



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของ
พืชสกุล *Agapetes*”

โดย

ดร. สุวพร เหลืองขมิ้น

เดือน ปี ที่เสร็จโครงการ

30 กรกฎาคม 2554

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *Agapetes*”

ผู้วิจัย

ดร. สุพรรณ เหลืองขมิ้น

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *Agapetes* เป็นโครงการวิจัย ที่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย ประเภททุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ จาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) ร่วมกับ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ) สัญญาเลขที่ MRG5180222 มีระยะเวลา 2 ปี ได้รับงบประมาณทั้งสิ้นจำนวน 480,000 บาท

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา วงศ์พรชัย นักวิจัยที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการวิจัย และการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น ขอขอบคุณ คุณวรวิทย์ ทองแท้ นักวิชาการ สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 16 กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ที่ให้ความอนุเคราะห์เก็บพืชประดัดดอยและสะเปาลมที่ใช้ในงานวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ของสารสกัด และสารบริสุทธิ์จากพืช 2 ชนิดนี้ สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) และ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้เอื้อเฟื้อ สถานที่ในด้านห้องปฏิบัติการ สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ต่าง ๆ เช่น เครื่อง NMR, GC-MS, LC-MS เป็นต้น รวมถึงความช่วยเหลือของนักศึกษาและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ที่ทำให้งานวิจัยนี้สามารถดำเนินไปได้อย่างราบรื่น และสำเร็จตามวัตถุประสงค์

สุพร เหลืองขมิ้น

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ MRG5180222
 ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *Agapetes*
 ชื่อนักวิจัย ดร. สุวพร เหลืองขมิ้น
 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 E-mail Address suwaporn@chiangmai.ac.th, Isuwaporn@gmail.com
 ระยะเวลาโครงการ 2 ปี (15 พฤษภาคม 2551 – 14 พฤษภาคม 2553)

ประทัดดอย (*Agapetes megacarpa* W.W. Smith) และ สะเภาลม (*Agapetes hosseana* Diels) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้าน พบได้ในภาคเหนือของประเทศไทย เมื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจาก กิ่ง เหง้า และ ใบ ของพืชทั้งสองชนิด พบว่า มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และ มีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งปอด เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด โดยการแยกและทำให้บริสุทธิ์ ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี พบสารองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ 20 ชนิด เป็นสารประเภทเพนตะไซคลิกไตรเทอร์พีน 14 ชนิด มี 7 ชนิด พบในสารสกัดของพืชทั้งสองชนิด ได้แก่ lupeol, friedelin, taraxerol, taraxerone, α -amyrin, β -amyrin และ 3 α -friedelanol มี 3 ชนิด พบในสารสกัดของประทัดดอย ได้แก่ lupeol acetate, lupenone และ 3-ketooleanane และอีก 4 ชนิด พบในสารสกัดของสะเภาลม ได้แก่ 5(6)-gluten-3 α -ol, α -amyrenonol, β -amyrenonol และ 3-acetyl oleanolic acid เป็นสารประเภทสเตอรอล 2 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol และ stigmast-4-en-3-one พบในสารสกัดของพืชทั้งสองชนิด ส่วนสารอีก 4 ชนิด ได้แก่ *trans*-octadecyl ferulate และ 2,7-dihydroxyxanthone พบในสารสกัดของพืชทั้งสองชนิด isolariciresinol และ epicatechin พบในสารสกัดของสะเภาลม นอกจากนี้มีสารอีก 6 ชนิด ที่เป็นอนุพันธ์ของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดของพืช ได้แก่ lupeol benzoate, lupeol cinnamate, β -sitosterol benzoate, β -sitosterol cinnamate, 3-acetyl ursolic acid และ O-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีของ lupeol, β -sitosterol และ ส่วนสกัดย่อยของสารสกัดจากประทัดดอยและสะเภาลม โครงสร้างของสารทั้ง 26 ชนิด วิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้กับสารที่มีการรายงานไว้แล้ว สาร 3 ชนิด ได้แก่ O-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate, β -sitosterol benzoate และ β -sitosterol cinnamate เป็นสารใหม่ ส่วนสารอีก 23 ชนิด เป็นสารที่มีรายงานในพืชหลายชนิด แต่ไม่มีรายงานในพืชทั้งสองนี้ เมื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ พบว่า 2,7-dihydroxyxanthone, *trans*-octadecyl ferulate, epicatechin และ isolariciresinol มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีมาก ด้วยค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 0.68 – 5.49 μ g/ml สาร β -sitosterol แสดงความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ด้วยค่า IC₅₀ 6.73 μ g/ml ในขณะที่ β -sitosterol benzoate แสดงความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย นอกจากนี้พบว่า β -sitosterol มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้สูง ด้วยค่า IC₅₀ 0.77 μ g/ml และ ฤทธิ์

ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปอด (A546) ได้ปานกลาง ในขณะที่ sitosterol benzoate มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) และ เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้สูง ด้วยค่า IC_{50} 3.88 และ $1.20 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สาร β -sitosterol cinnamate มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} $7.90 \mu\text{g/ml}$ สาร lupeol แสดงความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้เล็กน้อย และ มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งชนิดนี้ ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} $12.30 \mu\text{g/ml}$ นอกจากนี้พบว่า lupeol มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งมะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้สูงถึงปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} 4.56 และ $5.39 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สาร lupeol benzoate มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} $5.33 \mu\text{g/ml}$ ในขณะที่ lupeol cinnamate มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} $12.30 \mu\text{g/ml}$ สาร epicatechin and *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้สูง ด้วยค่า IC_{50} 1.18 และ $3.90 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ในขณะที่ isolariciresinol มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งชนิดนี้ได้เล็กน้อย

คำหลัก ประทัดดอย (*Agapetes megacarpar*), สะเกาหลม (*Agapetes hosseana*), ไตรเทอร์ปีนอยด์, ความเป็นพิษ, ต้านออกซิเดชัน, การยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์

Abstract

Project Code	MRG5180222
Project Title	Chemical Constituents and Biological Activity of <i>Agapetes</i> Species
Investigator	Dr. Suwaporn Luangkamin Department of Chemistry , Faculty of Science, Chiangmai University
E-mail Address	suwaporn@chiangmai.ac.th , lsuwaporn@gmail.com
Project Period	2 years (15 May 2008 – 14 May 2010)

Agapetes megacarpa W.W. Smith (Prathat Doi) and *Agapetes hosseana* Diels (Saphao lom) are distributed in the North of Thailand. Both plants have been used in traditional medicine. The evaluation of biological activities of the extracts from twigs, rhizomes and leaves of these plants showed antioxidant effects and cytotoxicity against breast and lung cancer cells. Chemical constituent investigation of these extracts utilizing chromatographic separation and purification afforded twenty identified compounds. Seven pentacyclic triterpenes: lupeol, friedelin, taraxerol, taraxerone, α -amyrin, β -amyrin, 3 α -friedelanol were obtained from the extracts of both plants while three triterpenes: lupeol acetate, lupenone, 3-ketooleanane and four triterpenes: 5(6)-gluten-3 α -ol, α -amyrenonol, β -amyrenonol, 3-acetyl oleanolic acid were isolated from the extracts of *A. megacarpa* and *A. hosseana*, respectively. Two sterols: β -sitosterol, stigmast-4-en-3-one, including, *trans*-octadecyl ferulate and 2,7-dihydroxyxanthone were also obtained from the extracts of both plants while isolariciresinol and epicatechin were isolated from the extracts of *A. hosseana*. In addition, six derivatives of constituents: lupeol benzoate, lupeol cinnamate, β -sitosterol benzoate, β -sitosterol cinnamate, 3-acetyl ursolic acid and *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate were also obtained from partial synthesis of lupeol, β -sitosterol and the fractions of both plants. The structures of these compounds were elucidated by spectroscopic techniques and by comparison of their spectroscopic data with those of the reported compounds. The three compounds, *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate, β -sitosterol benzoate and β -sitosterol cinnamate are new compounds. Although other twenty three compounds are known, they are reported for the first time in these plants. The testing for biological activities of pure compounds found that 2,7-dihydroxyxanthone, *trans*-octadecyl ferulate, epicatechin and isolariciresinol showed strong DPPH radical scavenging activity with IC₅₀ in the range of 0.68 – 5.49 μ g/ml. β -Sitosterol exhibited cytotoxic activity against cervical cancer cell (Hela) with IC₅₀ of 6.73 μ g/ml whereas β -sitosterol benzoate showed weak activity. In addition, β -sitosterol showed strong antiproliferation

against this cell line with IC_{50} of $0.77 \mu\text{g/ml}$ and moderately activities against breast (MCF-7) and lung (A549) cancer cell lines whereas β -sitosterol benzoate showed strong antiproliferation against both cervical (Hela) and breast (MCF-7) cancer cells with IC_{50} of 3.88 and $1.20 \mu\text{g/ml}$, respectively. β -Sitosterol cinnamate showed moderately antiproliferation against breast cancer cell (MCF-7) with IC_{50} of $7.90 \mu\text{g/ml}$. Lupeol exhibited weak cytotoxic activity against lung cancer cell (A549) and showed moderately antiproliferation against this cell with IC_{50} of $12.30 \mu\text{g/ml}$. In addition, lupeol showed strong antiproliferation against breast cancer cell (MCF-7) with IC_{50} of $4.56 \mu\text{g/ml}$ and moderately activities against cervical cancer cell (Hela) with IC_{50} of $5.39 \mu\text{g/ml}$. Lupeol benzoate showed moderately antiproliferation against breast cancer cell (MCF-7) with IC_{50} of $5.33 \mu\text{g/ml}$ whereas lupeol cinnamate showed moderately antiproliferation against lung cancer cell (A549) with IC_{50} of $12.30 \mu\text{g/ml}$. Epicatechin and *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate showed strong antiproliferation against breast cancer cell (MCF-7) with IC_{50} of 1.18 and $3.90 \mu\text{g/ml}$, respectively wherea, isolariciresinol showed weak activity.

