

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการใช้ Column Chromatography แยก Crude extract ซึ่งได้จากการสกัดคั้นด้วยน้ำที่ตากแห้งและบดละเอียด ได้สารซึ่งหลังจากทำให้บริสุทธิ์แล้วหลายชนิด ประกอบด้วยสารที่มีจุดหลอมเหลว 79 - 80° (สาร ก.), 213 - 214° (สาร ข.), 136 - 137° (สาร ค.), 168 - 169° (สาร ง.), 120 - 121°, 166 - 168° และ 198 - 204° สำหรับสาร 3 ชนิดหลังซึ่งมีจุดหลอมเหลว 120 - 121°, 166 - 168° และ 198 - 204° ไม่สามารถจะวิเคราะห์ต่อไปได้ เนื่องจากมีปริมาณน้อยมาก

3.1 สาร ก., m.p. 79 - 80 - Ceryl alcohol

สาร ก. มีจุดหลอมเหลว 79 - 80° แยกออกมาจาก Crude extract ใน Fraction แรกที่ elute คอลัมน์ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารประกอบชนิดนี้ยังมีปนออกมาเป็นส่วนใหญ่ใน Fraction ที่สองซึ่งได้จากการ elute คอลัมน์ด้วยส่วนผสมของอีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ (1:19) Fraction นี้ได้นำไปทำ Column Chromatography ซ้ำอีก เพื่อแยกเอาสารที่มีจุดหลอมเหลว 79 - 80° และ 213 - 214° (สาร ข.) ออกจากกัน

สาร ก., m.p. 79 - 80°, นี้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกหลาย ๆ ครั้งในเย็นขึ้น ตรวจจุดหลอมเหลวทุกครั้งที่ได้ตกผลึกออกมา จนกระทั่งจุดหลอมเหลวคงที่ดังกล่าว Purity ของสารนี้ทดสอบด้วย IR. spectra ไม่พบว่ามี Absorption peaks ของสารอื่นปนอยู่เลย และยัง Confirm ด้วย TLC. ซึ่งให้ Spot เดียวใน Chromatoplate ที่ใช้ทดสอบ

ในการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสาร ก. ปรากฏว่าไม่พอกสี  
 ไบรอนีนในคาร์บอนเตตราคลอไรด์ และไม่ให้ Colour test กับ Lie-  
 bermann - Burchard Reaction ส่วน IR. spectrum แสดง Ab-  
 sorption peaks ที่ 3400 - 3200, และ 1050  $\text{cm}^{-1}$  (primary  
 alcoholic hydroxyl group), 2940 - 2830, 1465, 1330,  
 725 และ 715  $\text{cm}^{-1}$  (methyl and methylene vibration) ไม่มี  
 Absorption peaks ของ Olefinic linkage, branched chain  
 skeleton หรือ carbonyl group อยู่เลย จึงแสดงว่าสาร ก. นี้เป็น  
 พวก Saturated long chain alcohol จากการวิเคราะห์สาร ก.  
 พบว่ามี C = 81.72 %, H = 14.21 %

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงว่าสาร ก. ควรเป็น Saturated  
 long chain alcohol ชนิดหนึ่ง ซึ่ง Alcohols เหล่านี้พบ  
 ในพืชต่าง ๆ หลายชนิด และจากการตรวจสอบ Literatures  
 พบว่า Ceryl alcohol ( $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{O}$ ) นี้มีเปอร์เซ็นต์ของ  
 C = 81.60 % และ H = 14.22% ใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ที่ได้จากสาร  
 ก. มาก Ceryl alcohol, Cerotin, Hexacosyl alcohol หรือ  
 1 - Hexacosanol (m.p. 75-83°) พบในธรรมชาติ ส่วนมากอยู่ใน  
 wax ที่สกัดได้จากพืชหรือสัตว์ อาจจะอยู่เป็น Ester ของ Fatty acids  
 หรือเป็น Free alcohol เช่นใน Chinese insect wax, cocks - foot,  
 Nyc - glass<sup>9</sup>, ฯลฯ จึงนำสาร ก. ไปเตรียม Derivatives ต่าง ๆ  
 เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติกับ Derivatives ของ Ceryl alcohol ที่ทราบแล้ว

Acetyl derivative ของสาร ก. เตรียมโดยให้สาร ก. ทำ  
 ปฏิกิริยากับ Acetic Anhydride ใน Pyridine ได้สารมีลักษณะเป็น  
 Amorphous solid หลอมเหลวที่ 60.5 - 61° และแสดง IR. absorp-  
 tion peaks ของ Acetoxyl group ที่ 1735, 1240 และ 1040  $\text{cm}^{-1}$

