

บทที่ 4

สรุป

ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักบอดนา Sphenoclea zeylanica Gaertn. (Campanulaceae) พบว่าสิ่งสกัดของผักบอดนาในเอทานอลแสดงแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Pythium ultimum แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวโดยมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของรากและใบ 100% ที่อัตราความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ทำการแยกสิ่งสกัดออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ละลายในคลอโรฟอร์มและส่วนที่ละลายในน้ำ-เมทานอล ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สิ่งสกัดในคลอโรฟอร์มแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Pythium ultimum แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของใบข้าว 100% ที่อัตราความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากข้าว 100% ที่อัตราความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ส่วนสิ่งสกัดในน้ำ-เมทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Pythium ultimum, Rhizoctonia solani, Pyrenophora teres แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของกาบใบข้าว 26.74% ที่อัตราความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อเซลล์ูโลส 1.5 กรัม แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของต้นข้าว 100% ที่อัตราความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม นำสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์มมาแยกด้วยคลริกคอลัมน์โครมาโทกราฟีออกได้เป็น 9 ส่วนคือ SZ₁-SZ₉ พบว่า SZ₇ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งกาบใบและราก และแสดงความเป็นพิษกับปลามากที่สุด จึงนำไปทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ แยกได้สาร 6 ส่วน คือ S₁-S₆ พบว่าทุกส่วนที่แยกได้แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งใบและราก นำ S₄ ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากที่สุดไปแยกโดย preparative HPLC ได้ S_{4.1}-S_{4.3} พบว่า S_{4.1} แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุดคือ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของกาบใบข้าว 22.05% รากข้าว 95.15% ที่อัตราความเข้มข้น 0.0005 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม ในการสกัดวิธีที่ 2 นำสิ่งสกัดในเอทานอลมาสกัดด้วยเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน สิ่งสกัดเฮกเซนแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของกาบใบข้าว 53.47% รากข้าว 1.02% ที่อัตราความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อผงเซลล์ูโลส 1.5 กรัม สิ่งสกัดในไดคลอโรมีเทนแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของกาบใบและรากข้าว 100% ที่อัตราความ

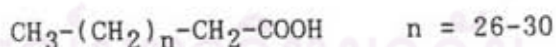
เข้มข้น 0.2 กรัมต่อผงเซลลูโลส 1.5 กรัม ทำการแยกสิ่งสกัสดเฮกเซนและสิ่งสกัสดคลอโร-
มีเทนโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมี

จากการหาองค์ประกอบทางเคมีของผักบอตนานำสิ่งสกัสดจากผักบอตนามาแยก
โดยวิธีทางโครมาโทกราฟี แล้วทำการแยกสารให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึก การทำโครมาโทกราฟี
ซ้ำ การใช้ HPLC และการใช้ถ่านกัมมันต์คอลัมน์ได้สารทั้งหมด 7 ชนิด คือ

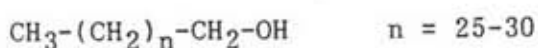
สาร ก มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวมันวาว ได้จาก SZ₁ มีค่า R_f 0.86 (80%
คลอโรฟอร์ม:เฮกเซน) จุดหลอมเหลว 64-65 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นของผสมแอลเคนโซ่
ตรง 7 ชนิดดังนี้คือ heptacosane 13.27% , octacosane 1.35% , nonacosane
49.20% , triacontane 3.74% , hentriacontane 36.52% , dotriacontane 1.49% ,
tritriacontane 4.41%



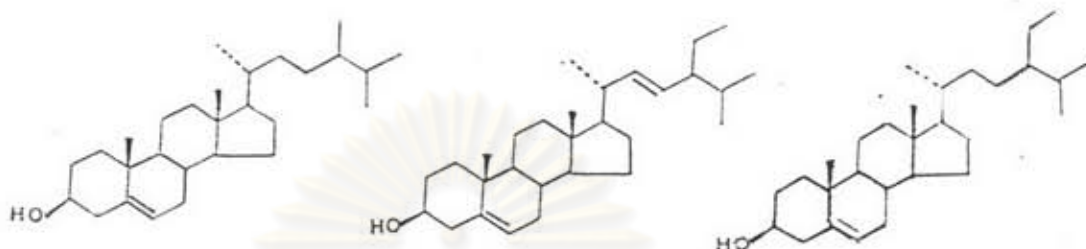
สาร ข มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว ได้จาก SZ₂ มีค่า R_f 0.73 (80% คลอ-
โรฟอร์ม:เฮกเซน) จุดหลอมเหลว 85-86 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นของผสมกรดคาร์-
บอกซิลิกโซ่ตรง 5 ชนิดดังนี้คือ nonacosanoic acid, triacontanoic acid,
hentriacontanoic acid, dotriacontanoic acid, tritriacontanoic acid