Keywords

Agapetes megacarpar, *Agapetes hosseana*, Triterpenoids, Cytotoxicity, Antioxidant, Antiproliferation

บทสรุปผู้บริหาร

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด และ สารสกัดประกอบในสารสกัดจาก ใบ กิ่ง และ เหง้า ของพืชสกุล (*Agapetes*) ได้แก่ ประทัดดอย (*Agapetes megacarpar*) และ สะเภาลม (*Agapetes hosseana*)

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดจาก ประทัดดอย (*Agapetes megacarpar*) 9 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเหง้า ที่สกัดด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล (AMH-R, AME-R, AMN-R) สารสกัดหยาบจากกิ่ง ที่สกัดด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AME-T, AMN-T) สารสกัดหยาบจากใบที่สกัดด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล (AMH-L, AME-L, AMN-L) เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) กับ DPPH radical พบว่า สารสกัดจากกิ่ง เหง้า และใบของประทัดดอย ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล (AME-T, AME-R, AME-L, AMN-T, AMN-R และ AMN-L) ออกฤทธิ์ได้ดี มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 1.97 – 14.78 $\mu g/ml$ เมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxic) และเซลล์ปกติ ของสารสกัดหยาบจากกิ่งของ ประทัดดอย (AMN-T) พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอย (AMN-T) แสดงแนวโน้มความเป็นพิษ (potential toxic) ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มะเร็งกล่องเสียง (Hep2) และมะเร็งลำไส้ (HT29) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 36.71-68.03 $\mu g/ml$ ในขณะที่ไม่แสดงความเป็นพิษ (potentially non toxic) ต่อเซลล์เชื้อสายไฟโบรลาสต์ปกติจากปอดของคน (F1044) เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง เทียบกับ ยา cisplatin และ mitomycin C พบว่า สารสกัดหยาบจากเหง้าประทัดดอยทั้ง 3 ชนิด (AMH-R, AME-R, AMN-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดี มาก มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.89 – 4.09 $\mu g/ml$ และแสดงฤทธิ์ได้ดีกว่ายา cisplatin นอกจากนี้พบว่า สารสกัดหยาบจากเหง้า (AMN-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ได้ดี มีค่า IC_{50} 12.97 $\mu g/ml$ และดีกว่ายา cisplatin เมื่อนำสารสกัดประทัดดอย ทดสอบกับเซลล์ปกติจากปอด (F1044) พบว่า ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในขณะที่ยา cisplatin ออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยค่า IC_{50} 19.34 $\mu g/ml$ เมื่อพิจารณาดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ของสารต่อเซลล์ (selectivity index, SI) พบว่าสารสกัดประทัดดอยมีความจำเพาะในการออกฤทธิ์ต่อเซลล์เชื้อสายมะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ มีค่า SI อยู่ในช่วง 0.0002 – 0.0579 โดยสารสกัดประทัดดอย AMN-R มีผลต่อเซลล์ MCF-7 มากที่สุด (SI = 0.0131) เมื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) และเชื้อรา (antifungal) ของสารสกัดจากกิ่งและเหง้าประทัดดอย พบว่าสารสกัดทุกตัวไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อดังกล่าว

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดจากสะเภาลม (*Agapetes hosseana*) 8 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบ ชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-L) และ เมทานอล (AHM-L) สารสกัดหยาบจากกิ่ง ชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-T) เอทิลอะซิเตต (AHE-T) และ เมทานอล (AHM-T) สารสกัดหยาบจากเหง้า ชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-R) เอทิลอะซิเตต (AHE-R) และ เมทานอล (AHM-R) เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

(antioxidant) กับ DPPH radical พบว่า สารสกัดจากใบ กิ่ง และ เหง้า (AHM-L, AHM-T, AHM-R, AHE-T, AHE-R) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดี มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 2.86 – 6.69 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง พบว่า สารสกัดจากสะเกลาลม สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งได้น้อยกว่าสารสกัดจากประทัดดอย สารสกัดหยาบจากใบ (AHD-L) สารสกัดหยาบจากกิ่ง (AHD-T) และสารสกัดหยาบจากเหง้า (AHD-R, AHE-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) และมะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) ได้ในระดับปานกลาง และ สารสกัดหยาบจากกิ่ง (AHD-T) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ในระดับปานกลาง

ผลการศึกษาร่องรอยประกอบทางเคมีของสารสกัดจากประทัดดอย ได้แก่ สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตจากกิ่ง (AME-T) สารสกัดหยาบจากเหง้า ชั้นเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและ นอร์มอลบิวทานอล (AMH-R, AME-R, AMN-R) พบสารองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างได้ ทั้งหมด 14 ชนิด เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 10 ชนิด ได้แก่ lupeol acetate (1), lupeone (2), lupeol (3), friedelin (4), 3-ketooleanane (5), taraxerol (6), α -amyrin (7), β -amyrin (8), 3 α -friedelinol (12) และ taraxerone (13) สารประเภท sterols 2 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol (9) และ stigmast-4-en-3-one (15) สารประเภท xanthone 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (14) สารประเภท ferulate ester 1 ชนิด คือ *trans*-octadecyl ferulate (11) และสารอนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ 1 ชนิด ที่ได้จากปฏิกิริยา acetylation ของส่วนสกัดย่อย คือ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งน่าจะเกิดจากการเติมหมู่ acetyl ของสาร *trans*-octadecyl ferulate (11) สารองค์ประกอบทั้ง 15 ชนิด มีเพียง *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ที่เป็นสารใหม่ ไม่เคยมีรายงานในพืช หรือ จากปฏิกิริยาเคมี ส่วนสารอีก 14 ชนิด มีรายงานการพบในพืชหลายชนิด แต่ยังไม่มีการพบในพืชประทัดดอย

