตัวระกลล้มมีฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาลสูงสุดจากทั้งหมด 6 ส่วนย่อย โดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 67.83  $\mu\text{g/ml}$  ผลของการแยกสารสกัดเฮกเซนและฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อโรสิน้ำตาลแสดงดังตาราง 4.16, 4.17, 4.18 รูปที่ 4.15, 4.16 ตามลำดับ

##### ตารางที่ 4.16 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว

Fraction No.	ตัวชะ (% v/v)	ลักษณะ	น้ำหนัก (กรัม)
1	hexane, 5% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ in hexane	ไซลีเหลือง	0.86
2	10-20% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ in hexane	ไซลีเหลือง	0.35
3	30-50% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ in hexane	น้ำมันสีเหลือง	2.14
4	60-70% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ in hexane	น้ำมันสีส้ม	1.80
5	80-90% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีดำ	2.22
6	100% $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	น้ำมันสีดำ	1.01

ตารางที่ 4.17 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเห็กเซนด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ  
รวดเร็ว โดยใช้โปรแกรมโพธิวิท

ส่วนย่อยที่	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 % ( $\mu\text{g/ml}$ )	$R^2$
1	1,405.75	238.42-%4.82E+23	0.98
2	596.02	121.08-%29056400.00	0.96
3	509.23	100.30-%16802740.00	0.91
4	1,502.89	370.02-%7667856.00	1.00
5	67.83	3.96 - 359.41	0.95
6	505.86	102.97-%4519282.00	1.00



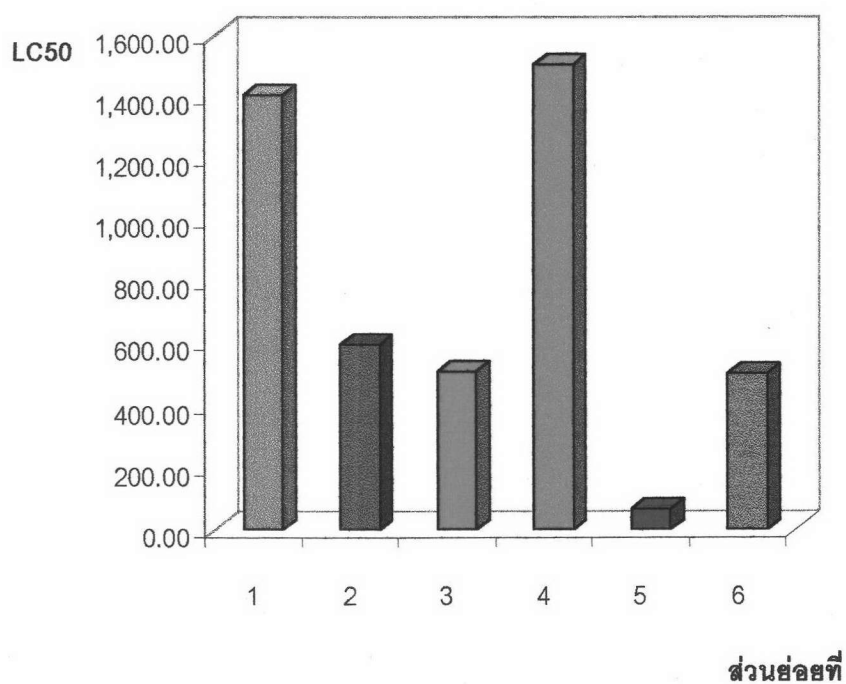
รูปที่ 4.15 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของไรสน้ำตาลกับลอการิทึมความเข้มข้นของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเห็กเซนด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว



ตารางที่ 4.18 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเหกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำ

ตาล

Fraction (%v/v)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
hexane, 5% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	1,405.75	-
10-20% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	596.02	+
30-50% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	509.23	-
60-70% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	1,502.89	-
80-90% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	67.83	++
100% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	505.86	+



รูปที่ 4.16 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ซม. ของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเหกเซนโดยวิธี

โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล

#### 4.4.2 ผลการแยกสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วและฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อโรสื่อน้ำตาลที่เวลา 6 ชั่วโมง

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อโรสื่อน้ำตาลดังตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทให้ฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาลในระดับรุนแรงซึ่งให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 1.02  $\mu\text{g/ml}$  จึงนำสารสกัดเอทิลอะซิเตท (8.00 กรัม) มาทำการแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อยโดยอาศัยเทคนิคการทำโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว จากนั้นนำส่วนย่อยที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับโรสื่อน้ำตาล พบว่า ส่วนย่อยที่ 5 ซึ่งมีตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทในไดคลอโรมีเทน (70-80% ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นตัวชะคอลลัมน์ มีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาลสูงสุดจากทั้งหมด 6 ส่วนย่อยโดยให้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงเท่ากับ 28.18  $\mu\text{g/ml}$  ผลของการแยกสารสกัดเอทิลอะซิเตทและฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสื่อน้ำตาลแสดงดังตาราง 4.19, 4.20, 4.21 รูปที่ 4.17, 4.18

ตารางที่ 4.19 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว

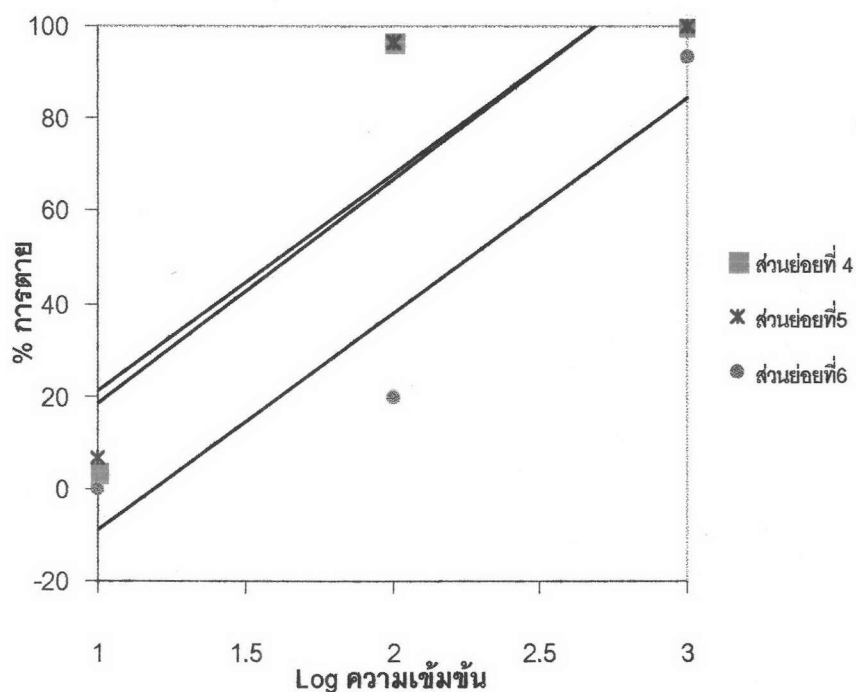
ส่วนย่อยที่	ตัวชะ (% v/v)	ลักษณะ	น้ำหนัก (กรัม)
1	50%hexane: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	น้ำมันสีเขียวเข้ม	0.53
2	5-10% EtOAc : $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	น้ำมันสีเขียวเข้ม	0.23
3	20-40% EtOAc : $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	น้ำมันสีน้ำตาล	0.31
4	50-60% EtOAc : $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	น้ำมันสีน้ำตาล	0.97
5	70-80% EtOAc : $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	ของหนืดสีดำ	0.92
6	90%EtOAc: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOAc, 5% MeOH: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	ของหนืดสีดำ	1.83

ตารางที่ 4.20 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทด้วยวิธีโครมาโท

กราฟแบบรวดเร็ว โดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ส่วนย่อยที่	$LC_{50}$	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 %	$R^2$
	( $\mu\text{g/ml}$ )	( $\mu\text{g/ml}$ )	
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	31.62	21.03-47.56	0.78
5	28.18	19.23-42.76	0.78
6	229.35	150.46-354.50	0.90

หมายเหตุ - ปลาไม่ตายเลย



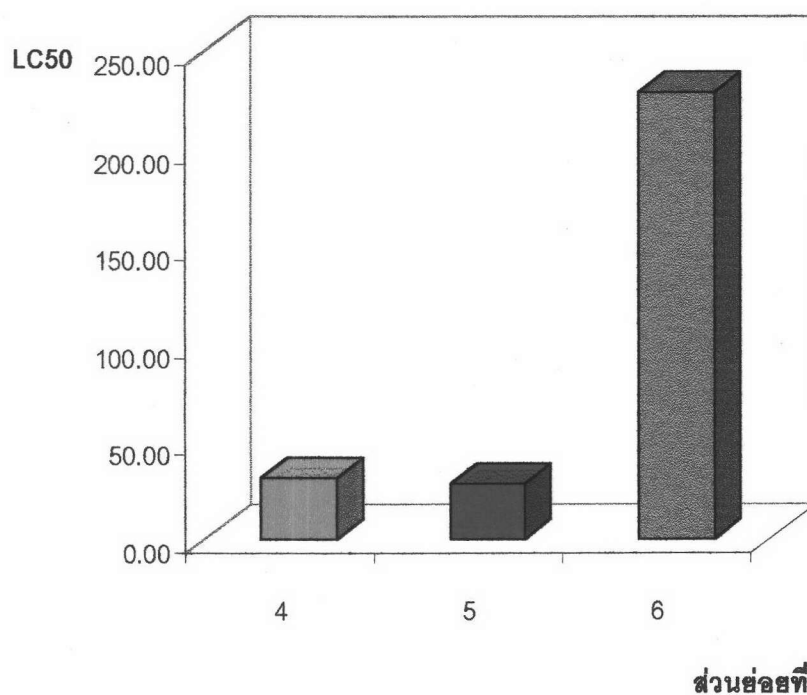
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของไรสน้ำตาลกับลอการิทึมของความเข้มข้นของส่วนย่อยที่แยกได้จากสาร

สกัดเอทิลอะซิเตทด้วยวิธีโครมาโทกราฟแบบรวดเร็ว

ตารางที่ 4.21 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว

(Quick column) ที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล

Fraction (%v/v)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
50% Hexane : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-
5-10% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-
20-40% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	-
50-60% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	31.62	++
70-80% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	28.18	++
90% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , EtOAc, 5% MeOH: EtOAc	229.35	+



รูปที่ 4.18 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ชม. ของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธี

โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล

#### 4.5 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

##### 4.5.1 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเฮกเซน (Fraction I)

จากการนำสารสกัดเฮกเซน ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้ม 50.18 g นำมาทำการแยกหาสารโดยอาศัยวิธีทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี และชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเริ่มต้น คือ เฮกเซน ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนในไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน ตัวทำละลายผสมระหว่าง ไดคลอโรมีเทนในเมทานอล และเมทานอล ตามลำดับและตรวจสอบด้วยวิธีอินเลเยอร์โครมาโทกราฟี เพื่อรวมส่วนย่อยที่มีลักษณะเดียวกันเข้าด้วยกัน ผลการรวมส่วนย่อยจากการแยกสารสกัดเฮกเซนแสดงในตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 ผลการแยกสารสกัดจากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fraction No.	น้ำหนัก (g)	ตัวชะ (% v/v)	ลักษณะ
1-7	0.37	hexane, 5% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีเหลือง
8-10	0.25	5% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีขาว
11-13	0.58	5% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีส้ม
14-40	5.28	10-30% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีส้ม (ABH1)
41-67	6.98	30-40% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีส้ม
68-71	2.54	40-50% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีน้ำตาล (ABH2)
72-86	2.42	60% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีเขียวปนน้ำตาล
87-134	5.74	60% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล
135-143	5.02	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 5% MeOH in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
144-146	12.05	20% MeOH in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
147-153	2.21	20-30% MeOH in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
154-167	0.98	30-50% MeOH in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , MeOH	ของแข็งสีดำ

#### ผลการแยกส่วนย่อย ที่ 14-40 จากตารางที่ 4.22

ส่วนย่อยที่ 14-40 ที่มีลักษณะเป็นของแข็งในน้ำมันสีส้ม พบว่าน้ำมันสีส้มส่วนใหญ่ละลายในเฮกเซน แต่ของแข็งสีขาวนั้นไม่ละลาย เมื่อทำการกรองเอาของแข็งสีขาวออกมา และทำการตกผลึก หลังจากตกผลึกหลายครั้ง ปรากฏว่า จะให้ผลึกสีขาวรูปเข็ม ให้ชื่อเป็น ABH1, มีน้ำหนัก 40 มก.

#### ผลการแยกสารสกัดส่วนย่อยที่ 68-71 จากตารางที่ 4.22

เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อยที่ 68-71 (2.54 กรัม) มาทำการแยกหาสารสกัดด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี เช่นเดิม โดยใช้คอลัมน์ขนาดเล็กและชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเริ่มต้น คือ เฮกเซน ตัวทำละลายผลมระหว่างเฮกเซนในไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน, ตัวทำละลายผลมระหว่างไดคลอโรมีเทนในเมทานอล และสุดท้าย คือ เมทานอล หลังจากทำการแยกหาสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีหลายครั้ง จะได้ผลึกสีส้ม รูปเข็ม ซึ่งผลึกเหล่านี้ละลายในไดคลอโรมีเทน แต่ไม่ละลายในเฮกเซน จึงกรองเอาผลึกรูปเข็มสีส้มออกมาทำการตกผลึกด้วยเฮกเซน หลังจากทำการตกผลึกหลายครั้ง จะได้ผลึกรูปเข็มสีส้ม ให้ชื่อเป็น ABH2 น้ำหนัก 18.9 มก.

#### ผลการแยกสารสกัดส่วนย่อยที่ 72-86 จากตารางที่ 4.22

เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อยที่ 72-86 (2.42 กรัม) นำมาทำการแยกหาสารซ้ำด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี และชะคอลัมน์เริ่มต้นใช้ตัวทำละลาย คือ เฮกเซน ตัวทำละลายผลมระหว่างเฮกเซนในไดคลอโรมีเทน, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ ผลการแยกสารสกัดย่อย ที่ 72-86 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี แสดงในตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 ผลการแยกสารสกัดย่อยที่ 72-86 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fraction No.	น้ำหนัก (g)	ตัวชะ (% v/v)	ลักษณะ
1-12	0.05	hexane, 10%CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ขี้ผึ้งสีขาว
13-14	0.13	10% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีเหลือง
15-18	0.02	10-20% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งสีขาว (ABH3)
19-24	0.51	30% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีเหลือง
25-53	0.39	30-40% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	ของแข็งในน้ำมันสีส้ม
54-89	0.17	40-90% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> in hexane	น้ำมันสีเขียวปนดำ (ABH4)
90-98	0.87	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , MeOH	น้ำมันสีดำ

จากตารางที่ 4.23 ในส่วนสกัดย่อยที่ 15-18 จะมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว เมื่อตรวจสอบด้วยวิธีอินเดเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่า เกิดมีจุดบนแผ่น TLC 1 จุด ซึ่งไม่ดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ต แต่ดูดกลืนไอโอดีน จึงทำการกรองผลึก และตกผลึกสารด้วยเมทานอลร้อน หลังจากทำการตกผลึกหลายครั้งจะได้สารผลึกสีขาวให้ชื่อเป็น ABH3 (30 มก.)

#### ผลการแยกสารสกัดย่อย ที่ 54-89 จากตารางที่ 4.23

เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อยที่ 54-89 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวเข้ม (0.17 กรัม) มาทำการแยกหาสาร โดยวิธีโครมาโทกราฟี ในการระเหยสารสกัดเริ่มชะด้วยตัวทำละลาย คือ เฮกเซน ตัวทำละลายผสมระหว่างอีเธอร์ในเฮกเซน และเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ หลังจากทำการแยกหาสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีหลายครั้ง จะได้ของแข็งสีขาว ซึ่งสามารถละลายได้ในไดคลอโรมีเทน แต่ไม่ละลายในเฮกเซน ให้กรองเอาผลึกออก และทำการตกผลึกด้วยเฮกเซน หลังจากตกผลึกหลายครั้ง จะได้สารมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ให้ชื่อเป็น ABH4 (21มก.)

ผลการแยกสารสกัดย่อยที่ 144-146 จากตารางที่ 4.22 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารสกัดส่วนย่อยที่ 144-146 (12.05 กรัม) มาทำการแยกหาสารโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะคอลัมน์เริ่มต้นด้วย ตัวทำละลายระหว่างเอทิลอะซิเตทในไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตท และ เมทานอล ตามลำดับ ผลของการสกัดแยกส่วนย่อยที่ 144-146 แสดงดังตารางที่ 4.24

ตารางที่ 4.24 ผลของการแยกสารสกัดส่วนย่อยจากส่วนย่อยที่ 144-146

Fraction No.	น้ำหนัก (g)	ตัวชะ (% v/v)	ลักษณะ
1-37	4.02	30% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ผลิตภัณฑ์ขาวในน้ำมันสน้ำตาล (ABH3, ABH5)
38-41	1.05	40% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีเขียวปนน้ำตาล
42-47	1.19	60% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีเขียวปนน้ำตาล
50	0.92	100 % methanol	น้ำมันสีดำ

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ขาวในน้ำมันสน้ำตาล มาตรวจสอบโดยวิธี TLC บนแผ่น TLC จะเกิดจุด 2 จุด โดยจุดหนึ่งจะดูตกถิ่นแสงอัลตราไวโอเล็ต ส่วนอีกจุดหนึ่งดูตกถิ่นไอโอดีน จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์ขาวมารอง และตกผลิตภัณฑ์ใหม่ด้วยเอทานอลร้อน หลังจากทำการตกผลิตภัณฑ์หลายครั้งจะได้ ผลิตภัณฑ์ขาวรูปเข็ม เมื่อตรวจสอบด้วย TLC เปรียบเทียบกับสาร ABH3 ปรากฏว่า ทั้ง 2 จุด นั้นเคลื่อนที่ไปบนแผ่น TLC ได้ระยะทางเท่ากัน จึงน่าจะสรุปว่า ผลิตภัณฑ์ขาวรูปเข็มนี้เป็นสาร ABH3 ด้วย ส่วนที่เหลือที่กรองเอาผลิตภัณฑ์ขาวออกไปแล้ว จะทำการแยกต่อด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก ตัวทำละลายที่ใช้ชะคอลัมน์เริ่มต้นด้วยไดคลอโรมีเทน, ตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเอทิลอะซิเตท และเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ ผลของการแยกสารสกัดโดยวิธีการใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก แสดงดังตารางที่ 4.25



ตารางที่ 4.25 ผลของการแยกสารสกัดโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก

Fraction	น้ำหนัก	ตัวชะ	ลักษณะ
No.	(g)	(%v/v)	
1-6	0.12	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล (ABH5)
6-11	0.34	20% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล
12-15	0.31	20% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาลปนดำ
16-25	0.49	40% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , EtOAc	น้ำมันสีน้ำตาลปนดำ

จากตารางที่ 4.25 นำส่วนย่อยที่ 1-6 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาล มาทำการแยกหาสารต่อโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะเพื่อแยกสารออกมานั้นเริ่มต้นด้วยเฮกเซน, อีเทอร์, ตัวทำละลายผสมระหว่างอีเทอร์กับเอทิลอะซิเตทและเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ หลังจากใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีหลายครั้ง จะได้สารที่มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง ให้ชื่อเป็น ABH5 (20.2 มก.)

#### 4.5.2 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเอทิลอะซิเตท (Fraction III)

จากการนำสารสกัดเอทิลอะซิเตท (31.25 กรัม) ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้ม นำมาแยกหาสารโดยอาศัยวิธีทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี และใช้ตัวทำละลายโดยอาศัยลำดับความมีขั้วเป็นตัวชะคอลัมน์ ซึ่งจะเริ่มชะด้วยไดคลอโรมีเทน, ตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเอทิลอะซิเตท, เอทิลอะซิเตท และ เมทานอล ตามลำดับ ผลของการแยกสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแสดงดังตาราง 4.26

ตารางที่ 4.26 ผลของการแยกสารสกัดของตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fraction	น้ำหนัก	ตัวชะ	ลักษณะ
No.	(g)	(%v/v)	
1-3	0.55	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีส้ม
4	1.08	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีส้มในน้ำมันสีน้ำตาล
5-6	0.30	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
7-10	0.82	5-10% EtOAc:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ผลึกสีขาว ในน้ำมันสีน้ำตาล (ABH1)
11-12	0.22	10% EtOAc:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
13-19	0.48	10-20% EtOAc: H <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	แผ่นเจลสีเขียว
20-24	0.21	20% EtOAc:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
25-31	1.76	30% EtOAc:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ไซลีเหลืองในน้ำมันสีดำ
32-38	0.21	40% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
39-44	1.05	50% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
45-53	2.01	60% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
54	0.05	70% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ

ตารางที่ 4.26 (ต่อ) ผลของการแยกสารสกัดของตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fraction No.	น้ำหนัก (g)	ตัวชะ (%v/v)	ลักษณะ
55-56	0.93	70% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ผลึกสีดำในน้ำมันสีน้ำตาล
57-71	0.47	70% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีขาว (ABE1)
72-73	0.97	80% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำในน้ำมันสีแดง
74-75	0.42	80% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
76	0.21	90% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
77	0.11	90% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
78	0.08	90% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีดำ
79-82	1.27	90% EtOAc : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
83-89	3.29	EtOAc	ของแข็งสีน้ำตาล
90-96	4.21	5% MeOH : EtOAc	น้ำมันสีดำ
97-103	1.60	10% MeOH : EtOAc	ของแข็งสีน้ำตาลในน้ำมันสีแดง
104-111	3.90	MeOH	น้ำมันสีดำ

#### ผลการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 7-10 จากตารางที่ 4.26

เมื่อนำส่วนย่อยที่ 7-10 ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวในน้ำมันสีดำ (0.82 กรัม) นำมากรองและทำการตกผลึกด้วยเฮกเซน หลังจากทำการตกผลึกหลายครั้ง จะได้สารที่มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว และเมื่อตรวจสอบด้วยวิธีอินเลเยอร์โครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับสาร ABH1 ปรากฏว่า สารทั้งสองตัวเคลื่อนที่ไปบนแผ่น TLC ด้วยระยะทางเท่ากัน สารที่ได้นี้คือ ABH1

#### ผลการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 57-71 จากตารางที่ 4.26

ส่วนย่อยที่ 57-71 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มาทำการแยกสารให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก ตัวทำละลายที่ใช้จะเริ่มต้นด้วย ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทกับไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตท และตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทกับเมทานอล ตามลำดับ หลังจากการใช้คอลัมน์ขนาดเล็กแยกสารให้บริสุทธิ์แล้วจะได้สารเป็นผลึกสีขาว ให้ชื่อเป็น ABE1 (40 มก.)

#### ผลการแยกสารสกัดจากส่วนย่อยที่ 39-56 และ 72-111 จากตารางที่ 4.26

ส่วนย่อยที่ 39-56 มีลักษณะของแข็งสีน้ำตาลเข้มรวมกับส่วนย่อยที่ 72-111 (20.57 กรัม) เมื่อนำมากรองด้วยผงคาร์บอนเป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง กรองด้วยปัมดูด และนำไประเหยแห้งเพื่อเอาตัวทำละลายออก สารสกัดนี้ได้นำไปแยกหาสารโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก และใช้ตัวทำละลายเป็นตัวชะคอลัมน์เริ่มต้น คือ ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทกับไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตท, ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทกับเมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ ผลของการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 39-56 และ 72-111 แสดงดังตารางที่ 4.27

ตารางที่ 4.27 ผลของการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 39-56 และ 72-111 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Fraction No.	น้ำหนัก (g)	ตัวชะ (%v/v)	ลักษณะ
1-6	0.04	20% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีขาวในน้ำมันสีน้ำตาล
7-21	0.87	20-30% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล
22-34	0.92	30-40% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล
35-73	0.97	40-60% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	น้ำมันสีน้ำตาล
74-133	0.22	70-80% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีขาวในน้ำมันสีน้ำตาล (ABE1), (ABH5)
134-147	0.12	90% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ของแข็งสีน้ำตาล
148-161	0.19	90% EtOAc :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , EtOAc	ของแข็งสีน้ำตาล
162-189	1.02	EtOAc, 5-10% MeOH :EtOAc	น้ำมันสีดำ
190-211	1.23	10-30% MeOH :EtOAc	ของแข็งสีดำ

#### ผลการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 74-133 จากตารางที่ 4.27

เมื่อนำส่วนย่อยที่ 74-133 ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวในน้ำมันสีน้ำตาล (0.22 กรัม) นำมากรองและตกผลึกด้วยเมทานอลร้อน หลังจากการตกผลึกหลายครั้ง จะได้สารมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว และเมื่อเปรียบเทียบกับสารที่ได้กับสาร ABE1 ด้วยวิธีอินเลเยอร์โครมาโทกราฟีปรากฏว่าการเคลื่อนที่ของสารทั้งสองตัวเท่ากัน ดังนั้น สารผลึกรูปเข็มสีขาวที่ได้นี้จึงเป็นสาร ABE1

สำหรับส่วนที่เหลือจากการกรองเอาผลึกออกไปแล้วนั้น นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกบนอ่างน้ำร้อน จากนั้นทำการแยกหาสารโดยวิธีโครมาโทกราฟี ตัวทำละลายที่ใช้ชะสารออกมานั้นเริ่มต้นด้วย เฮกเซน, ตัวทำละลายผสมระหว่างอีเทอร์กับเอทิลอะซิเตท และเอทิลอะซิเตท หลังจากใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีหลายครั้ง จะ

ได้สารซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสาร ABH5 โดยวิธีอินฟราเรดโคจรมาโทกราฟี ปรากฏว่า สารทั้งสองตัวเคลื่อนที่ด้วยระยะทางเท่ากัน ดังนั้น สารที่ได้นี้ คือ ABH5

จากผลการทดลองแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทได้สาร 6 ตัว ซึ่งสารส่วนใหญ่ ที่ได้จะเป็นของแข็งมีเพียงสาร ABH5 เท่านั้นที่เป็นของเหลว สมบัติของสารที่แยกได้แสดงดังตารางที่ 4.28

ตารางที่ 4.28 ลักษณะและสมบัติของสารที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

ชื่อสาร	จุดหลอมเหลว(°C)	ลักษณะ	น้ำหนัก (มก.)	ตัวทำละลายที่
				สามารถละลายได้
ABH 1	147-150	ผลึกรูปเข็มสีขาว	80.98	ไดคลอโรฟอร์ม
ABH 2	120	ผลึกรูปเข็มสีส้ม	18.90	ไดคลอโรฟอร์ม
ABH 3	278-280	ผลึกรูปเข็มสีขาว	50.08	ไดคลอโรฟอร์ม
ABH 4	65-66	ผลึกสีขาว	21.00	ไดคลอโรฟอร์ม
ABH 5	-	น้ำมันสีเหลือง	48.00	อีเธอร์
ABE 1	285-286	ผลึกสีขาว	75.20	เมทานอลร้อน

#### 4.6 การตรวจลักษณะของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสิ่งสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

##### 4.6.1 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร ABH 1

สาร ABH 1 แยกได้จากลำดับส่วนย่อยที่ 14-40 ตารางที่ 4.12 นำมาตกผลึกด้วยเฮกเซน ได้ผลึกรูปเข็มแวววาว สีขาว น้ำหนัก 40 มก. จุดหลอมเหลว 147-150 °C ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม ไดคลอโรฟอร์ม ไม่ละลายในเมทานอล

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) พบการดูดกลืนที่ความถี่ ( $\text{cm}^{-1}$ ) ดังนี้ 3600-3100, 2940-2860, 1640, 1460, 1380, 1060-1040, 970, 960, 840 และ 800  $\text{cm}^{-1}$  (รูปที่ 4.19)

จากอินฟราเรดสเปกตรัม แสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะสำคัญคือ 3600-3100  $\text{cm}^{-1}$  (O-H), 1060-1040  $\text{cm}^{-1}$  (C-O), 970  $\text{cm}^{-1}$ , 960  $\text{cm}^{-1}$  (disubstituted vinyl) และ 840  $\text{cm}^{-1}$ , 800  $\text{cm}^{-1}$  (trisubstituted vinyl) ซึ่งได้รวบรวมแถบการดูดกลืนแสงไว้ในตารางที่ 4.29

ตารางที่ 4.29 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH1

แถบการดูดกลืน		
( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3100	ปานกลาง	OH สันแบบยืดของ R-OH
2940-2860	สูง	C-H สันแบบยืดของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1640	ต่ำ	C=C สันแบบยืดของแอลคีน
1460	ปานกลาง	C-H สันแบบงอของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1380-1370	ปานกลาง	C-H สันแบบงออย่างสมมาตรของ $\text{CH}_3$
1060-1040	ปานกลาง	C-O สันแบบยืดและ O-H สันแบบงอ
970-960	ต่ำ	C-H สันแบบงอแบบนอกระนาบของ $\text{R}_1\text{CH}=\text{CHR}_2$
840-800	ต่ำ	C-H สันแบบงอนอกระนาบของ $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}_3$

จากจุดหลอมเหลวและอินฟราเรดสเปกตรัม อาจจะเป็นสารประเภทสเตียรอยด์หรือไตรเทอร์ปีนอยด์ ดังนั้นจึงนำสาร ABH1 มาทดสอบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ให้ผลบวกคือให้สีเขียว แสดงว่าสาร ABH1 เป็นสารประกอบสเตียรอยด์ จึงทำการยืนยันโครงสร้างของสาร ABH1 โดยนำมาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแกสโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ OV-1 อุณหภูมิคอลัมน์ 260 °C อุณหภูมิขณะฉีด 290 °C อัตราการไหลของแกสไนโตรเจน 45 มล.ต่อนาที และเครื่องตรวจวัด FID โดยเปรียบเทียบสาร ABH 1 กับ สเตียรอยด์มาตรฐาน ได้แก่ Campesterol, Stigmasterol และ  $\beta$ -Sitosterol (รูปที่ 4.20) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบค่า Retention time ระหว่างสารละลายมาตรฐานสเตียรอยด์กับสาร ABH 1 ได้ดังตารางที่ 4.30

ตารางที่ 4.30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐานสเตียรอยด์กับสาร ABH 1

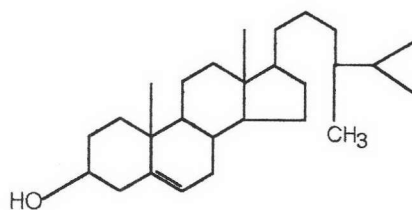
สารตัวอย่าง	Retention time (นาที)	พื้นที่ใต้พีค (%)	ปริมาณ (%)
Campesterol	19.768	2.38	7.91
Stigmasterol	20.907	18.86	62.72
$\beta$ -Sitosterol	24.150	8.83	29.36
สาร ABH 1	19.930	2.09	5.49
	21.046	23.46	61.61
	24.150	12.57	33.01

จากการเปรียบเทียบค่า Retention time ของสาร ABH1 กับสารสเตียรอยด์มาตรฐานทั้ง 3 ชนิดพบว่า Retention time ใกล้เคียงกันมาก