ส่วน Region ที่เคยให้ Alcoholic hydroxyl group หายไป และ  
เมื่อนำ Acetyl derivative นี้ไป Hydrolyse ด้วย Methanolic  
potassium hydroxide ปรากฏว่าได้สาร ก. กลับขึ้นมาใหม่ จาก  
การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสาร ก. มี Alcoholic functional  
group อยู่ด้วย

Oxidation สาร ก. (m.p. 79 - 80°) ด้วยโซเดียมไดโคร-  
เมตในกรดกำมะถันเข้มข้น นำเอาผลิตภัณฑ์ไปทำ Fractional crystal-  
lization ได้สารแตกต่างกัน 2 ชนิด มีจุดหลอมเหลว 82.5° (สาร จ.)  
และ 61° (สารข.) ตามลำดับ

สาร จ. (m.p. 82.5°) แสดง IR. absorption peaks ที่  
1735 (C = O stretching vibration of ester), 730 และ  
720  $\text{cm}^{-1}$  [ $(-\text{CH}_2-)_n$  rocking mode,  $n > 4$ ] แต่ไม่ปรากฏ  
Absorptions ของ Olefinic bond หรือ Alcoholic hydroxyl  
group. ดังนั้นสาร จ. อาจเป็น Saturated long chain ester ซึ่ง  
เกิดขึ้นได้ใน Condition ที่ Oxidise สาร ก. โดย acid ที่เกิดจาก  
การ Oxidise นั้นเข้าร่วมเป็น Ester กับ Alcohol ที่มี 13,33  
จึงนำเอาสาร จ. ที่ได้ไป Hydrolyse และแยก Products ออกจากกัน  
โดยใช้ Preparative TLC. ได้ Alcohol และ Acid ตามลำดับ  
Alcohol นี้ปรากฏว่าเหมือนกับสาร ก. ทุกอย่าง (โดยทำ mixed  
melting point, เปรียบเทียบ Rf value และ IR. spectrum) ส่วน  
Acid นั้น identical กับสาร ก. (m.p. 31°) จากผลการทดลอง  
ดังกล่าวยืนยันว่าสาร จ. เป็น Ester ชนิดหนึ่งมี C = 62.00%, H =  
13.65% ซึ่ง identical กับ Ceryl cerotate ( $\text{C}_{52}\text{H}_{104}\text{O}_2$ ) m.p.  
31.5 - 32.5° พบมากใน Latex ของ *Artocarpus communis*  
และใน Pigments ของหัวหอม<sup>25</sup>

IR. spectrum ของสาร ข. ให้ Absorption peaks ที่  $1703\text{ cm}^{-1}$  (C=O stretching vibration of monobasic aliphatic acids which do not carry electron attracting substituents),  $1415\text{ cm}^{-1}$  (bending vibration of  $\text{CH}_2$  adjacent to carboxyl group),  $1300\text{ cm}^{-1}$  (coupled C-C and C-H in - plane deformation modes),  $730$  และ  $720\text{ cm}^{-1}$  [ $(-\text{CH}_2-)_n$  rocking mode,  $n > 4$ ] ไม่มี Absorptions ของ Cyclic linkage หรือ branched chain skeleton แสดงว่าสาร ข. เป็น Saturated monobasic aliphatic long chain acid มี C = 78.83 %, H = 12.96 % ซึ่ง identical กับ Cerotic acid จากผลของการวิเคราะห์น้ำหนักและคุณสมบัติที่กล่าวไว้ใน Literatures<sup>9,17,20,22</sup> ทำให้เชื่อได้ว่าสาร ข. เป็น Cerotic acid ( $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_2$ )

Cerotic acid, Cerinic acid, Phthioic acid หรือ Hexacosanoic acid (m.p.  $78-89^\circ$ ) พบมากใน oils และ Waxes ต่าง ๆ เช่นใน Bees wax, Chinese insect wax, montan wax<sup>9</sup>, ฯลฯ. Anderson และผู้ร่วมงาน<sup>4</sup> สามารถเตรียม Cerotic acid ได้ จากเชื้อวัณโรค (Mycobacterium tuberculosis และ Amide ของ Cerotic acid มีจุดหลอมเหลว  $105 - 107^\circ$ <sup>9</sup>)

ในการ Confirm ว่าสาร ข. คือ Cerotic acid กระทำโดยให้สาร ข. ทำปฏิกิริยากับ Thionyl chloride ( $\text{SOCl}_2$ ) แล้วอุ่น Product ที่ได้กับสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น ได้ Amide มีลักษณะเป็น Amorphous solid หลอมเหลวที่  $105 - 107^\circ$  แสดง IR. absorption peaks ของ Primary amide ที่  $3400$ ,  $3180$ ,  $1650$  และ  $1630\text{ cm}^{-1}$  มี C = 79.06 %, H = 13.30 % และ N = 3.49 % ซึ่งใกล้เคียงกับ Amide ของ Cerotic acid ( $\text{C}_{26}\text{H}_{53}\text{ON}$ ) (C = 78.92 %, H = 13.50 %, N = 3.54 %)