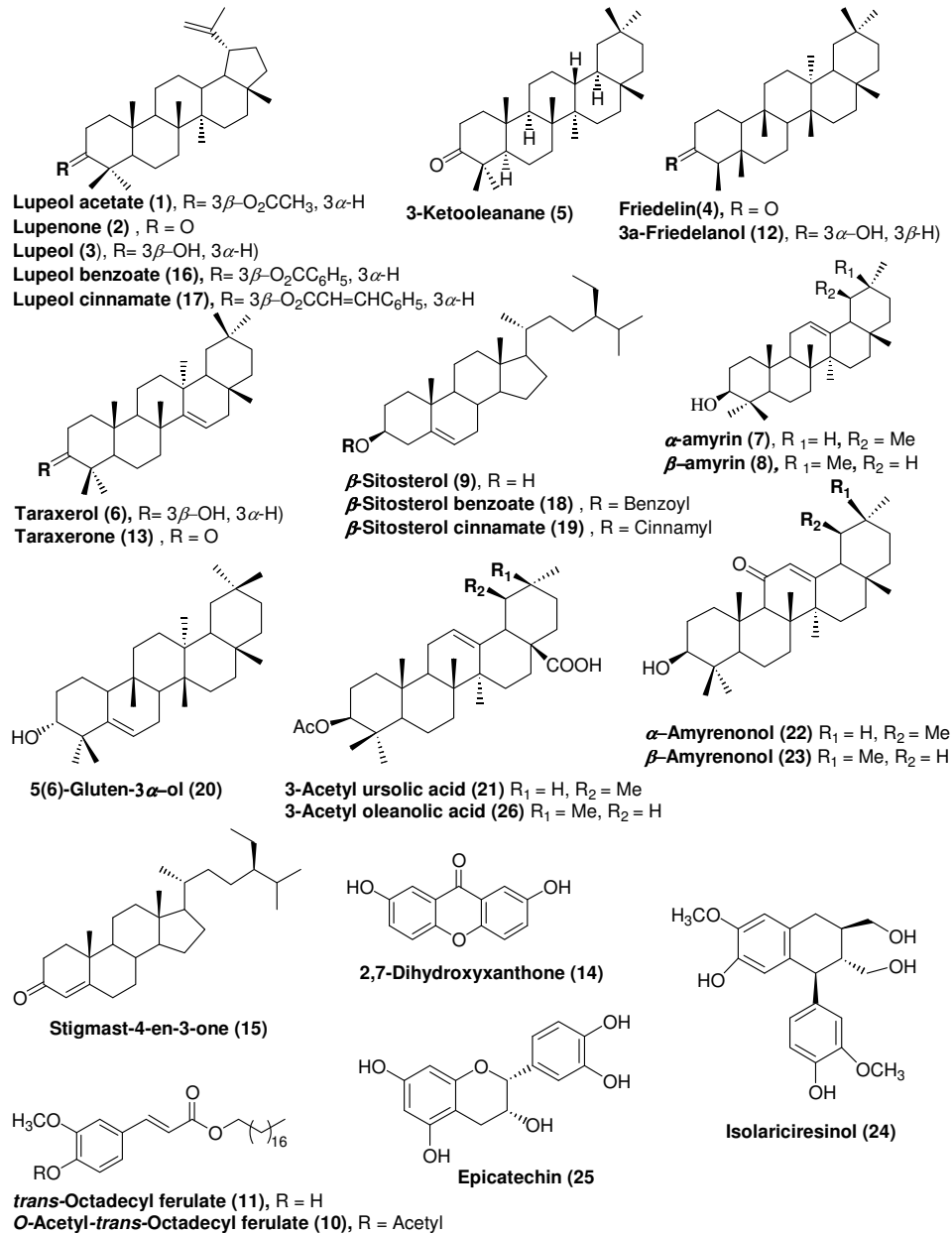
ผลการศึกษาร่องรอยประกอบทางเคมีของสารสกัดจากสะเกลาลม ทั้ง 8 ชนิด พบสารองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างได้ ทั้งหมด 19 ชนิด เป็นสารที่ซ้ำกับที่พบในสารสกัดจากประทัดดอย 12 ชนิด และพบใหม่อีก 7 ชนิด สารทั้งหมดที่พบ มีเพียง 17 ชนิด ที่เป็นสารองค์ประกอบในสารสกัดจากสะเกลาลม ซึ่งเป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 11 ชนิด ได้แก่ lupeol (3), friedelin (4), taraxerol (6), α -amyrin (7), β -amyrin (8), 3 α -friedelinol (12), taraxerone (13), 5(6)-gluten-3 α -ol (20), α -Amyrenonol (22), β -Amyrenonol (23) และ 3-acetyl oleanolic acid (26) สารประเภท sterols 2 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol (9) และ stigmast-4-en-3-one (15) สารประเภท xanthone 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (14) สารประเภท ferulate ester 1 ชนิด คือ *trans*-octadecyl ferulate (11) สารประเภท lignan 1 ชนิด คือ isolariciresinol (24) และสารประเภท proanthocyanidin 1 ชนิด คือ epicatechin (25) ส่วนสารอีก 2 ชนิด เป็นสารอนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ ที่ได้จากปฏิกิริยา acetylation ของส่วนสกัดย่อย ได้แก่ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งน่าจะเกิดจากการเติมหมู่ acetyl ของสาร *trans*-octadecyl ferulate) และ 3-acetyl ursolic acid (21) ซึ่งน่าจะเกิดจากการเติมหมู่ acetyl ของสาร ursolic acid สารองค์ประกอบทั้ง 19 ชนิด มีเพียง *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ที่เป็นสารใหม่ ไม่เคยมีรายงานในพืช หรือ จากปฏิกิริยาเคมี สารอีก 17 ชนิด มีรายงาน

การพบในพืชหลายชนิด แต่ยังไม่มียางานการพบในพืชสะเกลอม ส่วนสารอีก 1 ชนิด คือ β -sitosterol มีรายงานการพบในพืชสะเกลอม

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดของประทัดดอย และ สะเกลอม พบสาร lupeol (3) และ β -sitosterol (9) ในปริมาณมาก ดังนั้น จึงทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ ที่เป็นเอสเทอร์ของสารทั้งสอง โดยทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับ benzoic acid และ cinnamic acid ได้สาร 4 ชนิด คือ lupeol benzoate (16), lupeol cinnamate (17) β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19) คิดเป็น %yield เท่ากับ 31%, 37%, 30% และ 51% ตามลำดับ สารทั้ง 4 ชนิดนี้ เป็นสารใหม่ 2 ชนิด คือ β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19) ส่วน lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17) มีรายงานการพบในพืชหลายชนิด และจากปฏิกิริยาเคมี

จากผลการศึกษาองค์ประกอบในสารสกัดของประทัดดอยและสะเกลอม รวมถึงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ วิเคราะห์สารได้ทั้งหมด 26 ชนิด นำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลที่ได้พบว่า สาร phenolic compounds ได้แก่ *trans*-octadecyl ferulate (11), 2,7-dihydroxyxanthone (14) และ epicatechin (25) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดีมาก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.33, 0.68 และ 4.55 μ g/ml ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ วิตามินซี และ BHT พบว่า 2,7-dihydroxyxanthone (14) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับ วิตามินซี และสูงกว่า BHT เล็กน้อย สำหรับ isolariciresinol (24) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้เกือบดีมาก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.49 μ g/ml เมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxic) พบว่า สาร lupeol (3) ออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A-549) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 39.49 μ g/ml สาร β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 6.73 μ g/ml (16.26 μ M) สาร β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 30.46 μ g/ml เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง (anti-proliferation) พบว่าสาร β -sitosterol (9) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ดีมาก และดีกว่ายา etoposide และ cisplatin ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.77 μ g/ml (1.86 μ M) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.15 และ 6.15 μ g/ml (12.44 และ 14.85 μ M) สาร β -sitosterol benzoate (18) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก และดีกว่ายา cisplatin ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.20 μ g/ml (2.32 μ M) และมีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ดีมากเช่นกัน และดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.88 μ g/ml (7.49 μ M) สาร β -sitosterol cinnamate (19) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 7.90 μ g/ml (14.52 μ M) สาร lupeol (3) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.56 μ g/ml (10.70 μ M) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.39 μ g/ml (12.65 μ M) และมีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง แต่ดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 12.30 μ g/ml (28.87 μ M) สาร lupeol benzoate (16) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.33 μ g/ml (10.06 μ M) สาร lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง

ปอด (A549) ได้ปานกลาง และดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ $12.30 \mu g/ml$ ($22.12 \mu M$) สาร *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ $3.90 \mu g/ml$ ($7.99 \mu M$) สาร epicatechin (25) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมากด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ $1.18 \mu g/ml$ ($4.07 \mu M$) ในขณะที่สาร isolariciresinol (24) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 37.37 และ $48.61 \mu g/ml$ ตามลำดับ



โครงสร้างของสาร 26 ชนิด ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากประตูดอยและสะเกาลม
และที่สังเคราะห์เพิ่มเติม

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
Abstract	iv
บทสรุปผู้บริหาร	vi
สารบัญ	x
สารบัญรูป	xii
สารบัญตาราง	xv
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ระเบียบวิธีและขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ประทัดดอย (<i>Agapetes megacarpa</i> WW. Smith)	3
2.2 สะเภาลม (<i>Agapetes hosseana</i> Diels)	4
2.3 องค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล <i>Agapetes</i>	5
บทที่ 3 การแยกองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดประทัดดอย	
3.1 การเตรียมพืชประทัดดอย	7
3.2 การสกัดสารองค์ประกอบ	7
3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด	9
3.4 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากเหง้าประทัดดอย	18
3.5 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากกิ่งประทัดดอย	22
3.6 การสังเคราะห์เอสเทอร์ของ lupeol และ β -sitosterol ¹	24
บทที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสะเภาลม	
4.1 การเตรียมพืชสะเภาลม	27
4.2 การสกัดสารองค์ประกอบ	27
4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด	29
4.4 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากใบสะเภาลม	33
4.5 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากกิ่งสะเภาลม	36
4.6 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากเหง้าสะเภาลม	40

บทที่ 5 การวิเคราะห์โครงสร้างของสารองค์ประกอบในประทัดดอย สะเกดลม และสารอนุพันธ์จากปฏิกิริยาเคมี	
5.1 สารประเภท pentacyclic triterpenoids	45
5.2 สารประเภท pentacyclic triterpenoids esters	56
5.3 สารประเภท sterols	61
5.4 สารประเภท ferulate esters	65
5.5 สารประเภท xanthone	67
5.6 สารประเภท lignin	68
5.7 สารประเภท proanthocyanidin	69
บทที่ 6 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์	
6.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)	70
6.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) เชื้อไวรัสเริม (anti-HSV-1) และเชื้อมาลาเรีย (anti-malaria)	72
6.3 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity)	73
6.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง (anti-proliferation)	76
บทที่ 7 บทสรุป	80
เอกสารอ้างอิง	88
ภาพผนวก	92
ผลสัมฤทธิ์ที่ได้จากโครงการวิจัย	116
เอกสารแนบ	117