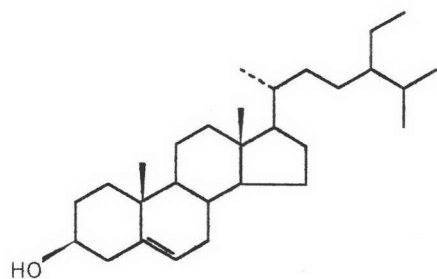
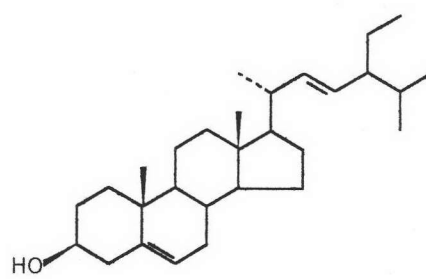
สารประกอบสเตียรอยด์เหล่านี้มีรายงานว่า Stigmasterol เป็นสารที่สำคัญในการใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนบางชนิด นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการกินของแมลงกินฝ้ายสูง ในทางเภสัชใช้เป็นยาระบายสำหรับคนและสัตว์ ใช้เป็นส่วนผสมในยาสระผมเพื่อป้องกันศีรษะล้านและใช้เป็นยาป้องกันโรคผิวหนังได้ (ปัญญา มณีจักร, 2537)



จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าสาร ABH1 เป็นของผสมสเตียรอยด์ Campesterol, Stigmasterol และ  $\beta$ -Sitosterol ซึ่งสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารทั้ง 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 4.21



Campesterol

 $\beta$ -Sitosterol

Stigmasterol

รูปที่ 4.21 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Campesterol, Stigmasterol และ  $\beta$ -Sitosterol

#### 4.6.2 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร ABH2

สาร ABH2 (18.90 มก.) มีลักษณะผลึกรูปเข็มสีส้ม จุดหลอมเหลว  $120^{\circ}\text{C}$  ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในเฮกเซน, เมทานอล และเอทานอล

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 4.22 พบการดูดกลืนที่ความถี่ ( $\text{cm}^{-1}$ ) ดังนี้  $1,650$ ,  $1,590$ - $1,570$ ,  $1,340$ ,  $1,270$ ,  $1,156$ - $1,068$ ,  $865$  และ  $799$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) สามารถแปลความหมายได้ดังตารางที่ 4.31

ตารางที่ 4.31 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH2

แถบการดูดกลืน		
(cm <sup>-1</sup> )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
1650	สูง	C=O สันแบบยืดของคาร์บอนิล
1590-1570	สูง	C=C สันแบบยืดของแอโรมาติก
1340	สูง	C-H สันแบบงอของ CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>
1270	สูง	C-O สันแบบยืดไม่สมมาตรของ C-O-C
1156-1068	ต่ำ	C-O สันแบบงออย่างสมมาตรของ C-O-C
799	สูง	=C-H สันแบบงอแบบนอกระนาบของแอโรมาติก

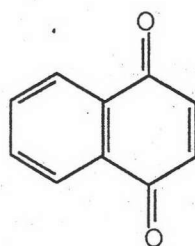
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl<sub>3</sub>) รูปที่ 4.23 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนของวงแอโรมาติกที่ δ (ppm) 8.10 (2H), 7.73 (2H) นอกจากนี้ยังมีที่ 6.95 (2H) ซึ่งเป็นโปรตอนของ α,β unsaturated ketone

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl<sub>3</sub>) ดังรูป 4.24 ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift, δ (ppm) ดังนี้ 125.5, 131.5, 133, 137.5, 184.7 และ 184.8 จากการนำคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมเทียบกับคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสารมาตรฐาน พบว่าคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH2 มีลักษณะสอดคล้องกับคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร 1,4-Naphthoquinone (Breitmaier, E. and Voelter, W., 1987) ดังแสดงในตาราง 4.32

ตารางที่ 4.32 การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH2 กับสาร 1,4-Naphthoquinone

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABH2	1,4-Naphthoquinone
1	184.8	184.7
2	137.5	138.5
3	137.5	138.5
4	184.7	184.7
5	125.5	126.2
6	133.0	133.8
7	133.0	133.8
8	125.5	126.2
9	131.5	131.8
10	131.5	131.8

ดังนั้นจากข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม, โปรตอน, คาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมและการทำ TLC เทียบกับสารมาตรฐาน 1,4-Naphthoquinone สรุปได้ว่าสาร ABH2 คือ 1,4-Naphthoquinone ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 4.25



รูปที่ 4.25 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร 1,4-Naphthoquinone

ในปี 1985 ศิริพร ชิงสนธิพรและคณะรายงานว่า 1,4-Naphthoquinone มีฤทธิ์ในการฆ่าปลาหางนกยูง *Lebistes reticulatus* ในระดับรุนแรงโดยให้ค่า  $LC_{50} = 0.09$  ppm นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า 1,4-Naphthoquinone และอนุพันธ์ที่แยกได้จาก *Calceolaria sessilis* มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง TA3 (*Trypanosoma cruzi* epimastigotes) และ TA3-MTX-R (The methotrexate-resistant subline) (Morello, A. *et.al*, 1995) และสารอนุพันธ์ของ 1,4-Naphthoquinone คือ Aziridinyloquinones มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (Antitumer Activity) ในสัตว์ทดลอง (Moret, Ed. E., *et.al*, 1996)

#### 4.6.3 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร ABH3

สาร ABH3 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 278-280 °C ละลายได้ในคลอโรฟอร์ม

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 4.26 พบการดูดกลืนที่ความถี่ ( $cm^{-1}$ ) ดังนี้ 3450, 2945, 2870, 1695, 1445, 1390, 1240, 1060 และ 898 สามารถแปลความหมายได้ดังตารางที่ 4.33

ตารางที่ 4.33 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH3

แถบการดูดกลืน		
( $cm^{-1}$ )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3400-3200	กว้าง	O-H สั่นแบบยืด
3090	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ $R_1R_2C=CH_2$
2970-2870	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ $CH_3, CH_2$
1640	ปานกลาง	C-C สั่นแบบยืดของ C=C ที่ไม่ conjugate
1480-1430	สูง	C-H สั่นแบบงอของ $CH_3, CH_2$
1035	สูง	C-O สั่นแบบยืดของ $3\beta$ - OH (equatorial)
875	สูง	C-H สั่นแบบงอออกนอกระนาบของ $=CH_2$

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.27 ปรากฏสัญญาณมีค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ดังนี้ 4.75 และ 4.57 (2H,  $J = 7.0$  Hz) เป็นเมทิลีนโปรตอนส่วนปลาย ( $\text{CH}_2=\text{C}-$ ), 3.13 (1H, t,  $J = 7.82$  Hz) เป็นเมทิลีนโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนที่มีไฮดรอกซีกรุป ( $-\text{CH}-\text{OH}$ ), 3.09 (1H, s, OH) และช่วง 0.72-2.00 แสดงถึงกลุ่ม  $\text{CH}_2$  และ  $\text{CH}_3$  ของไตรเทอร์ปีนอยด์

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.28 ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift  $\delta$  (ppm) ดังนี้ 14.7, 15.3, 16.0, 16.1, 18.3, 19.4, 20.8, 25.5, 27.4, 28.0, 29.7(2C), 30.5, 32.1, 34.3, 37.0, 37.1, 38.4, 38.7, 38.8, 40.7, 42.4, 46.9, 49.3, 50.5, 55.3, 56.3, 79.0, 109.7 และ 150.4

เมื่อเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH3 กับ Lupeol (Kamal R., Antina M. and Bhaduri A.P., 1992) ตำแหน่งคาร์บอนส่วนใหญ่จะตรงกันมีบางตำแหน่งที่ไม่ตรงกันคือ คาร์บอนตัวที่ 16, 17, 22 และ 28 ดังแสดงในตารางที่ 4.34

ตารางที่ 4.34 การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH3 กับสาร Lupeol

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABH3	Lupeol
1	38.7	38.7
2	27.4	27.4
3	79.0	78.8
4	38.8	38.8
5	55.3	55.2
6	18.3	18.3
7	34.3	34.2
8	40.7	40.8
9	50.5	50.4

ตารางที่ 4.34 (ต่อ) การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH3 กับสาร Lupeol

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABH3	Lupeol
10	37.2	37.1
11	20.8	20.9
12	25.5	25.1
13	38.3	38.0
14	42.4	42.8
15	27.9	27.4
16	32.1*	35.5
17	56.3*	42.9
18	49.3	48.2
19	46.9	47.9
20	150.4	150.6
21	29.7	29.8
22	37.0*	39.9
23	29.7	28.0
24	15.3	15.4
25	16.1	16.1
26	16.0	15.9
27	14.7	14.5
28	30.5*	18.0

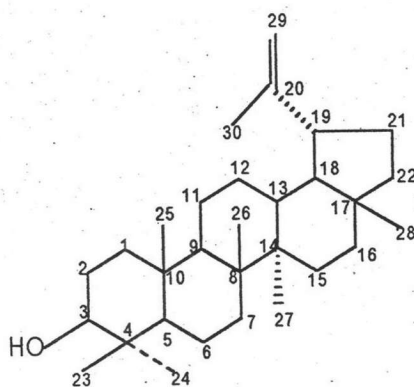
ตารางที่ 4.34 (ต่อ) การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH3 กับสาร Lupeol

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABH3	Lupeol
29	109.7	109.2
30	19.4	19.3

หมายเหตุ \* เป็นตำแหน่งที่ไม่ตรงกัน

จากข้อมูลทั้งหมด สาร ABH3 น่าจะเป็นสารประกอบในกลุ่ม Lupane triterpenoid แต่ยังไม่สามารถ  
 ตำแหน่งทั้งหมดที่แน่นอนไม่ได้ เนื่องจากขาดข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีชนิดอื่นอีก

สารในกลุ่ม Lupane นั้นค้นพบในพืชป่าชายเลนเป็นส่วนใหญ่ สาร Lupeol แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง  
 เซลมะเร็ง 5WA16 (The walker 256 intramolecular tumor system) ในหนูถีบจักร นอกจากนี้ยังใช้เป็นตัวยับยั้ง  
 การเกิดแผลหนองในกระเพาะของโรคกระเพาะอักเสบ และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย, ราและแมลง  
 ได้ดีอีกด้วย (วรินทร์ ขวศิริ, 2531)



รูปที่ 4.29 สูตรโครงสร้างของ Lupeol

#### 4.6.4 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร ABH4

สาร ABH4 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จุดหลอมเหลว 66-67 °C ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 4.30 พบการดูดกลืนที่ความถี่ ( $\text{cm}^{-1}$ ) ดังนี้ 2910, 2850, 1730-1700, 1690, 1630-1600, 1470, 1450-1180, 1000, 850 และ 702 ซึ่งสามารถแปลความหมายได้ดังตารางที่ 4.35