สาร ค มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวมันวาว ได้จาก SZ₄ มีค่า R_f 0.60
(คลอโรฟอร์ม) จุดหลอมเหลว 80-81 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นของผสมแอลกอฮอล์โซ่ตรง
6 ชนิดดังนี้คือ heptacosanol 0.1% , octacosanol 21.82% , nonacosanol
0.52% , triacontanol 72.74% , hentriacontanol 0.60% , dotriacontanol
4.18%



สาร ง มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว ได้จาก SZ₅ มีค่า R_f 0.35 (คลอโรฟอร์ม)
จุดหลอมเหลว 143-145 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นของผสมสเตอรอยด์ 3 ชนิดคือ
campesterol 5.40%, stigmasterol 52.33%, β -sitosterol 42.22%

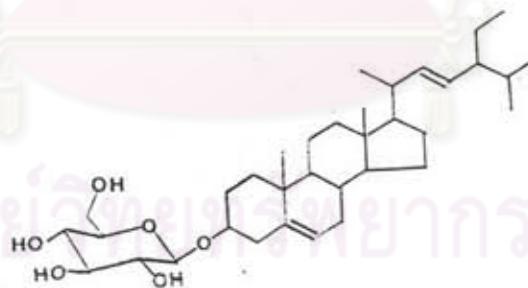
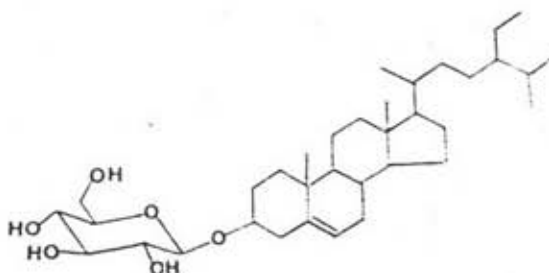


Campesterol

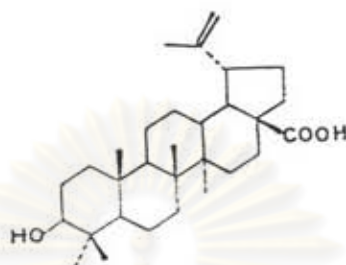
Stigmasterol

 β -sitosterol

สาร จ มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว ได้จาก S_{4.1} R_f 0.22 (10% เมทานอล:
ไดคลอโรมีเทน) มีจุดสลายตัวที่ 245 องศาเซลเซียส พบว่าเป็น β -sitosteryl-3-O- β -
D-glucopyranoside, stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside

 β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranosidestigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside

สาร ฉ มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว ได้จาก S_{4.1} มีค่า R_f เท่ากับ 0.81 (20% เมทานอล:คลอโรมีเทน) จุดหลอมเหลว 250 องศาเซลเซียส (จุดสลายตัว) พบว่าเป็น Betulinic acid ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



Betulinic acid

สาร ช มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว ได้จาก SZ₈ มีค่า R_f เท่ากับ 0.49 (20% เมทานอล:ไดคลอโรมีเทน จุดหลอมเหลว 200-202 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นสารประกอบ triterpenoids glycoside ยังไม่สามารถยืนยันสูตรโครงสร้างได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 5 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดผักปอดน่านในคลอโรฟอร์ม (การสกัดวิธีที่ 1)

สิ่งสกัดผักปอดน่านในคลอโรฟอร์ม

แยกโดยควิลคอลลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/ เฮกเซน, 1:1 คลอโรฟอร์ม:เมทานอล)

สาร ก เป็นของแข็งสีขาวมันวาว จาก SZ₁ จุดหลอมเหลว 64-65 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.86 (80% คลอโรฟอร์ม:เฮกเซน) คือของผสมของไฮโดรคาร์บอนระเหยง่าย C₂₇-C₃₃

สาร ข เป็นผงละเอียดสีขาว จาก SZ₂ จุดหลอมเหลว 85-86 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.73 (80% คลอโรฟอร์ม:เฮกเซน) คือของผสมของกรดไขมันระเหยง่าย C₂₉-C₃₃

สาร ค เป็นผงละเอียดสีขาวแวววาว จาก SZ₄ จุดหลอมเหลว 80-81°C มีค่า R_f เท่ากับ 0.60 (100% คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของแอลกอฮอล์ระเหยง่าย C₂₇-C₃₂

สาร ง เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จาก SZ₅ จุดหลอมเหลว 143-145 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.53 (100% คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของ campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol

สาร จ เป็นผงละเอียดสีขาว จาก SZ₆ จุดสลายตัว 247-250 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.22 (10% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของ β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranoside และ stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside

(ต่อ)

แผนภาพที่ 5 (ต่อ)

(ต่อ)

สาร ฉ เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จาก S_{4.1} จุดสลายตัว 250 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.81 (20% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือ Betulinic acid