สารบัญรูป

	หน้า
รูป 1 ต้นกระทัดดอย (<i>Agapetes megacarpa</i> W.W. Smith)	3
รูป 2 ต้นสะเภาลม (<i>Agapetes hosseana</i> Diels)	4
รูป 3 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่มีรายงานใน <i>Agapetes hosseana</i>	5
รูป 4 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่มีรายงานใน <i>Agapetes obouata</i>	6
รูป 5 ภาพกิ่งและเหง้ากระทัดดอย	7
รูป 6 ภาพการสกัดกระทัดดอยด้วยวิธี Soxhlet	7
รูป -7 แผนภาพการสกัดกิ่ง เหง้า และ ใบ ของกระทัดดอย ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	8
รูป 8 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AMH-R	18
รูป 9 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AMH-R	19
รูป 10 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-R	20
รูป 11 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AME-R	21
รูป 12 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AMN-R	21
รูป 13 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-T ครั้งที่ 1	22
รูป 14 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-T ครั้งที่ 2	23
รูป 15 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AME-T	24
รูป 16 แผนภาพการสังเคราะห์ lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17)	25
รูป 17 แผนภาพการสังเคราะห์ β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19)	26
รูป 18 ภาพ ใบ กิ่ง และ เหง้าสะเภาลม	27
รูป -19 แผนภาพการสกัดใบของสะเภาลม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	28
รูป -20 แผนภาพการสกัดกิ่ง และ เหง้า ของสะเภาลม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	28
รูป 21 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-L	33
รูป 22 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-L	34
รูป 23 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-L	35
รูป 24 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-L	36
รูป 25 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-T	36
รูป 26 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-T	37
รูป 27 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHE-T	38
รูป 28 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHE-T	38
รูป 29 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-T	39
รูป 30 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-T	39

	หน้า
รูป 31 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-R	40
รูป 32 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-R	41
รูป 33 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHE-R	42
รูป 34 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHE-R	43
รูป 35 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-R	43
รูป 36 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-R	44
รูป 37 โครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของประทัดดอย	83
รูป 38 โครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของสะเมากลม	85
รูป 39 โครงสร้างเอสเทอร์ของ lupeol และ β -sitosterol จากการสังเคราะห์	86
 <u>รูปภาคผนวก</u>	
รูป 1 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ lupenone (400 MHz) ใน CDCl_3	92
รูป 2 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupenone (100 MHz) ใน CDCl_3	92
รูป 3 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ lupeol (400 MHz) ใน CDCl_3	93
รูป 4 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol (100 MHz) ใน CDCl_3	93
รูป 5 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ friedelin (400 MHz) ใน CDCl_3	94
รูป 6 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ friedelin (100 MHz) ใน CDCl_3	94
รูป 7 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ 3-ketooleanane (400 MHz) ใน CDCl_3	95
รูป 8 ^{13}C และ Dept135 NMR สเปกตรัมของ 3-ketooleanane (100 MHz) ใน CDCl_3	95
รูป 9 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ 3 α -friedelinol (400 MHz) ใน CDCl_3	96
รูป 10 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ 3 α -friedelinol (100 MHz) ใน CDCl_3	96
รูป 11 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ 5(6)-gluten-3 α - (องค์ประกอบหลัก) (400 MHz) ใน CDCl_3	97
รูป 12 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ 35(6)-gluten-3 α - (องค์ประกอบหลัก) (100 MHz) ใน CDCl_3	97
รูป 13 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ taraxerol (400 MHz) ใน CDCl_3	98
รูป 14 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ taraxerol (100 MHz) ใน CDCl_3	98
รูป 15 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ taraxerone (400 MHz) ใน CDCl_3	99
รูป 16 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ taraxerone (100 MHz) ใน CDCl_3	99
รูป 17 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ α -amyrin (400 MHz) ใน CDCl_3	100
รูป 18 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ β -amyrin (องค์ประกอบรอง) (400 MHz) ใน CDCl_3	100
รูป 19 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ α -Amyrenonol (22) และ β -Amyrenonol (23) (อัตราส่วนประมาณ 6 :1) (400 MHz) ใน CDCl_3	101
รูป 20 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ lupeol acetate (400 MHz) ใน CDCl_3	102

	หน้า
รูป 21 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol acetate (100 MHz) ใน CDCl_3	102
รูป 22 ^1H -NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl ursolic acid (400 MHz) ใน CDCl_3	103
รูป 23 ^{13}C , Dept135 NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl ursolic acid (100 MHz) ใน CDCl_3	103
รูป 24 ^1H -NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl oleanolic acid (400 MHz) ใน CDCl_3	104
รูป 25 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl oleanolic acid (100 MHz) ใน CDCl_3	104
รูป 26 ^1H -NMR สเปกตรัมของ lupeol benzoate (400 MHz) ใน CDCl_3	105
รูป 27 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol benzoate (100 MHz) ใน CDCl_3	105
รูป 28 ^1H -NMR สเปกตรัมของ lupeol cinnamate (400 MHz) ใน CDCl_3	106
รูป 29 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol cinnamate (100 MHz) ใน CDCl_3	106
รูป 30 ^1H -NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol (400 MHz) ใน CDCl_3	107
รูป 31 ^{13}C , Dept135 NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol (100 MHz) ใน CDCl_3	107
รูป 32 ^1H -NMR สเปกตรัมของ stigmast-4-ene-3-one (400 MHz) ใน CDCl_3	108
รูป 33 ^{13}C , Dept135 NMR สเปกตรัมของ stigmast-4-ene-3-one (100 MHz) ใน CDCl_3	108
รูป 34 ^1H -NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol benzoate (400 MHz) ใน CDCl_3	109
รูป 35 ^{13}C , Dept135 NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol benzoate (100 MHz) ใน CDCl_3	109
รูป 36 ^1H -NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol cinnamate (400 MHz) ใน CDCl_3	110
รูป 37 ^{13}C , Dept135 NMR สเปกตรัมของ β -sitosterol cinnamate (100 MHz) ใน CDCl_3	110
รูป 38 ^1H -NMR สเปกตรัมของ <i>trans</i> -octadecyl ferulate (400 MHz) ใน CDCl_3	111
รูป 39 ^{13}C , Dept 135 สเปกตรัมของ <i>trans</i> -octadecyl ferulate (100 MHz) ใน CDCl_3	111
รูป 40 ^1H -NMR สเปกตรัมของ <i>O</i> -acetyl- <i>trans</i> -octadecyl ferulate (400 MHz) ใน CDCl_3	112
รูป 41 ^{13}C สเปกตรัมของ <i>O</i> -acetyl- <i>trans</i> -octadecyl ferulate (100 MHz) ใน CDCl_3	112
รูป 42 ^1H -NMR สเปกตรัมของ 2,7-dihydroxyxanthone (400 MHz) ใน acetone- d_6	113
รูป 43 ^{13}C สเปกตรัมของ 2,7-dihydroxyxanthone (100 MHz) ใน acetone- d_6	113
รูป 44 ^1H -NMR สเปกตรัมของ isolariciresinol (400 MHz) ใน CD_3OD	114
รูป 45 ^{13}C , Dept 135, Dept 90 สเปกตรัมของ isolariciresinol (100 MHz) ใน CD_3OD	114
รูป 46 ^1H -NMR สเปกตรัมของ epicatechin (400 MHz) ใน acetone d_6	115
รูป 47 ^{13}C , Dept 135, Dept 90 สเปกตรัมของ epicatechin (100 MHz) ใน acetone- d_6	115

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 สารสกัดหยาบจากเหง้า กิ่ง และ ใบ ของประทัดดอย	8
ตาราง 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	10
ตาราง 3 สรุปลักษณะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดจากประทัดดอย	12
ตาราง 4 Anti-TB, Antifungal, cytotoxicity to vero cell ของสารสกัดจากประทัดดอย	12
ตาราง 5 ความเป็นพิษ (cytotoxicities) ต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับสารสกัดจากประทัดดอย (AMN-T) ยา cisplatin และ mitomycin C	13
ตาราง 6 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดประทัดดอย ยา cisplatin และ mitomycin C ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)	15
ตาราง 7 ดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ (selectivity index, SI) ของสารสกัดประทัดดอย ยา cisplatin และ mitomycin C ต่อเซลล์มะเร็ง เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ	15
ตาราง 8 สารสกัดหยาบจาก ใบ กิ่ง และ เหง้า ของสะเภาลม	29
ตาราง 9 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดจากสะเภาลม	30
ตาราง 10 สรุปลักษณะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดจากสะเภาลม	31
ตาราง 11 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดสะเภาลม ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)	32
ตาราง 12 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารบริสุทธิ์	71
ตาราง 13 สรุปลักษณะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารบริสุทธิ์	72
ตาราง 14 ผล Anti-TB, Anti-HSV-1 และ Anti-malaria ของสารบริสุทธิ์	73
ตาราง 15 ความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์มะเร็ง ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับสารบริสุทธิ์	75
ตาราง 16 ค่าความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ยา cisplatin และ etoposide ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)	78
ตาราง 17 ชนิดของสารสกัดจากประทัดดอย ที่พบสารองค์ประกอบ	82
ตาราง 18 ชนิดของสารสกัดจากสะเภาลม ที่พบสารองค์ประกอบ	84