ตารางที่ 4.35 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH4

แถบการดูดกลืน		
( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3300	สูง	O-H สั่นแบบยืด
3112	สูง	C-H สั่นแบบยืด
1735	สูง	C=O ของเอสเทอร์
1640-1470	ปานกลาง	C=C สั่นแบบยืดของวงอะโรแมติก
1180-1042	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด OH สั่นแบบงอ
1000	ต่ำ	C-O สั่นแบบยืดของ OH ที่ต่อกับวง
850	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอของสารประกอบอะโรแมติก (โดยมีหมู่แทนที่เป็น para กัน)

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.31 ปรากฏสัญญาณมีค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ดังนี้ 7.63 (1H, d,  $J = 15.87$  Hz), 6.30 (1H, d,  $J = 15.87$  Hz) เป็นโปรตอนบนพันธะคู่ที่เป็นทราน (Trans) กัน, 7.40(2H, d,  $J = 8.25$  Hz), 6.84(2H, d,  $J = 8.85$  Hz) เป็นโปรตอนทั้งสี่ในวงอะโรแมติกซึ่งมีหมู่แทนที่เป็น para กันโดยมีหมู่แทนที่ที่ต่างกัน จึงทำให้ค่า coupling constant ไม่เท่ากัน 5.47(1H,OH), 4.18 (2H, t,  $J = 6.27$  Hz) เป็นหมู่เมทิลที่เกาะกับออกซิเจน ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ) ส่วน 1.24( $\text{CH}_2$ ), 0.85 (3H, t,  $\text{CH}_3$ ) เป็นส่วนของโปรตอนในคาร์บอนโซ่ตรง



คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.32 ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift  $\delta$  (ppm) ดังนี้ 167.6(CO-O), 157.6(C-OH), 144.3(CH), 129.9(CH), 127.3(C), 115.8, 115.7(2CH), 64.7(CH-O), และช่วง 31.9- 22.6(คาร์บอนโซ่ยาว) และ 14.1( $\text{CH}_3$ )

DEPT-135 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.33 ปรากฏสัญญาณเมทิลคาร์บอน ( $-\text{CH}=\text{}$ ) และ เมทิลคาร์บอน ( $-\text{CH}_3$ ) ด้านบน (up phase) 4 สัญญาณคือ ที่ chemical shift  $\delta$  (ppm) 144.3, 129.9, 115.8 และ 14.1 และสัญญาณด้านล่าง (down phase) ของเมทิลีนคาร์บอน ( $-\text{CH}_2-$ ) คือ 31.9, 29.4, 29.3, 28.8, 26.0 และ 22.7 เป็นเมทิลีนคาร์บอนของคาร์บอนโซ่ยาว (long chain hydrocarbon)

DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.33 ปรากฏสัญญาณเมทิล 3 สัญญาณ คือที่ 144.3, 129.9 และ 115.8 เมื่อเปรียบเทียบกับ DEPT-135 แล้วทำให้ทราบว่า  $-\text{CH}_3$  1 หมู่ ที่  $\delta$ , (ppm) 14.1 ที่เหลือเป็น  $-\text{CH}=\text{}$  3 สัญญาณ

เมื่อนำข้อมูลของ DEPT-135 และ DEPT-90 ไปเปรียบเทียบกับคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) ทำให้ได้ว่า ควอเทอร์นารีคาร์บอนมี 3 สัญญาณ โดยปรากฏสัญญาณที่  $\delta$  (ppm) 167.6, 157.6 และ 127.3

HMQC Inverse Probe Spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร ABH4 ดังรูปที่ 4.34 ซึ่งความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของคาร์บอนและโปรตอนของสาร ABH4 แสดงดังตารางที่ 4.36

ตารางที่ 4.36 ความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของคาร์บอนและโปรตอนของสาร ABH4

ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ		ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ	
โปรตอน	จำนวนโปรตอน	คาร์บอน-13	
7.63	1	144.3	
7.40	2	129.9 (2C)	
6.84	2	115.8 (2C)	
6.30	1	115.7	
4.18	2	64.7	
0.85	3	14.1	

จากตารางที่ 4.36 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอนและโปรตอน

C-H ของ สาร ABH4 สามารถแปลความหมายได้คือ

- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 144.3 กับ 7.63 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอน
- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 129.9(2C) กับ 7.40(2H) และ 115.8(2C) กับ 6.84(2H) เป็นหมู่

เมทิลคาร์บอนบนวงอะโรแมติก

- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 115.7 กับ 6.30 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอน
- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 64.7 กับ 4.18 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอนกับออกซิเจนของหมู่เอสเตอร์
- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 14.1 กับ 0.85 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอน

HMBC Inverse Probe Spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร ABH4 ดังรูปที่ 4.35 ซึ่งความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับคาร์บอนของสาร ABH4 แสดงดังตารางที่

ตารางที่ 4.37 ความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับ

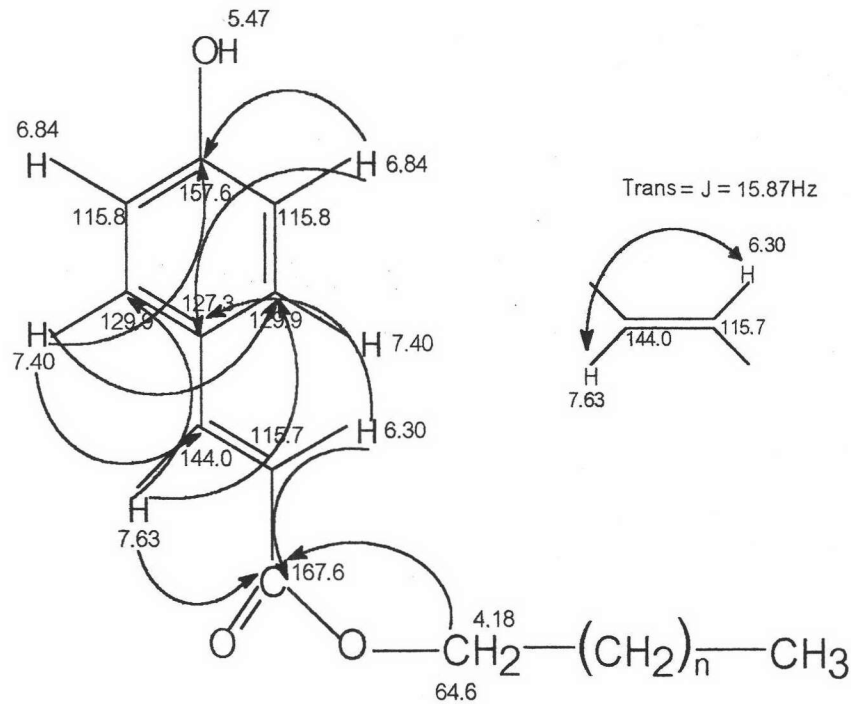
คาร์บอนของสาร ABH<sub>4</sub>

ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ โปรตอน	ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอน-13
7.63	167.6 (s), 129.9 (s)
7.40	157.6 (s), 129.9 (s), 144.3 (s)
6.84	157.6 (s), 127.3 (s)
6.30	167.6 (s), 127.3 (s)
4.18	167.6 (s)

จากตารางที่ 4.37 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับคาร์บอนของสาร ABH<sub>4</sub> สามารถแปลความหมายได้คือ

- สัญญาณโปรตอนที่ 7.63 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 144.3 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 167.6, 129.9
- สัญญาณโปรตอนที่ 7.40 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 129.9 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 157.6, 129.9, 144.3
- สัญญาณโปรตอนที่ 6.84 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 115.8 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 157.6, 127.3
- สัญญาณโปรตอนที่ 6.30 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 115.7 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 167.6, 127.3
- สัญญาณโปรตอนที่ 4.18 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 64.7 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 167.6

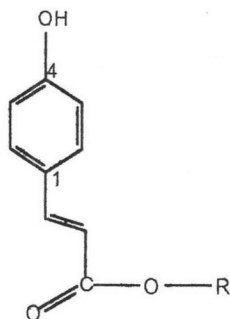
จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี, HMQC และ HMBC Inverse Probe Spectrum สามารถเสนอสูตรโครงสร้าง กำหนดตำแหน่งค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของโปรตอน, คาร์บอน-13 และแสดงความสัมพันธ์ของการ coupling ของสาร **ABH4** ได้ดังรูปที่ 4.36



รูปที่ 4.36 สูตรโครงสร้างและแสดงการ Coupling ของโปรตอนและคาร์บอนของสาร **ABH4**

สาร **ABH4** นี้สามารถเรียกชื่อทางเคมีว่า Alkyl trans-4-hydroxycinnamate ซึ่งสูตรโครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 4.37 แต่หมู่ R ไม่สามารถระบุจำนวนคาร์บอนที่แน่นอนได้ เพราะขาดข้อมูลของแมสสเปกตรัม

มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) คือ Hydroxycinnamate พบในไวน์องุ่นขาว (Stoyanova, L. and Goranov, N., 1996) นอกจากนี้สารอนุพันธ์ Methyl para-hydroxycinnamate มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดของเฟิร์นซึ่งแยกได้จากรากของ *Gleichenia japonica* (Hiraga, Y., et al., 1996)



Alkyl trans-4-hydroxycinnamate

รูปที่ 4.37 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Alky trans-4-hydroxycinnamate

#### 4.6.5 การพิสูจน์สูตรโครงสร้างของสาร ABH5

สาร ABH5 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 4.38 พบการดูดกลืนที่ความถี่ ( $\text{cm}^{-1}$ ) ดังนี้ 3420, 2920, 1690-1600, 1280, 1060, 780 ซึ่งสามารถแปลความหมายได้ดังตารางที่ 4.38

ตารางที่ 4.38 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH5

แถบการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3000	สูง	O-H สั่นแบบยืด
3112	สูง	C-H สั่นแบบยืดของสารประกอบอะโรเมติก
1690	สูง	C=O สั่นแบบงอของคีโตน
1642, 1460	สูง	C=C สั่นแบบยืดของสารประกอบอะโรเมติก
1280	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด
1060	ปานกลาง	O-H สั่นแบบงอนอกระนาบ
780	ปานกลาง	=C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของอะโรเมติก

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.39 ปรากฏสัญญาณมีค่า chemical shift  $\delta$  (ppm) ดังนี้ 8.01(1H, d,  $J = 7.63$  Hz), 7.58(1H, dd,  $J = 2.44, 2.45$  Hz), 7.40(1H, d,  $J = 0.92$  Hz) เป็นโปรตอนทั้งสี่ในวงอะโรเมติกที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง ortho, 5.00(1H, dd,  $J = 3.97, 3.98$  Hz) เป็นโปรตอนที่ติดกับคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซี (CH-OH) ส่วน 2.80(1H, m), 2.60(1H, m) เป็นของหมู่  $-\text{CH}_2$  และ 2.40 (1H, m), 2.20 (1H, m) เป็นของหมู่  $-\text{CH}_2$