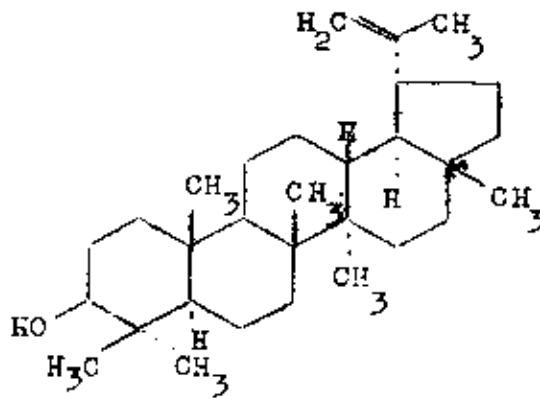


### 3.2 สาร ข., m.p. 213 - 214° - Lupeol

สารข. มีจุดหลอมเหลว 213 - 214° แยกออกมาจาก Crude extract ใน Fraction ที่สองซึ่งได้จากการ elute คอลัมน์ด้วยส่วนผสมของอีเทอร์ - ปีโตรเลียมอีเทอร์ (1:19) สารจาก Fraction นี้พบว่ามีสาร ก. และสาร ข. ปนกันอยู่ซึ่งแยกออกจากกันได้โดยทำ Column Chromatography ซ้ำอีก

สารข., m.p. 213 - 214°, นี้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกหลาย ๆ ครั้งในอะซีโตน - เมทิลแอลกอฮอล์ (1:4) ตรวจจุดหลอมเหลวทุกครั้งที่ตกผลึกออกมาจนได้จุดหลอมเหลวคงที่ ส่วน Purity ของสารนี้ทดสอบด้วย IR. spectra ไม่พบว่ามี Absorption peaks ของสารอื่นปนอยู่เลย และ TLC. ให้ Spot เดียวใน Chromatoplate ที่ใช้ทดสอบ สารประกอบนี้พอสีโบรมีนในคาร์บอนเตตราคลอไรด์ และให้ Colour Test กับ Liebermann - Darchard Reaction ส่วน IR. spectrum ของสาร ข. แสดง Absorption peaks ที่ 3400 - 3200 และ 1035  $\text{cm}^{-1}$  (3 $\beta$  - hydroxyl equatorial triterpenes), 3080, 1635 และ 885  $\text{cm}^{-1}$  (exomethylene group), doublet at 1380 and 1370  $\text{cm}^{-1}$  (gem-dimethyl group), 1180  $\text{cm}^{-1}$  (skeletal vibration of  $(\text{CH}_3)_2\text{C} <$  ), 1450 และ 1445  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{CH}_2-$  in cyclohexane and cyclopentane) แสดงว่าสาร ข. เป็น unsaturated cyclic triterpene alcohol มี C = 84.50 %. H = 11.89 %.

จากการเปรียบเทียบ IR. spectrum ของสาร ข. กับ Standard spectrum<sup>29</sup> ปรากฏว่า identical กับ IR. spectrum ของ Lupeol<sup>29(a)</sup> ( $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ), (v), พบประการ Lupeol มี C = 84.44 %, H = 11.81 % ซึ่งใกล้เคียงกับสาร ข.



(V)

Lupeol or  $\beta$  - viscol ( m.p. 211 - 216° ) เป็นสารประกอบพวก Pentacyclic monohydric triterpene alcohol มี  $\beta$  - hydroxyl group ที่ C<sub>3</sub> (equatorial), มีทั้ง Cyclohexane และ Cyclopentane ring , Gem - dimethyl group ที่ C<sub>4</sub>, Angular methyl groups ที่ C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub> และ C<sub>17</sub> และ exomethylene group ที่ side chain Lupeol พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1889 จากเมล็ดของถั่ว Lupinus albus<sup>6</sup> ภายหลังพบว่ามันอยู่มากในพืชตระกูล<sup>15</sup> Sapotaceae, Rutaceae และ Leguminosae. Amcs และผู้ร่วมงาน เป็นผู้พิสูจน์สูตรของ Lupeol (V)

การทดลองเพื่อยืนยันว่าสาร ข. เป็น Lupeol จริงทำได้โดยเปรียบเทียบคุณสมบัติของ Derivatives ของสาร ข. กับ Derivatives ของ Lupeol ที่ทราบแล้ว