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยมีพันธุ์ไม้หลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และนำไปใช้ประโยชน์หลายอย่าง บางชนิดสามารถรับประทานเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ บางชนิดใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง บางชนิดนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร ปัจจุบันสมุนไพรหลายชนิดถูกนำมาวิจัยด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเฉพาะเคมีทางยาของพืชสมุนไพร โดยนำสมุนไพรมาศึกษาหาโครงสร้างทางเคมีของสารที่เป็นองค์ประกอบ การออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พิษวิทยา และปริมาณหรือความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้สูงสุด เช่น เป็นยารักษาโรค เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยไม่มีผลข้างเคียงตามมา

พันธุ์ไม้อีกหลายชนิดที่นำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน ในบางพื้นที่ และยังไม่มีการวิจัยเกี่ยวกับเคมีทางยาของพืชเหล่านี้ เช่น ยาดองเหล้า จะมีรากพันธุ์ไม้ต่าง ๆ แหในแอลกอฮอล์ ใช้ดื่มบำรุงกำลัง ป้องกันโรคต่าง ๆ ตามคำบอกเล่า ซึ่งการรับประทานยาดองอาจมีผลข้างเคียง เนื่องจากยังไม่ทราบสารออกฤทธิ์ที่สำคัญแต่ละตัวในพืชที่ถูกแช่ มีพิษไหม ถ้าได้รับสารเหล่านี้ในปริมาณมาก ๆ จะมีผลอย่างไร ดังนั้นการวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รวมถึงความเป็นพิษของพืชเหล่านี้ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เพื่อจะได้นำพืชเหล่านี้มาใช้เป็นยาสมุนไพรได้กว้างขวางมากขึ้นและไม่มียันตราย

พืชสกุล *Agapetes* อยู่ในวงศ์ ERICACEAE พืชสกุลนี้บางชนิด เช่น ประทัดดอย (*Agapetes megacarpa*) และ สะเภาลม (*Agapetes hosseana*) พบได้ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จากคำบอกเล่าของชาวพื้นบ้าน รากของพืชทั้งสองชนิดนี้ นิยมนำมาแช่ในยาดองเหล้า และจะใช้ดื่มเพื่อบำรุงกำลัง นอกจากนี้ ประทัดดอย ยังสามารถบำรุงน้ำนมในสตรีมีครรภ์ และในประเทศจีน ได้มีรายงานการใช้พืชสกุล *Agapetes* ได้แก่ *A. nerifolia* เป็นองค์ประกอบในตำรับยาจีน

ปัจจุบันการวิจัยของพืชทั้งสองชนิดยังมีไม่มาก ดังนั้นโครงการวิจัยในส่วนนี้จึงวางแนวทางการวิจัยที่เน้นศึกษาหาโครงสร้างทางเคมีของสารที่เป็นองค์ประกอบในส่วนต่างๆ ของ ประทัดดอย และ สะเภาลม ซึ่งเป็นพืชสกุล *Agapetes* พร้อมทั้งศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญ และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำพืชชนิดนี้มาใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ ได้กว้างขวางมากขึ้นและอาจจะได้โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี ที่สามารถใช้เป็นยารักษาโรค หรือใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่ตัวยาใหม่ ๆ ที่ใช้รักษาโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคเอดส์ โรคมาลาเรีย เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพืชสกุล *Agapetes* สองชนิด ได้แก่ ประทัดดอย (*A. megacarpa*), สะเภาลม (*A. hosseana*)
- 1.2.2 เพื่อสกัดแยกหาประเภทและโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของประทัดดอย และ สะเภาลม พร้อมทั้งศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและสารบริสุทธิ์

1.3 ระเบียบวิธีและขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 เตรียม กิ่ง เหง้า ของพืชประทัดดอย และ สะเภาลม ที่แห้งและบดละเอียด
- 1.3.2 สกัดสารองค์ประกอบจากตัวอย่างพืชทั้ง 2 ชนิด ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ
- 1.3.3 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบ
- 1.3.4 แยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น column chromatography, preparative thin layer chromatography, HPLC, preparative HPLC
- 1.3.5 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบในสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ IR, NMR, GCMS, LCMS, HPLC-MS/MS
- 1.3.6 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทำให้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและองค์ประกอบของประทัดดอยและสะเภาลม ซึ่งเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรค
- 1.4.2 ทำให้ทราบประเภทและโครงสร้างทางเคมีของสารที่เป็นองค์ประกอบในต้นประทัดดอย และสะเภาลม
- 1.4.3 ทำให้ทราบโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่อาจนำไปใช้เป็นยารักษาโรคต่อไป

บทที่ 2

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประทัดดอย (*Agapetes megacarpa* W.W. Smith)

ประทัดดอย^[1-3] มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Agapetes megacarpa* W.W. Smith อยู่ในวงศ์ ERICACEAE ชื่ออื่น ๆ ประทัดอ่างขาง สะเม็ก ลักษณะทั่วไปเป็นไม้พุ่มอิงอาศัย สูง 1-7 เมตร ใบเดี่ยว เวียนรอบข้อ รูปใบหอกหรือแกมรูปขอบขนาน ยาว 7-17 เซนติเมตร ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม โคนใบมนหรือรูปลิ้น ขอบใบเรียบ ก้านใบสั้นมาก ดอกออกเป็นช่อแบบช่อเชิงหลั่นหรือช่อกระจุกคล้ายรูปซี่ร่ม ออกตามซอกใบหรือปลายกิ่ง ช่อดอกยาว 7-8 เซนติเมตร มี 3-9 ดอกต่อช่อ ทุกส่วนมีสีแดง ก้านช่อดอกยาว 0.2-1 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 2-2.5 เซนติเมตร ฐานรองดอกรูปลูกข่าง เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 0.5-0.6 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันที่โคนเป็นรูปถ้วย สีแดง ยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 5 แฉกเล็ก รูปลิ้นแคบ ยาว 0.7-0.8 เซนติเมตร กลีบดอกติดกันเป็นหลอดรูปกรวย ยาว 4-5 เซนติเมตร สีชมพูแดง มีเส้นกลีบสีแดง ปลายแยกเป็น 5 แฉก สีเหลืองอมเขียวหรือสีครีม รูปสามเหลี่ยม ปลายโค้งบานออกเล็กน้อย ยาว 0.7-1 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 10 อัน ก้านเกสรสั้น ยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร อับเรณูติดกัน ล้อมรอบเกสรเพศเมีย ยาว 4-5 เซนติเมตร ด้านหลังอับเรณูมีเดือย 2 อัน ยาวประมาณ 0.1 เซนติเมตร เกสรเพศเมียยาวกว่าเกสรเพศผู้เล็กน้อย ก้านเกสรรูปเส้นด้าย ยอดเกสรคล้ายจาน ผลมีเนื้อหลายเมล็ด สีเขียว รูปกลมหรือรี ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร (รูป 1)

ประทัดดอยเป็นพันธุ์ไม้หายาก พบในจีนทางตอนใต้ (ยูนาน) และภาคเหนือของไทยที่ดอยดุง จังหวัดเชียงราย และดอยภูคา จังหวัดน่าน ดอยอ่างขาง ดอยอินทนนท์ และดอยผ้าห่มปก จังหวัดเชียงใหม่ ขึ้นบนที่โล่งตามเขาหินปูน นอกจากนี้ยังพบเป็นไม้พุ่มอิงอาศัยในป่าดิบเขา ระดับความสูง 1000-2000 เมตร



รูป 1 ต้นประทัดดอย (*Agapetes megacarpa* W.W. Smith)^[4]

ประทัดดอยเป็นพืชที่ชาวเขาและชาวบ้านใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านแผนโบราณ ส่วนโคนของลำต้นฝานเป็นแผ่นบาง ๆ แล้วนำมาดองเหล้าขาว ใช้ดื่มเพื่อบำรุงกำลัง และบำรุงน้ำนมในสตรีมีครรภ์ ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการวิจัยการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในพืชชนิดนี้ แต่มีรายงานการวิจัยของพืชในสกุลเดียวกัน (*Agapetes*)

2.2 สะเภาลม (*Agapetes hosseana* Diels)

สะเภาลม^[1-3,5] มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Agapetes hosseana* Diels อยู่ในวงศ์ ERICACEAE ชื่ออื่น ๆ เหง้าน้ำทิพย์ แมวน้ำ ลักษณะทั่วไปเป็นไม้พุ่มอิงอาศัย มีรากอวบพอง อ้วนน้ำ ใบเดี่ยวเรียงเวียนสลับ รูปรีแกมรูปไข่กลับ ปลายใบมน โคนใบสอบ แผ่นใบหนา ดอกออกเดี่ยวหรือเป็นกระจุกตามซอกใบ 1-4 ดอก ก้านดอกเรียว กลีบดอกติดกันเป็นหลอดยาว ปลายแยกเป็น 5 กลีบสั้นๆ ดอกคว่ำห้อยลงสู่พื้น ดอกออกเดือนมกราคม – เมษายน ผลสด กลม สีเขียว เมื่อสุกสีม่วงดำ (รูป 2)