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.40 ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ดังนี้ 197.4(C=O), 145.3 (C), 134.0(CH), 131.4(C), 128.3(CH), 127.1(CH), 127.0(CH), 67.8 (CH-O), 35.1( $\text{CH}_2$ ) และ 32.1 ( $\text{CH}_2$ )

จากอินฟราเรด, โปรตอน, คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) สาร ABH5 น่าจะมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$  และสามารถคำนวณหาจำนวนพันธะคู่ได้ 6 คู่

DEPT-135 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.41 ปรากฏสัญญาณเมทิลคาร์บอน ( $-\text{CH}_3$ ) และ เมทิลคาร์บอน ( $-\text{CH}_2$ ) ซึ่งอยู่ด้านบน (up phase) 5 สัญญาณคือ ที่ chemical shift

$\delta$  (ppm) 134.0, 128.3, 127.1, 127.0 และ 67.8 และสัญญาณด้านล่าง (down phase) ของเมทิลีนคาร์บอน ( $-\text{CH}_2-$ ) คือ 35.1 และ 32.1

DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) รูปที่ 4.41 ปรากฏสัญญาณเมทิลีนคาร์บอน 5 สัญญาณ คือที่ 134.0, 128.3, 127.1, 127.0 และ 67.8 เมื่อเปรียบเทียบกับ DEPT-135 แล้วทำให้ทราบว่า มีหมู่  $-\text{CH}_2-$  2 หมู่ที่ ( $\delta$ , ppm) 35.1 และ 32.1 มีหมู่  $-\text{CH}=\text{C}$  5 หมู่ที่ ( $\delta$ , ppm) 134.0, 128.3, 127.1, 127.0 และ 67.8 และไม่มีหมู่  $-\text{CH}_3$

เมื่อนำข้อมูลของ DEPT-135 และ DEPT-90 ไปเปรียบเทียบกับคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{CDCl}_3$ ) ทำให้ได้ว่า ควอเทอร์นารีคาร์บอนมี 3 สัญญาณ โดยปรากฏสัญญาณที่ ( $\delta$ , ppm) 197.4, 145.3 และ 131.1

HMQC Inverse Probe Spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร ABH5 ดังรูปที่ 4.42 ซึ่งความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของคาร์บอนและโปรตอนของสาร ABH5 แสดงดังตารางที่ 4.39

**ตารางที่ 4.39** ความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอนและโปรตอนของสาร ABH5

ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ		ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ
โปรตอน	จำนวนโปรตอน	คาร์บอน-13
8.01	1	127.1
7.58	1	134.0
7.57	1	127.0
7.40	1	128.3
5.00	1	67.8
2.60, 2.88	2	35.1
2.20, 2.40	2	32.1

จากตารางที่ 4.39 แสดงความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอนและโปรตอน C-H ของ สาร ABH5 สามารถแปลความหมายได้คือ

- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 128.3 กับ 7.40 และ 134.07 กับ 7.58 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอนบน

วงอะโรแมติก

- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 127.0 กับ 7.57, 127.1 กับ 8.01 และ 67.8 กับ 5.00 เป็นหมู่

เมทิลคาร์บอนบนวงอะโรแมติก

- สัญญาณ C-H ( $\delta$ , ppm) ที่ 32.1 กับ 2.20, 2.40 และ 35.1 กับ 2.60, 2.88 เป็นหมู่เมทิลคาร์บอน

อยู่นอกวงอะโรแมติกที่ติดกับหมู่คาร์บอนิลและไฮดรอกซี

HMBC Inverse Probe Spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร ABH5 ดังรูปที่ 4.43 ซึ่งความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับคาร์บอนของสาร ABH5 แสดงดังตารางที่ 4.40

ตารางที่ 4.40 ความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับ

คาร์บอนของสาร ABH5

ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ โปรตอน	ค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอน-13
8.01	197.4 (s), 145.3 (s), 134.4 (s)
7.58	145.3 (s), 131.4 (w), 128.3 (s)
7.57	145.3 (s), 131.4 (s), 128.3 (w)
7.40	145.3 (w), 134.0 (s), 131.4 (s), 127.1 (s), 127.0 (s),
5.00	127.1 (s), 127.0 (s), 32.1 (s), 35.1 (s)
2.60, 2.88	197.4 (s), 67.8 (s), 32.1 (s)
2.40, 2.20	197.4 (s), 67.8 (s), 35.1 (s)

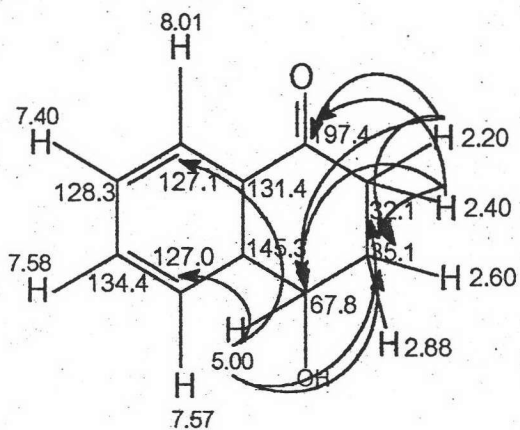
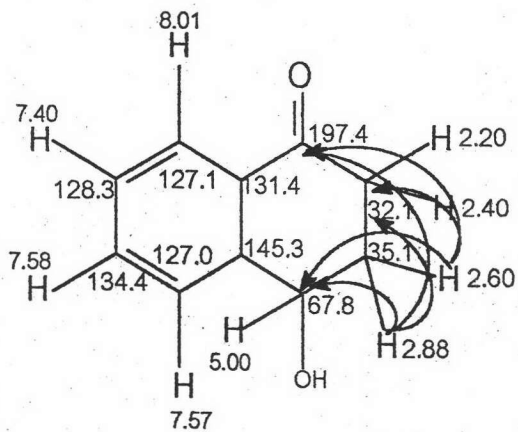
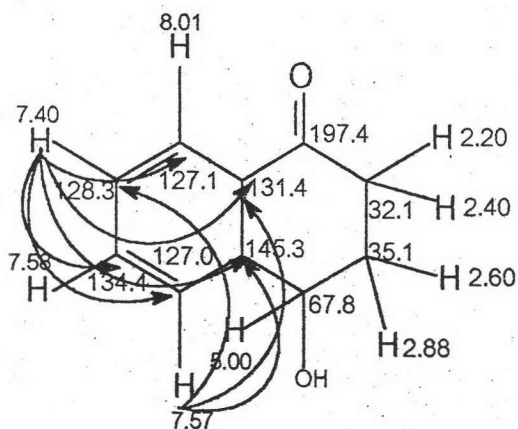
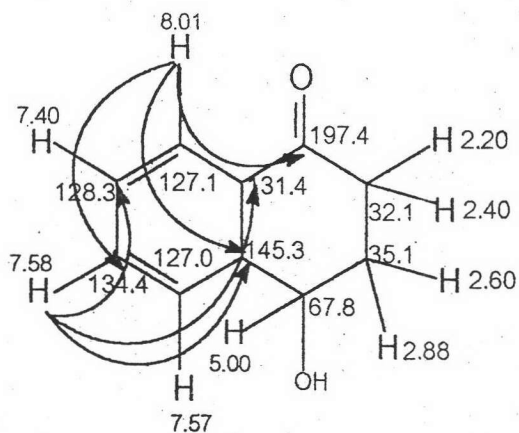


จากตารางที่ 4.40 แสดงความสัมพันธ์ของค่า Chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling)

ของโปรตอนกับคาร์บอนของสาร ABH5 สามารถแปลความหมายได้คือ

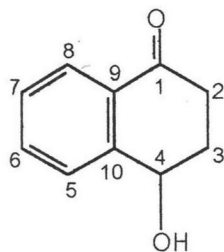
- สัญญาณโปรตอนที่ 8.01 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 127.1 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 197.4, 145.3, 134.4
- สัญญาณโปรตอนที่ 7.58 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 134.0 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 145.3, 131.4, 128.3
- สัญญาณโปรตอนที่ 7.57 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 126.9 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 145.3, 131.4, 128.3
- สัญญาณโปรตอนที่ 7.40 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 128.3 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 145.3, 134.0, 131.4, 127.1, 127.0
- สัญญาณโปรตอนที่ 5.00 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 67.8 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 127.1, 126.9, 32.1, 35.1
- สัญญาณโปรตอนที่ 2.60, 2.88 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 35.1 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 197.4, 67.8, 32.1
- สัญญาณโปรตอนที่ 2.20, 2.40 คู่กับคาร์บอนที่ ( $\delta$ , ppm) 32.1 เกิดการ coupling กับคาร์บอน-13 ที่ ( $\delta$ , ppm) 197.4, 67.8, 35.1

จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี HMQC และ HMBC Inverse Probe Spectrum สามารถเสนอสูตรโครงสร้าง กำหนดตำแหน่งค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของโปรตอน, คาร์บอน-13 และแสดงความสัมพันธ์ของการ coupling ของสาร ABH5 ได้ดังรูปที่ 4.44



รูปที่ 4.44 สูตรโครงสร้างและแสดงการ Coupling ของโปรตอนและคาร์บอนของสาร ABH5

สาร **ABH5** นี้สามารถเรียกชื่อทางเคมีว่า 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene หรือชื่อสามัญว่า 4-Hydroxy- $\alpha$ -tetralone มีรายงานว่าสารนี้เกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมของสารตั้งต้นคือ  $\alpha$ -Tetralone ซึ่งเปลี่ยนรูปมาจาก Tetralin ที่ฉีดเข้าไปในหนูเหือกเพศเมียและเกิดปฏิกิริยา Hydroxylation จนได้สารนี้ออกมา (Elliott, T. H. and Hanam, J., 1968) และสูตรโครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 4.45



รูปที่ 4.45 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene

#### 4.6.6 การตรวจสูตรโครงสร้างของสาร ABE1

สาร **ABE1** มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (75.20 มก.) จุดหลอมเหลว 285-286 °C ละลายได้ดีในเมทานอลร้อน

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) ของสาร **ABE1** รูปที่ 4.46 ของสาร **ABE1** แสดงการดูดกลืนคลื่นแสงที่มีความถี่ 3600-3200, 2940, 2870, 1470, 1380, 1080 และ 1030  $\text{cm}^{-1}$  ตามลำดับ และสามารถแปลความหมายได้ดังตารางที่ 4.41