Acetyl derivative ของสาร ข. เตรียมได้โดยให้สาร ข. ทำปฏิกิริยากับ Acetic anhydride ใน Pyridine ได้สารซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม ใส หลอมเหลวที่ 217 - 218° และแสดง

IR. absorption peaks ของ Acetoxy group ( $C_3$  - equatorial) ที่ 1725, 1240 (Singlet) และ 1020  $cm^{-1}$  ไม่ปรากฏ absorption peaks ของ hydroxyl group มี C = 81.93 %, H = 11.27% ซึ่งใกล้เคียงกับ Acetyl derivative of lupeol ( $C_{32}H_{52}O_2$ ) (C = 81.99 %, H = 11.18 %) m.p. 214 - 218°

Benzoyl derivative ของสาร ข. เตรียมได้โดยให้สาร ข. ทำปฏิกิริยากับ Benzoyl chloride ใน pyridine ได้สารซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกรูป Prism สี มีจุดหลอมเหลว 254 - 256° แสดง IR. absorption peaks ของ Benzoyl group ที่ 1704, 1595, 1270 และ 1100 ไม่ปรากฏ absorption peaks ของ hydroxyl group มี C = 83.95 %, H = 10.12 % ซึ่งใกล้เคียงกับ Benzoyl derivative ของ Lupeol ( $C_{37}H_{54}O$ ) (C = 83.71 %, H = 10.25 %) m.p. 253-270°

### 3.3 สาร ค. m.p. 136 - 137° - $\beta$ -sitosterol.

สาร ค. มีจุดหลอมเหลว 136 - 137° แยกออกมาจาก Crude extract ใน Fraction ที่สามซึ่งได้จากการ elute คอลัมน์ด้วยส่วนผสมของอีเทอร์ - บีโตรีเลียมอีเทอร์ (1:9) สารจาก Fraction นี้พบว่า มีสาร ค. และสาร ง. ปนกันอยู่ซึ่งแยกออกจากกันได้โดยทำ Fractional crystallization ในคลอโรฟอร์มเมทิลแอลกอฮอล์ (1:6) ตรวจจุดหลอมเหลวทุกครั้งที่ได้ผลึกออกมา แยกได้สารซึ่งมีจุดหลอมเหลวคงที่แตกต่างกัน 2 ชนิด หลอมเหลวที่ 136 - 137° (สาร ค.) และ 168 - 169° (สาร ง.) ตามลำดับสารทั้งสองชนิดนี้มี Rf value เท่ากัน และ IR. spectrum คล้ายกันมากจากการทดลองเพื่อแยกสารทั้ง 2 ชนิดนี้ออกจากกันโดยวิธีต่าง ๆ เช่น TLC., Column chromatography และ Fractional Crystallization พบว่าวิธีหลังเป็นวิธีที่ดีที่สุด



ในการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสาร ค. ปรากฏว่าสาร ค. ฟอกสีโบรมีนในคาร์บอนเตตราคลอไรด์ แต่ไม่มีฟองแก๊สเกิดขึ้น และให้ Colour Test กับ Liebermann - Burchard Reaction ส่วน IR. spectrum แสดง Absorption peaks ที่ 3550 - 3200 และ 1050  $\text{cm}^{-1}$  ( $\beta$  - hydroxyl group), 3020, 1630, 835 และ 795  $\text{cm}^{-1}$  (trisubstituted ethylene), แสดงว่าสาร ค. เป็นสารประกอบพวก Unsaturated steroid compound มี C = 84.27 %, H = 11.68 %

สาร ค. ทำปฏิกิริยากับ Acetic anhydride ใน Pyridine ได้ Acetyl derivative มีลักษณะเป็นแผ่นใส หลอมเหลวที่ 127 - 128° แสดง IR. absorption peaks ของ Acetoxy group ( $\text{C}_3$ -equatorial) ที่ 1735, 1255 (singlet), และ 1030  $\text{cm}^{-1}$  มี C = 81.20 %, H = 11.25 % และเมื่อ hydrolyse ด้วย Methanolic potassium hydroxide solution จะได้สาร ค. กลับคืนมาใหม่ ส่วน Benzoyl derivative ของสาร ค. ได้จากการให้สาร ค. ทำปฏิกิริยากับ Benzoyl chloride ใน Pyridine หลอมเหลวที่ 145 - 146° ให้ Absorption peaks ของ Benzoyl group ที่ 3080 - 3020, 1705, 1592, 1578, 1265, 1100 และ 705  $\text{cm}^{-1}$  ไม่ปรากฏ Absorption peaks ของ Hydroxyl group มี C = 83.70 %, H = 10.45 %