สะเภาลมเป็นพันธุ์ไม้หายาก ต่างประเทศพบตามภูเขาที่มีอากาศหนาวเย็นจัดแถบคาบสมุทรอินโดจีน ในประเทศไทยพบได้ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในป่าดิบเขาที่ระดับความสูง 1000-2565 เมตร ค่อนข้างโปร่งและมีอากาศเย็นตลอดปี เช่น ดอยอินทนนท์ ดอยผ้าห่มปก จังหวัดเชียงใหม่ พบได้ตามคาบไม้ใหญ่และซอกหินที่มีมอสปกคลุม

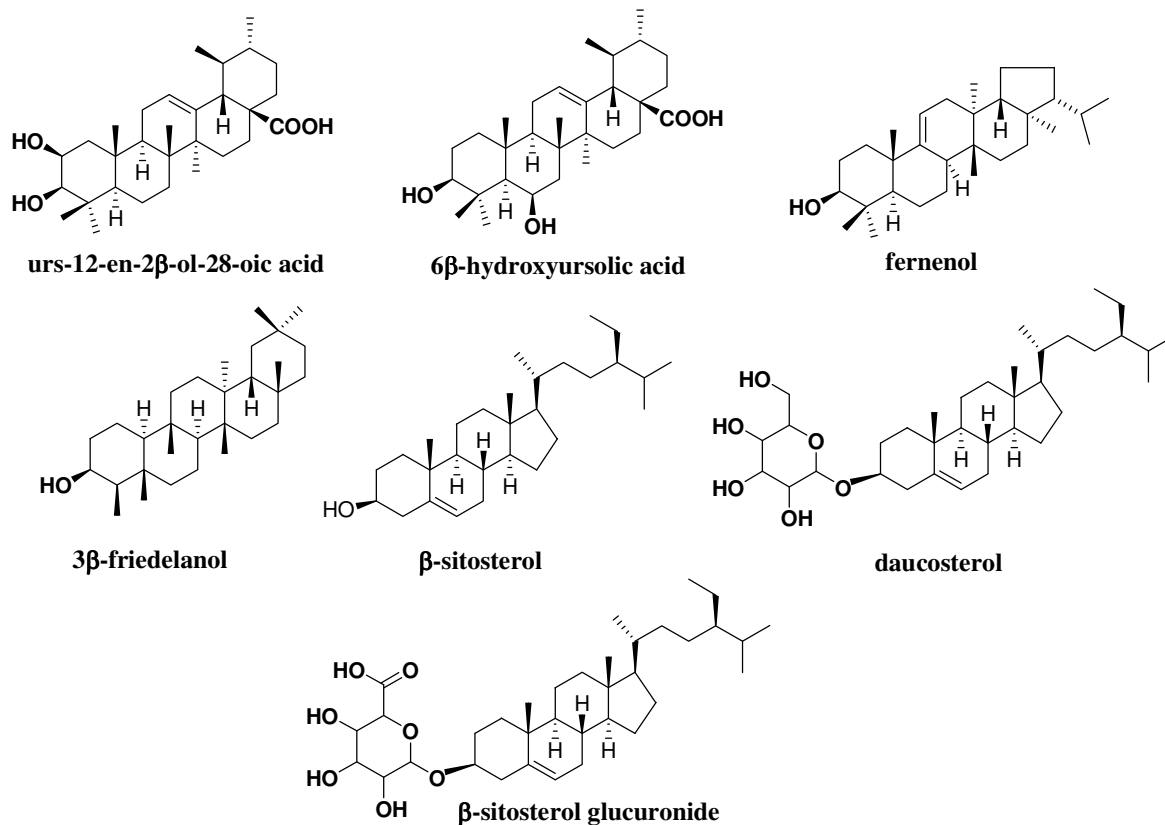


รูป 2 ต้นสะเภาลม (*Agapetes hosseana* Diels)^[6]

สะเภาลมเป็นพืชที่ชาวเขาและชาวบ้านใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านแผนโบราณ ใบของสะเภาลมนำมาต้มดื่มเพื่อรักษาอาการภายหลังฟันไขหรือใช้บำรุงกำลังของสตรีหลังคลอด ส่วนโคนของลำต้นฝานเป็นแผ่นบาง ๆ แล้วนำมาดองเหล้าขาวดื่มบำรุงกำลัง

ปัจจุบันรายงานการวิจัยของพืชชนิดนี้ยังมีไม่มาก มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชชนิดนี้เพียง 1 ฉบับในวารสารของประเทศจีน ปี ค.ศ.1991 โดย Deng และ Chen^[7] ซึ่งพบสาร

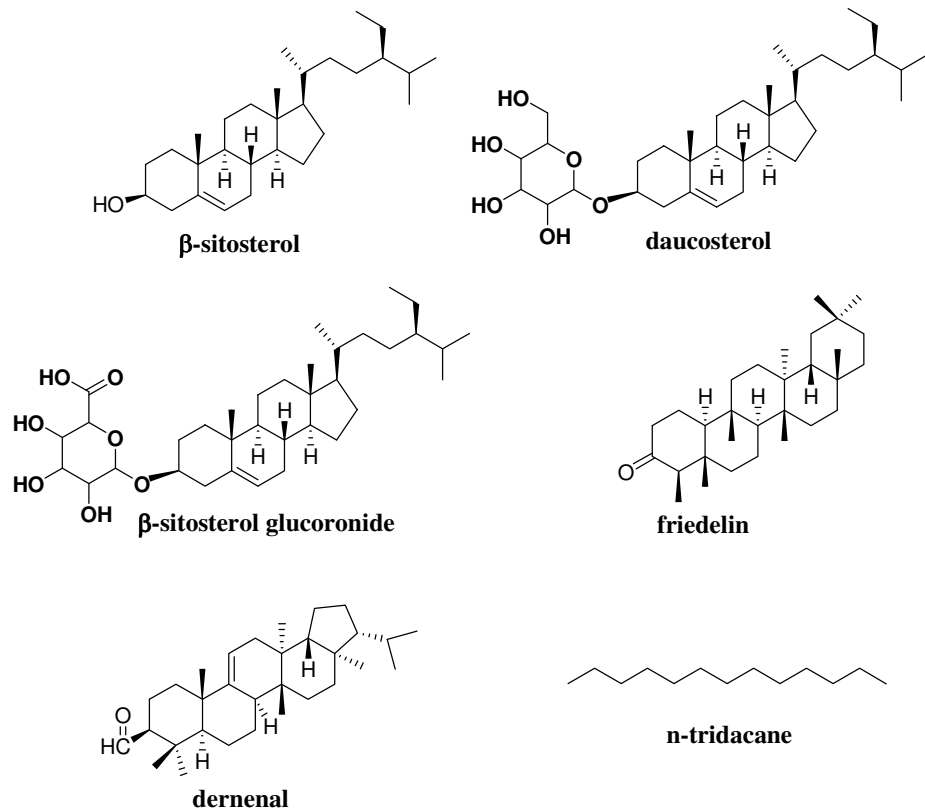
ประเภท pentacyclic triterpene และ sterol 7 ชนิด คือ urs-12-en-2 β -ol-28-oic acid, 6 β -hydroxyursolic acid, fernenol, 3 β -friedelanol, β -sitosterol, daucosterol และ β -sitosterol glucuronide (รูป 3) แต่ยังไม่มียางานการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชชนิดนี้



รูป 3 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่มีรายงานใน *Agapetes hosseana*

2.3 องค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล *Agapetes*

สำหรับพืชสกุล *Agapetes* มีอยู่ประมาณ 80 ชนิด ในประเทศไทยพบประมาณ 11 ชนิด^[2,3] ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสกุลนี้ แต่มีรายงานการแยกหาองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล *Agapetes* ที่นอกเหนือจาก ประทัดดอย และสะภาลม เพียง 1 เรื่อง ในวารสารของประเทศจีน ปี ค.ศ. 1990 โดย Hounq และคณะ^[8] รายงานองค์ประกอบทางเคมีของ *Agapetes obouta* ซึ่งพบสารประเภท pentacyclic triterpene, sterol และ hydrocarbon 6 ชนิด ได้แก่ friedelin, fernenol, β -sitosterol, daucosterol, β -sitosterol glucuronide และ n-tridecane (รูป 4)



รูป 4 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่มีรายงานใน *Agapetes obouata*

จากการค้นคว้าเอกสารของงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับพืชสกุล *Agapetes* พบว่ามีรายงานอยู่น้อยมาก ส่วนใหญ่มาจากประเทศจีน นอกจากนี้ยังไม่พบรายงานการวิจัยของพืชประดัดดอย (*A. megacarpa*) ดังนั้นการศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชเหล่านี้ ซึ่งเป็นสมุนไพรพื้นบ้าน จึงเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่น่าสนใจ