ตารางที่ 4.41 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABE1

แถบการดูดกลืน ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3200	สูง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2940, 2880	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1640	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืดของอัลคีน
1465	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$
1385	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงออย่างมีสมมาตรของ $\text{CH}_3$
1075-1025	สูง	C-H สั่นแบบยืดและ O-H สั่นแบบงอ
890	ต่ำ	แอนโนเมอร์ริกโปรตอนที่เป็นเบต้าไอโซเมอร์

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{DMSO-d}_6$ ) ของสาร ABE1 รูปที่ 4.47 ปรากฏสัญญาณที่ chemical shift 0.65-2.0 ppm แสดงถึงกลุ่ม  $\text{CH}_3$  และ  $\text{CH}_2$  ของสเตียรอยด์ นอกจากนี้ที่ chemical shift 2.90-3.67 ppm แสดงโปรตอนของน้ำตาล ที่ chemical shift 4.23 ppm (1H, d,  $J = 8.2$  Hz) แสดงแอนโนเมอร์ริกโปรตอน (anomeric proton) ของ  $\beta$ -D-glucose และ แสดง olefinic proton ( $-\text{CH}=\text{C}$ ) ที่ chemical shift 5.33 ppm

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ( $\text{DMSO-d}_6$ ) ของสาร ABE1 รูปที่ 4.48 เมื่อเปรียบเทียบกับ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Stigmasterol (Wiboonpun, N., 1996) พบว่า สาร ABE1 ปรากฏสัญญาณที่คล้ายกับ Stigmasterol มาก คือที่ chemical shift 11.6-56.3 ppm แสดงถึงกลุ่ม  $\text{CH}_3$  และ  $\text{CH}_2$  ของสเตียรอยด์ ที่ chemical shift 140.4 และ 121.1 ppm แสดง  $-\text{CH}=\text{C}$  ที่ 138.0 และ 128.8 ppm แสดง  $-\text{CH}=\text{CH}-$  ดังตารางที่ 4.42

ตารางที่ 4.42 การเปรียบเทียบค่า Chemical shift ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Stigmasterol

กับสาร ABE1

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABE1	Stigmasterol
1	36.8	37.4
2	29.3	31.7
3	70.1	71.8
4	41.8	42.4
5	140.4	140.0
6	121.1	121.7
7	31.4	31.9
8	31.4	31.9
9	50.6	50.3
10	36.2	36.6
11	21.1	21.1
12	38.3	39.8
13	41.7	42.4
14	56.2	57.0

ตารางที่ 4.42 (ต่อ) การเปรียบเทียบค่า Chemical shift ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ

Stigmasterol กับสาร ABE1

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABE1	Stigmasterol
15	24.8	24.4
16	28.9	28.9
17	56.2	56.0
18	12.1	12.2
19	19.7	19.4
20	41.7	40.5
21	20.6	21.1
22	138.0	138.4
23	128.8	129.4
24	50.6	51.3
25	31.3	31.9
26	19.1	19.0
27	20.9	21.1
24	25.5	25.4
29	11.8	12.0

นอกจากนี้ยังปรากฏสัญญาณของคาร์บอนของน้ำตาลอีก 6 ตัว คือที่ Chemical shift 61.1, 70.1, 73.4, 76.7, 77.0 และ 100.8 ppm ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกับคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของน้ำตาลกลูโคส (นันทยา จันมาและพัชรินทร์ ตีร์ศมี, 2539) ได้ดังตารางที่ 4.43

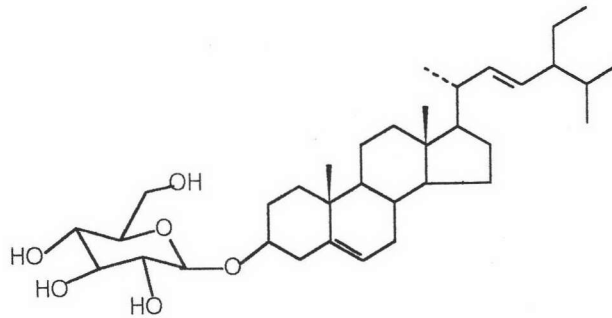
ตารางที่ 4.43 การเปรียบเทียบค่า Chemical shift ของคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของน้ำตาลกลูโคสกับสาร

#### ABE1

ตำแหน่งของคาร์บอน	ค่าเคมีคัลชิฟท์ (Chemical shift, ppm)	
	สาร ABE1	น้ำตาลกลูโคส
1	100.8	100.7
2	73.4	73.4
3	77.0	77.0
4	70.1	70.1
5	76.7	76.7
6	61.1	61.1

เมื่อพิจารณาแมสสเปกตรัมของ ABE1 รูปที่ 4.49 ไม่พบไอออนเชิงโมเลกุล ( $M^+$ ) เนื่องจากเกิดการสูญเสียน้ำตาลก่อน จึงพบแต่ส่วนของสเตียรอยด์ และการแตกตัวของสเตียรอยด์ จากแมสสเปกตรัมพบไอออนชิ้นส่วนที่  $m/z$  415 ซึ่งแสดงถึง  $(M+1)$  ของ Stigmasterol ที่สูญเสียน้ำตาลไป นอกจากนี้ยังพบไอออนชิ้นส่วนที่  $m/z$  ที่ 398, 396, 273, 255 และ 213 ซึ่งเป็นไอออนชิ้นส่วนที่เกิดจากการแตกตัวของ Stigmasterol

จากข้อมูลทั้งหมดสรุปได้ว่า สาร ABE1 เป็นสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ ชนิด Stigmasteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 4.50 มีรายงานว่า สเตียรอยด์ไกลโคไซด์ชนิดนี้สามารถออกฤทธิ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของร่างกาย (Kidder, G.W. and Kidder, D.W., 1962)



รูปที่ 4.50 โครงสร้างทางเคมีของ Stigmasteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

#### 4.7 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้สารสกัดเหกเซนและเอทิลอะซิเตท

##### 4.7.1 ผลของสารที่แยกได้จากสารสกัดเหกเซนและเอทิลอะซิเตทที่มีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาล

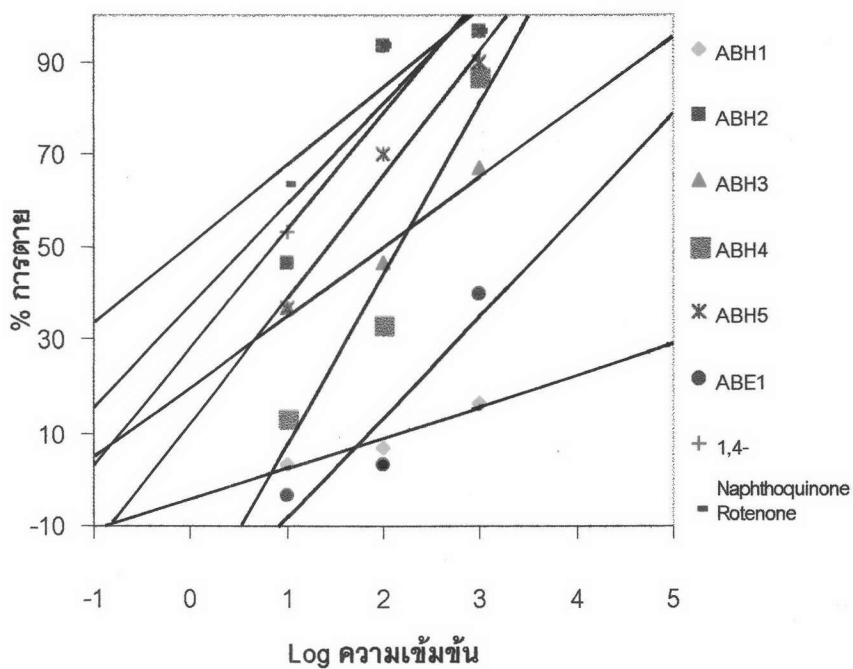
การทดลองนี้ใช้สารบริสุทธิ์ที่แยกจากสารสกัดจากเอทิลอะซิเตท และเหกเซน ที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1000  $\mu\text{g/ml}$  โดยในการทดลองแต่ละชุดจะมีสารบริสุทธิ์จำนวน 6 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่มีความเป็นพิษ ซึ่งมีชุดควบคุมน้ำทะเลเทียม และชุดควบคุมตัวทำลายด้วย นำค่าการตายที่ 6 ชั่วโมง ของแต่ละความเข้มข้นไปคำนวณหา  $\text{LC}_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมง ด้วยโปรแกรมโพรบิท ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.44, 4.45 และรูปที่ 4.50, 4.51 จากผลการทดลองพบสาร 3 ชนิด คือ 1,4-Naphthoquinone, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene และ Lupane triterpenoid มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสื่อน้ำตาลในระดับค่อนข้างสูง แต่ Alkyl trans-4-hydroxycinnamate มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสื่อน้ำตาลในระดับปานกลาง ส่วนสารที่เหลือไม่มีฤทธิ์กับโรสื่อน้ำตาลเลย เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิดแล้วพบว่าสารมาตรฐานมีฤทธิ์ต่อโรสื่อน้ำตาลสูงกว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ และจากการเปรียบเทียบสาร 1,4-Naphthoquinone ที่แยกได้จากพืชและที่ซื้อจากบริษัท Fluka พบว่าสารที่ซื้อจากบริษัทจะให้ค่า  $\text{LC}_{50}$  ต่ำกว่าสารที่แยกได้จากมะไฟนกลุ่ม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารที่ซื้อมาเป็นสารสังเคราะห์ซึ่งยังไม่บริสุทธิ์มากนักมีสารอื่นจากการสังเคราะห์เจือปนอยู่ จึงมีผลทำให้ค่า  $\text{LC}_{50}$  มีค่าค่อนข้างต่ำ



ตารางที่ 4.44 ค่า  $LC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทกับเฮกเซน

ที่มีต่อไรสน้ำตาล โดยใช้โปรแกรมโพรบิท

ชนิดของสาร	$LC_{50}$	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 %	$R^2$
	( $\mu\text{g/ml}$ )	( $\mu\text{g/ml}$ )	
ABH1	70,063.00	-	0.92
ABH2	10.56	4.52-17.51	0.80
ABH3	46.00	0.26-256.74	0.96
ABH4	166.74	0.00-%1647640000	0.94
ABH5	17.88	5.98-35.29	0.98
ABE1	1,215.42	0.00-1.701412E+33	0.86
1,4-Naphthoquinone	8.40	2.50-14.71	0.81
Rotenone	5.32	0.47-10.99	0.82