จากการเปรียบเทียบ IR. spectra ของสาร ค. และ Derivatives กับของ Known steroid compounds (Commercial  $\beta$  - sitosterol) ปรากฏว่าเกือบ identical กัน ต่างกันตรง Absorption peak ที่ 980 - 950  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งปรากฏเป็น Doublet ใน Spectrum ของสาร ค. และ Derivatives แต่เป็น Singlet ใน Spectrum ของ

known steroid compounds ( $\beta$  - sitosterol และ Derivatives) จึงสันนิษฐานว่าสาร ค. อาจเป็น  $\beta$  - sitosterol ที่มี Traces of stigmasterol ซึ่งไม่สามารถจะแยกออกจากกันได้วิธีโดยวิธี Fractional crystallization ข้อสันนิษฐานอันนี้พิสูจน์ได้โดย

3.3.1 เปรียบเทียบ IR. spectrum ของสาร ค. กับของสาร ซึ่งได้จากการผสม Commercial  $\beta$  - sitosterol กับ Traces of commercial stigmasterol

3.3.2 เปรียบเทียบ IR. spectrum ของ Hydrogenation product ของสาร ค. (m.p. 144 - 146°) กับของ Hydrogenation product ของ Commercial  $\beta$  - sitosterol (144 - 146°)

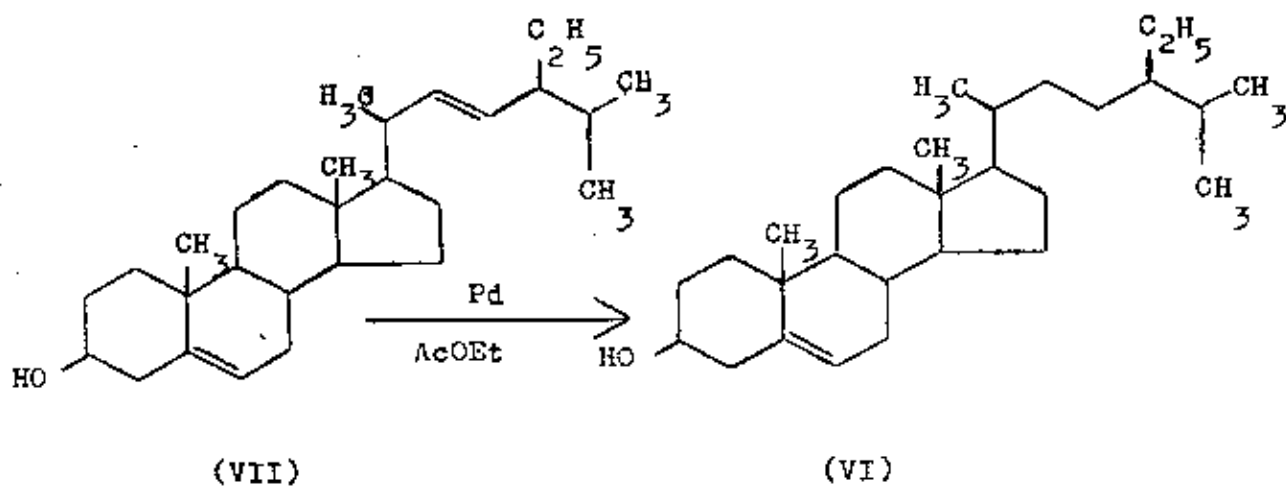
3.3.3 เปรียบเทียบ IR. spectrum ของ Oxidation product ของสาร ค. (m.p. 85 - 86°) โดย Oppenauer reagent กับ Oxidation product ของ Commercial  $\beta$  - sitosterol (84 - 86°) โดยวิธีเดียวกัน

ปรากฏว่า IR. spectra ของสารต่าง ๆ ดังกล่าวที่นำมาเปรียบเทียบกันนั้น identical กันทุกอย่าง

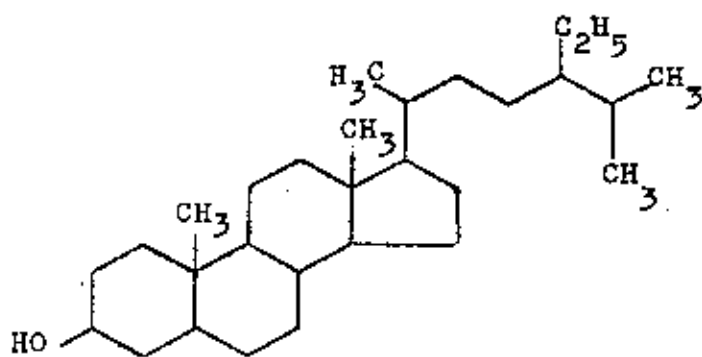
3.3.4 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เพอร์เซ็นต์ของ C และ H ของสาร ค. และ Derivatives กับ theoretical values ของ  $\beta$  - sitosterol และ Derivatives ปรากฏว่าใกล้เคียงกัน

จากการทดลองดังกล่าวจึงเชื่อได้ว่าสาร ค. คือ  $\beta$  - sitosterol ( $C_{29}H_{50}O$ ), (VI), ที่มี Traces of stigmasterol ( $C_{29}H_{48}O$ ), (VII).