บทที่ 3

การแยกองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดประทัดดอย

3.1 การเตรียมพืชประทัดดอย

ประทัดดอย (*Agapetes megacarpa* W.W. Smith) จากดอยผ้าห่มปก จังหวัดเชียงใหม่ เก็บเดือน พฤษภาคม 2551 มี voucher specimen QBG No.21548 ระบุโดยองค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เชียงใหม่ นำประทัดดอยแยกเป็นส่วนต่าง ๆ (รูป 5) ได้แก่ เหง้า กิ่ง และ ใบ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผึ่งให้แห้งและบดละเอียด



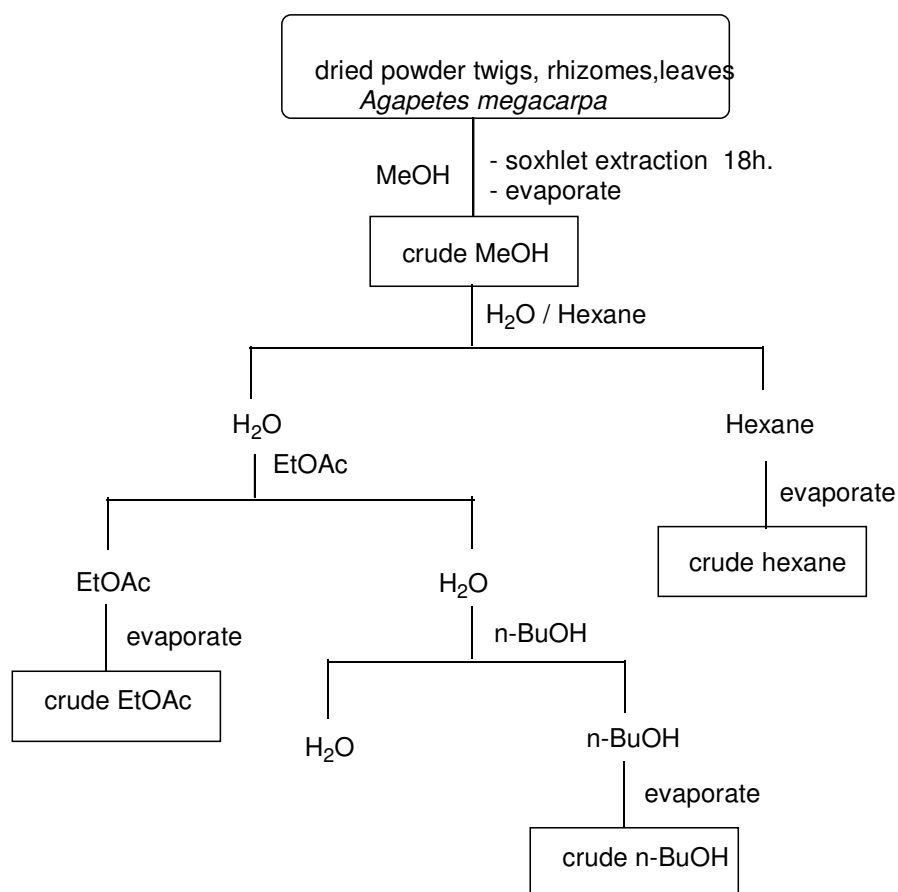
รูป 5 ภาพกิ่งและเหง้าประทัดดอย

3.2 การสกัดสารองค์ประกอบ

นำเหง้า กิ่ง และ ใบ ของประทัดดอยที่แห้งและบดละเอียด น้ำหนัก 772.72 กรัม 525.17 กรัม และ 34.14 กรัม ตามลำดับ มาสกัดวิธี soxhlet ด้วย เมทานอล (รูป 6) หลังจากระเหยตัวทำละลาย เติมน้ำและสกัดต่อด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล ตามลำดับ (รูป 7) หลังจากระเหยตัวทำละลาย จะได้สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และสารสกัดหยาบนอร์มอลบิวทานอล ของเหง้า กิ่ง และ ใบประทัดดอย น้ำหนักและ % ของสารสกัดหยาบที่ได้แสดงในตาราง 1



รูป 6 ภาพการสกัดประทัดดอยด้วยวิธี Soxhlet



รูป -7 แผนภาพการสกัดกิ่ง เหง้า และ ใบ ของประทัดดอย ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตาราง 1 สารสกัดหยาบจากเหง้า กิ่ง และ ใบ ของประทัดดอย

ส่วนของ ประทัดดอย	น้ำหนักแห้ง (g)	สารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (g)	% สารสกัดเทียบ น้ำหนักแห้ง
เหง้า	772.72	hexane (AMH-R)	26.76	3.5
		EtOAc (AME-R)	18.46	2.4
		n-BuOH (AMN-R)	17.20	2.2
กิ่ง	525.17	hexane (AMH-T)	3.30	0.6
		EtOAc (AME-T)	4.33	0.8
		n-BuOH (AMN-T)	17.66	3.4
ใบ	34.14	hexane (AMH-L)	0.42	1.2
		EtOAc (AME-L)	0.75	2.2
		n-BuOH (AMN-L)	0.63	1.8

3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

3.3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

นำสารสกัดหยาบประทัดดอย จำนวน 9 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยใช้ DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) เป็นรีเอเจนต์ทดสอบ และใช้ วิตามินซี และ BHT (Butyllated Hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งทำการศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging Activity)^[9] ตามวิธีดังนี้

1. เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบในเมทานอลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันในช่วง 2-500 $\mu\text{g/ml}$
2. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 μM ปริมาตร 2 ml ลงในสารละลายสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น ที่เตรียมไว้ใน ข้อ 1 (ปริมาตร 1 ml) เขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที
3. เตรียมสารละลาย control (ผสม DPPH ความเข้มข้น 100 μM ปริมาตร 2 ml กับ เมทานอล ปริมาตร 1 ml) เขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV spectronic 20
5. คำนวณ % DPPH scavenging effect จากสมการ

$$\% \text{ DPPH scavenging effect} = \frac{\text{Absorbance (control)} - \text{Absorbance (sample)}}{\text{Absorbance (control)}} \times 100$$

6. หาค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง และ % DPPH scavenging โดยใช้โปรแกรม Priprobit Version 1.63 ที่ความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดจากกิ่งประทัดดอย ที่สกัดด้วย นอร์มอลบิวทานอล (AMN-T) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดีมาก มีค่า $\text{IC}_{50} = 1.97 \mu\text{g/ml}$ แต่ยังมีค่าสูงกว่าสารมาตรฐาน วิตามินซี และ BHT ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.65 และ 0.52 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตต จากกิ่งประทัดดอย (AME-T) และสารสกัดจากเหง้าและใบ ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล (AME-R, AMN-R, AME-L), AMN-L) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดีปานกลาง มีค่า IC_{50} ช่วง 5.16 – 14.78 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่สารสกัดจากกิ่ง เหง้า และ ใบ ที่สกัดด้วยเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ดังแสดงใน ตาราง 2 -3

ตาราง 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (control)	Absorbance (sample)*	% DPPH scavenging	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
AMH-T	16.67	0.657	0.635	3.35	506.00
	33.33		0.613	6.70	
	50.00		0.594	9.59	
	83.33		0.559	14.92	
	166.67		0.480	27.94	
AME-T	10.00	1.026	0.626	38.99	14.78
	16.67		0.491	52.14	
	23.33		0.371	63.84	
	33.33		0.278	72.90	
	40		0.141	86.26	
AMN-T	0.67	0.605	0.512	15.37	1.97
	1.33		0.414	31.57	
	2.00		0.329	45.62	
	2.67		0.231	61.82	
	3.33		0.146	75.87	
AMH-R	16.67	0.687	0.662	3.64	467.00
	33.33		0.627	8.73	
	50.00		0.553	19.50	
	83.33		0.527	23.29	
	166.67		0.502	26.93	
AME-R	3.33	0.657	0.546	16.89	6.01
	6.67		0.266	59.51	
	10.00		0.140	78.69	
	13.33		0.075	88.58	
	16.67		0.056	91.48	
AMN-R	3.33	0.720	0.527	26.80	5.16
	6.67		0.292	59.44	
	10.00		0.087	87.91	
	13.33		0.040	94.44	
	16.67		0.038	94.72	

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (control)	Absorbance (sample)*	% DPPH scavenging	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
AMH-L	16.67	0.571	0.547	4.20	264.97
	33.33		0.521	8.75	
	50.00		0.493	13.66	
	83.33		0.449	21.37	
	166.67		0.346	39.40	
AME-L	3.33	0.770	0.655	14.93	12.14
	6.67		0.552	28.31	
	10.00		0.450	41.56	
	13.33		0.364	52.72	
	16.67		0.283	63.24	
AMN-L	3.33	0.737	0.601	18.45	10.55
	6.67		0.474	35.69	
	10.00		0.362	50.88	
	13.33		0.325	55.90	
	16.67		0.270	63.36	
	3.55		0.247	58.97	
	5.32		0.142	76.41	
	7.09		0.041	93.19	
	8.87		0.036	94.02	
Vitamin C	0.33	0.538	0.426	20.18	0.65
	0.67		0.288	46.46	
	1.00		0.180	66.54	
	1.33		0.065	87.92	
	1.67		0.040	92.56	
BHT	0.33	0.540	0.394	27.03	0.52
	0.67		0.216	60.00	
	1.00		0.096	82.22	
	1.33		0.041	92.40	
	1.67		0.039	92.78	