สาร ช เป็นผงละเอียดสีขาวน้ำหนักเบา จาก SZ₈ จุดหลอมเหลว 200-202 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.49 (20% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือ สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ไกลโคไซด์ (ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 6 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดผักบอดนानในเฮกเซน (การสกัดวิธีที่ 2)

สิ่งสกัดผักบอดนานในเฮกเซน

แยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/ เฮกเซน, ๓คลอโรฟอร์ม, เมทานอล)

สาร ก เป็นของแข็งสีขาวมันวาว จาก SZ₁ จุดหลอมเหลว 64-65 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.86 (80% คลอโรฟอร์ม:เฮกเซน) คือของผสมของไตรคาร์บอนโรซ์ตรง C₂₇-C₃₃

สาร ข เป็นผงละเอียดสีขาว จาก SZ₂ จุดหลอมเหลว 85-86 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.73 (80% คลอโรฟอร์ม:เฮกเซน) คือของผสมของกรดโรซ์ตรง C₂₉-C₃₃

สาร ค เป็นผงละเอียดสีขาวแวววาว จาก SZ₄ จุดหลอมเหลว 80-81°C มีค่า R_f เท่ากับ 0.60 (100% คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของแอลกอฮอล์โรซ์ตรง C₂₇-C₃₂

สาร ง เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จาก SZ₅ จุดหลอมเหลว 143-145 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.53 (100% คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของ campesterol β -sitosterol และ stigmasterol

สาร จ เป็นผงละเอียดสีขาว จาก SZ₆ จุดสลายตัว 247-250 °C มีค่า R_f เท่ากับ 0.22 (10% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือของผสมของ β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranoside และ stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside

แผนภาพที่ 7 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดหีบอดน่านในไดคลอโรมีเทน (การสกัดวิธีที่ 2)

สิ่งสกัดหีบอดน่านในไดคลอโรมีเทน

แยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เมทานอล)

สาร จ เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว จาก S_{4.1} จุดสลายตัว 250 °C มีค่า R_F เท่ากับ 0.81 (20% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือ Betulinic acid

สาร ช เป็นผงละเอียดสีขาวน้ำหนักเบา จาก SZ₈ จุดหลอมเหลว 200-202 °C มีค่า R_F เท่ากับ 0.49 (20% เมทานอล:คลอโรฟอร์ม) คือ สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ไกลโคไซด์ (ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งการเจริญของต้นข้าวของสารที่แยกได้ พบว่าของผสมแอลกอฮอล์ตรง (สาร ค) และของผสมของ β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranoside และ stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวเล็กน้อย ส่วนของผสมไฮโดรคาร์บอนตรง (สาร ก) ของผสมกรดคาร์บอกซิลิกตรง (สาร ข) ของผสม campesterol β -sitosterol และ stigmasterol (สาร ง) Betulinic acid (สาร ฉ) สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ไกลโคไซด์ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง (สาร ช) ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวแต่อย่างไรก็ตาม Betulinic acid (สาร ฉ) สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ไกลโคไซด์ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้าง (สาร ช) แยกได้จากส่วนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพคือ SZ₇ และ SZ₈ ตามลำดับ แต่กลับไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งอาจจะเป็นเพราะ ในการทำสารให้บริสุทธิ์เป็นการแยกสารส่วนใหญ่มียู่ในส่วน (fraction) นั้น สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอาจมีอยู่น้อยจนไม่สามารถแยกออกมาได้ หรืออาจมีการสลายตัวของสารไประหว่างขั้นตอนต่าง ๆ การแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพอาจจะเป็นการทำงานร่วมกันของสารหลายตัว

จากเอกสารอ้างอิงพบว่าสารที่แยกได้คือ ของผสมไฮโดรคาร์บอนตรง ของผสมกรดคาร์บอกซิลิกตรง ของผสมแอลกอฮอล์ตรง ของผสม campesterol β -sitosterol และ stigmasterol แสดงฤทธิ์ต่อต้านการกินของแมลงกินฝ้าย ดังนั้นการที่ผักบอดนามีสารเหล่านี้เป็นส่วนใหญ่ (major) อาจทำให้มีการขยายพันธุ์ได้ง่ายมีความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืชสูง

การที่ผักบอดนามีสาร Betulinic acid เป็นองค์ประกอบ เราสามารถนำสารนี้มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เป็น 3-O-acetyl-Betulinic acid ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้ง skin tumor promoter นับว่าเป็นการนำผักบอดนาซึ่งเป็นวัชพืชนาข้าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้

ข้อควรระวังในการกำจัดวัชพืชนิดนี้ ไม่ควรถอนทิ้งหรือโยกกลงไปในนาข้าวเพราะว่าวัชพืชนิดนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว แม้ว่าจะไม่สามารถแยกสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพออกมาได้ แต่ก็พบว่าสิ่งสกัดจากผักบอดนามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวและแสดงความเป็นพิษกับปลา