$\beta$  - sitosterol, Stigmast - 5 - ene - 3 $\beta$  - ol หรือ 22, 23 - Dihydrostigmasterol ( m.p. 134 - 142° ) พบมากใน<sup>14</sup> Sugar cane wax, Tall oil, Cotton seed oil, ฯลฯ มักจะอยู่ปนกับ sitosterol ชนิดอื่น ๆ ซึ่งแยกออกจากกันยากมาก Dirscherl และ Naum<sup>10</sup> เป็นผู้พบสูตรของ  $\beta$  - sitosterol. Derstein และ Wallis<sup>7</sup> สามารถเตรียม  $\beta$  - sitosterol (VI) ได้จาก Stigmasterol (VII) โดยทำ Catalytic reduction of stigmasterol ด้วย Pd. ใน Ethylacetate ที่อุณหภูมิห้อง



เนื่องจากสารสองชนิดนี้มี Structure ต่างกันตรงตำแหน่งของ Double bond ที่  $C_{22} - C_{23}$  เท่านั้น เพราะฉะนั้นเมื่อนำสาร ค. ( $\beta$ - sitosterol + Traces of stigmasterol) มา hydrogenate ให้เต็มที่จึงได้ Product ที่ identical กับ Hydrogenation product of  $\beta$ - sitosterol ซึ่งมีชื่อว่า Stigmastanol, (VIII) m.p. 136 - 145° และเมื่อ Oxidise สาร ค. ด้วย Oppenauer reagent จะได้ Product ส่วนใหญ่เป็น Stigmast - 4 - one - 3 - one, (IX), m.p. 83 - 97° ปนกับ Traces of stigmast - 4,22 - diene - 3 - one, (X), m.p. 124 - 127° ซึ่งแยกออกจากกันได้ง่ายด้วยการตกผลึก หรือทำ Column Chromatography<sup>18</sup>



(VIII)

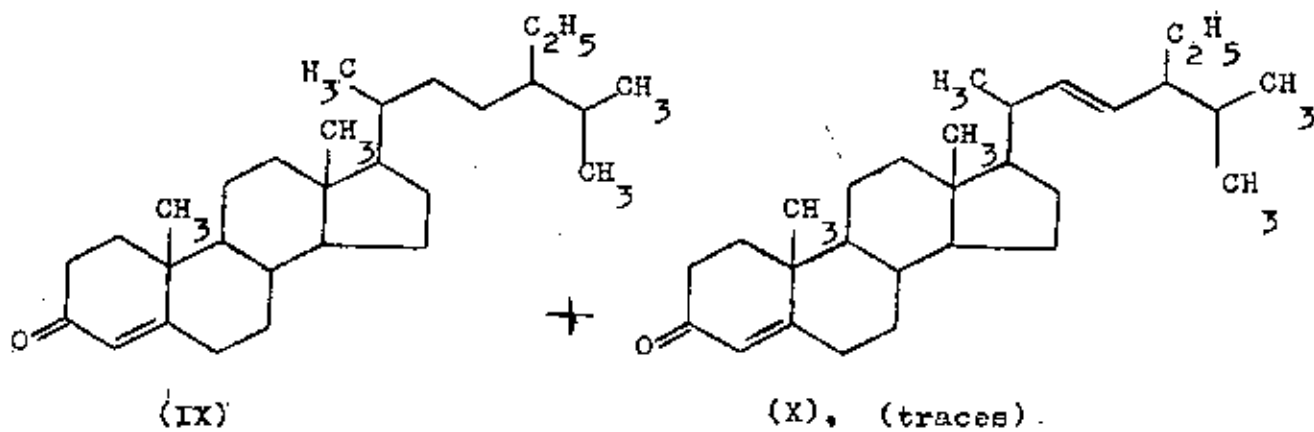


Hydrogenation

and R.

(VI) + Traces of (VII)

Oppenauer Oxidation



(IX)

(X), (traces).

3.4 สาร ง. m.p. 168 - 169° - Stigmasterol

สาร ง. มีจุดหลอมเหลว 168 - 169° แยกออกมาจาก Crude extract ใน Fraction ที่สามพร้อมกับสาร ค.