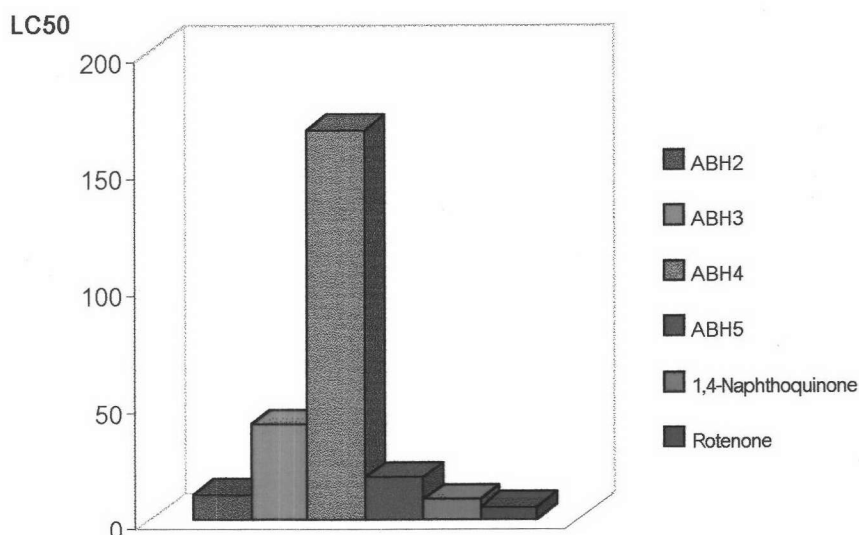


รูปที่ 4.51 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอจ (log) ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

สารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทจากมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐาน

ตารางที่ 4.45 ผลของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทที่มีต่อโรสน้ำตาล

สารตัวอย่าง	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	ระดับความเป็นพิษ
ABH1	70,063.36	-
ABH2	10.56	+++
ABH3	40.75	++
ABH4	166.74	+
ABH5	17.88	++
ABE1	1,215.42	-
1, 4-Naphthoquinone	8.39	+++
Rotenone	5.30	+++



รูปที่ 4.52 กราฟเปรียบเทียบค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเห็กเซนและเอทิลอะซิเตท ที่มีต่อโรส่น้ำตาล

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.9 สารสกัดเอทิลอะซิเตทและเห็กเซนของต้นมะไฟนกลุ่มแสดงความเป็นพิษต่อโรส่น้ำตาลในระดับรุนแรง โดยให้ค่า  $LC_{50}$  ค่อนข้างต่ำมากเท่ากับ 1.94 และ 7.96  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ แต่เมื่อแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดทั้ง 2 ชนิดออกมาและทดสอบความเป็นพิษกับโรส่น้ำตาลอีกครั้ง ความเป็นพิษที่แสดงออกมามีค่าต่ำกว่าการใช้สารสกัดทั้ง 2 ชนิด ซึ่งเป็นไปได้ว่าในสารสกัดนั้นประกอบด้วยสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์หลายตัว เมื่ออยู่รวมกันจะเสริมฤทธิ์กันและมีผลทำให้แสดงความเป็นพิษได้สูงขึ้น แต่เมื่อทำการแยกเป็นสารบริสุทธิ์แต่ละชนิดออกมาความเป็นพิษจะลดลง ดังนั้นสารสกัดจึงแสดงความเป็นพิษต่อโรส่น้ำตาลสูงกว่าสารบริสุทธิ์แต่ละชนิดที่แยกออกมาได้

เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 1,4-Naphthoquinone และ Rotenone แล้วพบว่า 1,4-Naphthoquinone ที่แยกได้จากต้นมะไฟนกลุ่มมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene มีฤทธิ์ต่ำกว่า 1,4-Naphthoquinone มาตรฐาน 2 เท่าและต่ำกว่า Rotenone มาตรฐาน 3 เท่า, Lupane triterpenoid มีฤทธิ์ต่ำกว่า 1,4-Naphthoquinone มาตรฐาน 5 เท่าและต่ำกว่า Rotenone

มาตรฐาน 8 เท่า, Alkyl trans-4-hydroxycinnamate มีฤทธิ์ต่ำกว่า 1,4-Naphthoquinone มาตรฐาน 19 เท่า และต่ำกว่า Rotenone มาตรฐาน 31 เท่า

#### 4.7.3 ผลของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S.aureus*, *S.typhi* และ *P.aeruginosa*

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสิ่งสกัดเอทิลอะซิเตทและเฮกเซน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เทียบกับยาด้านจุลชีพมาตรฐานคือ Ampicillin 10 ppm , Streptomycin 10 ppm , Chloramphenical 30 ppm และ Tetracycline 30 ppm พบว่า 1,4-Naphthoquinone และ 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ส่วน Alkyl trans-4-hydroxycinnamate มีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *S.typhi* และ *P.aeruginosa* ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สารนอกจากนี้ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดเลย ตารางผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้แสดงดังตารางที่ 4.46, 4.47 และ 4.48

ตารางที่ 4.46 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดโดยใช้ยาต้านจุลชีพมาตรฐาน

ยาต้านจุลชีพ	แบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่าน
		ศูนย์กลาง(มม.)
Ampicillin 10 ppm	<i>S.aureus</i>	30
	<i>S.typhi</i>	23
	<i>P.aeruginosa</i>	18
Streptomycin 10 ppm	<i>S.aureus</i>	22
	<i>S.typhi</i>	24
	<i>P.aeruginosa</i>	26
Chloramphenicol 30 ppm	<i>S.aureus</i>	36
	<i>S.typhi</i>	30
	<i>P.aeruginosa</i>	30
Tetracycline 30 ppm	<i>S.aureus</i>	17
	<i>S.typhi</i>	21
	<i>P.aeruginosa</i>	20

ตารางที่ 4.47 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดด้วยสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัด

เฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ppm)	เชื้อแบคทีเรีย		
		เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		
		<i>S.aureus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>P.aeruginosa</i>
ABH1	500	-	-	-
	250	-	-	-
	125	-	-	-
	75	-	-	-
ABH2	500	42.00	29.70	22.00
	250	31.67	28.00	15.07
	125	31.54	27.00	13.10
	75	30.67	26.00	11.02
ABH3	500	-	-	-
	250	-	-	-
	125	-	-	-
	75	-	-	-
ABH4	250	-	10.00	7.00
	125	-	-	-
	75	-	-	-

ตารางที่ 4.47 (ต่อ) ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดด้วยสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จาก

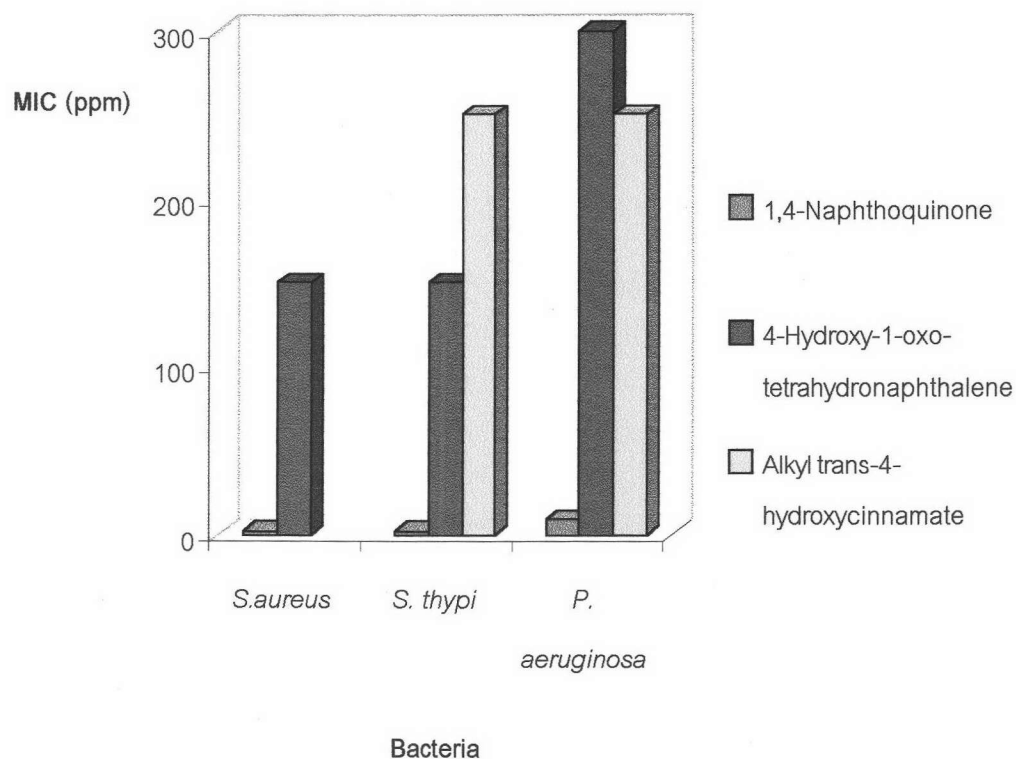
สารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ppm)	เชื้อแบคทีเรีย		
		เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		
		<i>S.aureus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>P.aeruginosa</i>
ABH5	300	10.33	10.00	8.00
	150	7.00	8.00	-
	75	-	-	-
ABE1	500	-	-	-
	250	-	-	-
	125	-	-	-
	75	-	-	-
1,4-Naphthoquinone	500	42.83	30.00	12.67
	250	33.67	26.00	12.67
	125	32.67	23.67	11.33
	75	31.17	21.67	10.00
Rotenone	500	7.33	8	-
	250	-	-	-
	125	-	-	-
	75	-	-	-

ตารางที่ 4.48 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดของสาร ABH2 และ 1,4-Naphthoquinone

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ppm)	เชื้อแบคทีเรีย		
		เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		
		<i>S.aureus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>P.aeruginosa</i>
ABH2	75.00	30.67	27.00	22.00
(สารที่แยกได้)	37.50	26.67	25.67	15.00
	18.75	24.33	24.00	9.50
	9.38	19.83	21.67	8.00
	4.69	10.11	15.12	-
	2.35	8.00	8.75	-
	1.18	-	-	-
	1,4-Naphthoquinone	75.00	31.17	21.67
(สารมาตรฐาน)	37.50	28.67	17.67	8.67
	18.75	25.33	13.67	8.67
	9.38	20.33	10.00	8.33
	4.69	15.07	9.70	7.89
	2.35	12.67	8.97	-
	1.18	-	-	-





รูปที่ 4.53 กราฟแสดงค่า MIC ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ที่มีต่อเชื้อ *S. aureus*, *S. typhi* และ *P. aeruginosa*

จากผลการทดลองตารางที่ 4.46, 4.47 เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากยาปฏิชีวนะและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้พบว่า สารบริสุทธิ์นั้นต้องให้ความเข้มข้นค่อนข้างสูงจึงจะสามารถแสดงฤทธิ์ได้ดี ในขณะที่ยาปฏิชีวนะมาตรฐานให้ความเข้มข้นต่ำ ๆ สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้