คุณสมบัติทางเคมีของสาร ง. เหมือน ๆ กับสาร ค. ส่วน IR. spectrum แตกต่างกันอยู่บ้าง แสดง Absorption peaks ที่ 3550 - 3200 และ 1045  $\text{cm}^{-1}$  ( $3\beta$ -hydroxyl group), 965  $\text{cm}^{-1}$  (trans - disubstituted ethylene), 830 และ 790  $\text{cm}^{-1}$  (trisubstituted ethylene) แสดงว่าสาร ง. เป็นสารประกอบพวก  $\Delta^5$ -unsaturated steroid<sup>19</sup> มี C = 84.50 %, H = 11.81 %

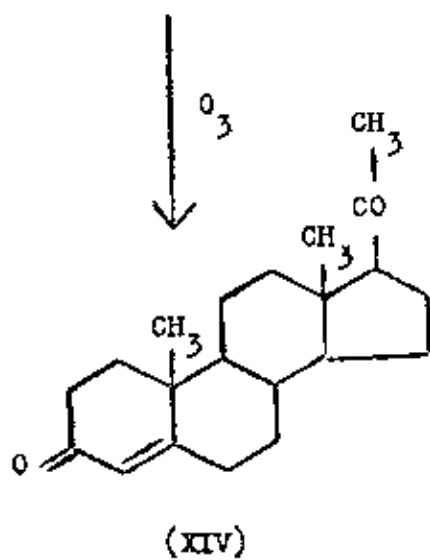
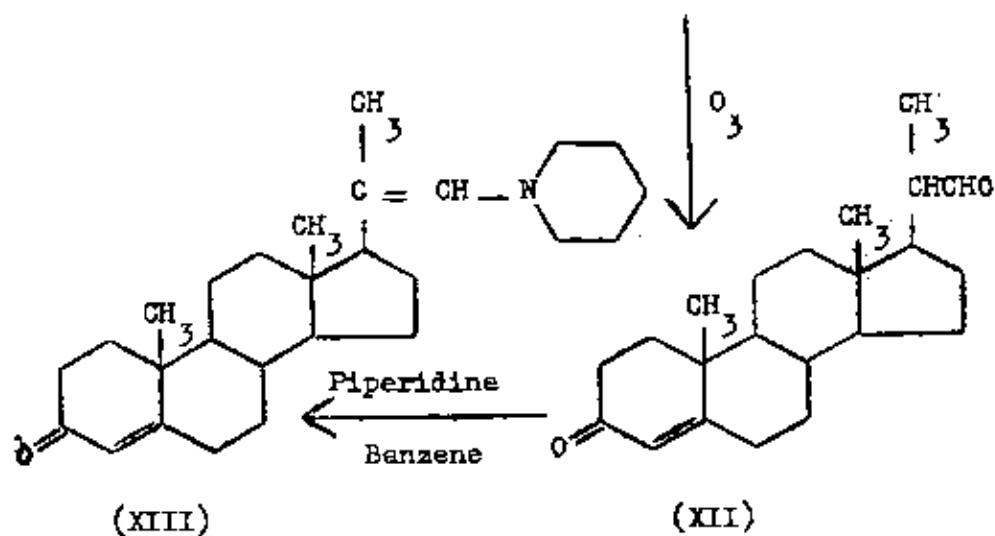
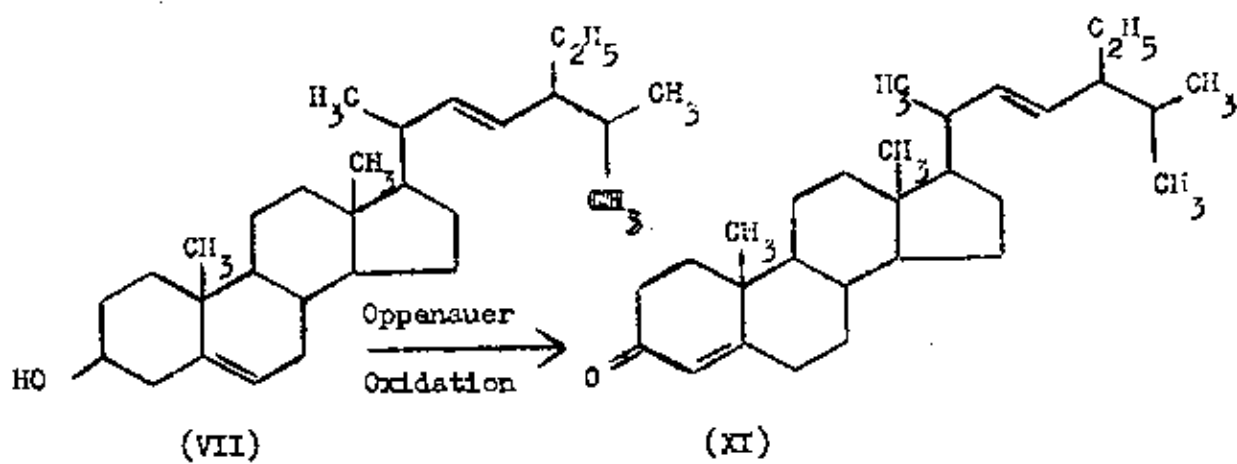
IR. spectrum ของสาร ง. เหมือนกับ Standard spectrum ของ Stigmasterol<sup>29(b)</sup> ( $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ ), (VII), ทุกประการ

Acetyl derivative ของสาร ง. มีลักษณะเป็นแผ่นหลอมเหลว ที่ 144 - 145° และแสดง IR. absorption peaks ของ Acetoxy group ( $\text{C}_3$ -equatorial) ที่ 1725, 1250 (singlet) และ 1030  $\text{cm}^{-1}$  มี C = 81.73 %, H = 10.98 % ส่วน Benzoyl derivative ของสาร ง. เป็นผลึกรูปเข็ม หลอมเหลวที่ 162 - 163° ใน IR. absorption peaks ของ Benzoyl group ที่ 3080 - 3020, 1705, 1592, 1579, 1265, 1100 และ 710  $\text{cm}^{-1}$  มี C = 83.78 %, H = 10.18 %

Stigmasterol หรือ Stigmast - 5, 22 - diene -  $3\beta$  - cl (m.p. 170°) พบครั้งแรกโดย Windaus และบรรยายไว้ในต้น Calabar bean (Phytostigma venenosum) ซึ่งต่อมาเมื่อเขาพิสูจน์สูตรได้แล้วจึงให้ชื่อว่า "Stigmasterol" ตามชื่อของต้นไม้อัน และพบว่ามันจะอยู่ร่วมกับ sitosterols เขาแยก Stigmasterol ออกจาก sitosterols โดยนำ

Acetates ของของผสมมาทำ Bromination แล้วแยกเอา Tetrabromide stigmasteryl acetate ออกจาก Dibromide sitosteryl acetate โดยการตกผลึก Commercial source ที่สำคัญของ Stigmasterol<sup>14</sup> คือ Soybean และ Sugar cane wax

ประโยชน์ที่สำคัญของ Stigmasterol คือใช้เป็น Starting<sup>16</sup> material ในการเตรียมพวก Steroid hormones Herr และ Heyl เป็นผู้หนึ่งที่พบวิธีเตรียม Progesterone จาก Stigmasterol โดยการ oxidise Stigmasterol (VII) ด้วย Cppenauer reagent ได้ Stigmasta-dienone (XI) ซึ่งเมื่อทำ Ozonolysis ต่อไปจะได้ Ketobisnoraldhyde (XII) นำ Aldehyde (XII) ที่ได้ไปทำ Azeotropic distillation กับ Piperidine ในเป็นชั้นจะได้ Enamine (XIII) ซึ่งเมื่อทำ Ozonolysis แล้วจะได้ Progesterone (XIV)





นอกจากการวิจัยเรื่องนี้ ทำให้ได้พบ Chemical Constituents  
 ในต้นกอมแดงน้ำ 4 ชนิด คือ Ceryl alcohol, Lupcol,  $\beta$ -sitosterol  
 Stigmasterol และเตรียมสารอีกหลายชนิดที่เป็น Derivatives  
 ของสารเหล่านี้ Chemical Constituent ชนิดหลังเป็นสารที่มีประโยชน์  
 มาก คือนอกจากจะใช้เตรียม Progesterone ซึ่งเป็น Hormone ที่สำคัญ  
 มากสำหรับสตรีที่มีครรภ์แล้ว จากผลการทดลองของ Wulzen และบุรุษงาน <sup>28,34</sup>  
 ยังพบว่า Stigmasterol เป็นสารที่ใช้แก้อาการชักกระตุก (Antistiffness) ได้

เป็นที่น่าเสียดายที่ไม่พบ Active Principles ที่คาดหมายไว้จาก  
 การทดลองนี้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเลือกใช้ solvent ในการสกัดสารออก  
 จากต้นกอมแดงน้ำไม่เหมาะสม หรืออาจเป็นเพราะ Active Principles  
 อยู่ในส่วนของต้นดอยแดงน้ำที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามยังได้  
 รับประโยชน์ทางด้านการศึกษา คือทำให้รู้จัก Chemical Constituents  
 ในต้นดอยแดงน้ำ และมีความรู้ขั้นพื้นฐานเป็นแนวทางที่จะได้ทำการวิจัยในส่วน  
 ของต้นดอยแดงน้ำที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ หรือเรื่องอื่น ๆ ต่อไป