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตาราง 3 สรุปผลฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ของสารสกัดจากประทัดดอย

Crude extracts	IC ₅₀ (μg/ml)	Antioxidant activity*
AMH-T	506.00	Inactive
AME-T	14.78	Moderately active
AMN-T	1.97	Strongly active
AMH-R	467.00	Inactive
AME-R	6.01	Moderately active
AMN-R	5.16	Moderately active
AMH-L	264.97	Inactive
AME-L	12.14	Moderately active
AMN-L	10.55	Moderately active
Vitamin C	0.65	Strongly active
BHT	0.52	Strongly active

* Inactive IC₅₀ > 50 Weakly active IC₅₀ > 20 – 50
 Moderately active IC₅₀ = 5 – 20 Strongly active < 5

3.3.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) เชื้อรา (antifungal) และความเป็นพิษกับเซลล์ปกติ (cytotoxicity to vero cell)

นำสารสกัดหยาบของกิ่งและเหง้าประทัดดอย (AMH-R, AME-R, AMN-R, AMH-T, AME-T, AMN-T) จำนวน 6 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค *Mycrobacterium tuberculosis* H37Ra ด้วยวิธี green fluorescent protein microplate assay (GFPMA) ทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อรา *Candida albicans* และความเป็นพิษกับเซลล์ปกติ (vero cell) เซลล์ปกติที่ใช้คือ African green monkey kidney ซึ่งทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการตรวจหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (BIOTEC) ผลที่ได้พบว่าสารสกัดหยาบจากประทัดดอยทั้ง 6 ตัวอย่างไม่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อและเซลล์ที่กล่าวมาทั้งหมด (ตาราง 4)

ตาราง 4 Anti-TB, Antifungal, cytotoxicity to vero cell ของสารสกัดจากประทัดดอย

ประทัดดอย	Crude extracts	Anti-TB	Anti-fungal	Vero cell
เหง้า	AMH-R	inactive	inactive	inactive
	AME-R	inactive	inactive	inactive
	AMN-R	inactive	inactive	inactive
กิ่ง	AMH-T	inactive	inactive	inactive
	AME-T	inactive	inactive	inactive
	AMN-T	inactive	inactive	inactive

3.3.3 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ (cytotoxicity)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นำสารสกัดหยาบจากกิ่งของประทัดดอยที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอล (AMN-T) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7, MDA-MB-231) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) เซลล์มะเร็งกล่องเสียง (Hep2) เซลล์มะเร็งลำไส้ (HT29) เซลล์มะเร็งผิวหนัง (C32) และ เซลล์ปกติไฟโบรบลาสต์จากปอดของคน (F1044) ด้วยเทคนิค sulforhodamine B assay (SRB assay) และมี ยา cisplatin และ mitomycin C เป็นสารมาตรฐาน โดยเซลล์แต่ละเชื้อสายจะได้รับสารสกัดจากประทัดดอย (AMN-T) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันในช่วง 0-100 $\mu\text{g/ml}$ ยา cisplatin และ mitomycin C ที่ความเข้มข้นในช่วง 0-10 $\mu\text{g/ml}$ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเซลล์ได้รับสารตามระยะเวลาที่กำหนดแล้วจึงนำมาตรวจสอบจำนวนเซลล์ด้วยเทคนิค SRB แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Priprobit ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดประทัดดอย (AMN-T) ยา cisplatin และ mitomycin C ที่มีผลต่อเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในที่นี้จะแสดงค่าเพียง 2 ค่า คือ IC_{20} และ IC_{50} ผลที่ได้แสดงดัง ตาราง 5

ตาราง 5 ความเป็นพิษ (cytotoxicities) ต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับสารสกัดจากประทัดดอย (AMN-T) ยา cisplatin และ mitomycin C

ชนิดเซลล์	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)					
	AMN-T		Cisplatin		Mitomycin C	
	IC_{20}	IC_{50}	IC_{20}	IC_{50}	IC_{20}	IC_{50}
NCI-H1299	45.97	163.5	7.00	53.59	4.37	18.24
A549	130.50	322.52	16.84	112.35	5.44	18.21
MDA-MB-231	20.73	308.64	37.83	390.33	19.97	305.52
MCF-7	12.10	58.26	16.09	110.91	2.99	60.85
HeLa	45.50	130.47	3.45	7.79	2.51	14.15
Hep2	9.55	36.71	4.76	8.36	0.24	2.59
HT29	49.85	68.03	4.70	32.33	6.52	36.97
F1044	1.62×10^3	3.99×10^4	796.49	1.66×10^4	13.61	27.34

^[10] Potentially very toxic ($\text{IC}_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$)

Potentially toxic ($\text{IC}_{50} 10\text{-}100 \mu\text{g/ml}$)

Potentially harmful ($\text{IC}_{50} > 100 - 1000 \mu\text{g/ml}$)

Potentially non toxic ($\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$)

เมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดประทัดดอย (AMN-T) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอย (AMN-T) แสดงแนวโน้มความเป็นพิษ (potential toxic) ต่อเซลล์มะเร็ง

เต้านม (MCF-7) มะเร็งกล่องเสียง (Hep2) และมะเร็งลำไส้ (HT29) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 36.71-68.03 $\mu g/ml$ และแสดงแนวโน้มความเป็นอันตราย (potentially harmful) ต่อเซลล์มะเร็ง เต้านม (MDA-MB231) มะเร็งปอด ทั้ง 2 ชนิด (A549 และ NCI-H1299) มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และมะเร็งผิวหนัง (C32) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 130.47 – 322.52 $\mu g/ml$ ส่วนยา cisplatin แสดงความเป็นพิษรุนแรง (potentially very toxic) ต่อเซลล์มะเร็ง HeLa และ Hep2 ซึ่งมีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 10 $\mu g/ml$ แสดงแนวโน้มความเป็นพิษ (potential toxic) ต่อเซลล์มะเร็ง NCI-H1299, HT29 และ C32 แสดงแนวโน้มความเป็นอันตราย (potentially harmful) ต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7, MDA-MB231 และ A549 ในส่วนของยา mitomycin C แสดงความเป็นพิษรุนแรง (potentially very toxic) ต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7, A549, NCI-H1299, HeLa, Hep2, HT29 และ C32 และแสดงแนวโน้มความเป็นพิษ (potential toxic) ต่อเซลล์มะเร็ง MDA-MB231 เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดประจักษ์ด้วยยามาตรฐานทั้งสอง พบว่า สารสกัดประจักษ์ด้วย (AMN-T) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม ทั้งสองชนิด (MCF-7 และ MDA-MB231) ได้ดีกว่า cisplatin และแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (MCF-7) ได้ดีกว่า mitomycin C

เมื่อพิจารณาว่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากกิ่งประจักษ์ด้วย ที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอล (AMN-T) กับเซลล์เชื้อสายไฟโบรลาสต์ปกติจากปอดของคน (F1044) พบว่ามีค่าสูงมาก (สูงกว่า 1000 $\mu g/ml$) ซึ่งไม่แสดงความเป็นพิษ (potentially non toxic) ต่อเซลล์ F1044 แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้ มีความจำเพาะกับเซลล์มะเร็งและไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ และเมื่อเปรียบเทียบกับยา cisplatin และ mitomycin C พบว่าสารสกัดมีความเป็นพิษที่ต่ำกว่า ยามาตรฐานทั้ง 2 ชนิด ซึ่งยา mitomycin C จะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ F1044 ด้วยค่า IC_{50} 27.34 $\mu g/ml$

3.3.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ (anti-proliferation)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นำสารสกัดหยาบจากกิ่ง และ เหน้งของประจักษ์ด้วย จำนวน 6 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299 และ A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7 และ MDA-MB-231) และ เซลล์ปกติไฟโบรลาสต์จากปอดของคน (F1044) เทียบกับ ยา cisplatin และ mitomycin C โดยเซลล์แต่ละเชื้อสายจะได้รับสารสกัดจากประจักษ์ด้วยความเข้มข้น 0-100 $\mu g/ml$ ยา cisplatin และ mitomycin C ที่ความเข้มข้น 0-10 $\mu g/ml$ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเซลล์ได้รับสารตามระยะเวลาที่กำหนด นำเซลล์มาตรวจสอบความมีชีวิตด้วยเทคนิค SRB แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Priprobit ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดประจักษ์ด้วย ยา cisplatin และ mitomycin C ที่มีผลต่อเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในที่นี้จะแสดงค่าเพียง 2 ค่า คือ IC_{20} และ IC_{50} ดังแสดงในตาราง 6

คำนวณค่าดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ (selectivity index, SI) ของสารสกัดประจักษ์ด้วย ยา cisplatin และ mitomycin C ต่อเซลล์มะเร็ง เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ F1044 ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงในตาราง 7

ตาราง 6 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดประตัตตอย ยา cisplatin และ mitomycin C ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)

สารทดสอบ	NCI-H1299		A549		MDA-MB-231		MCF-7		F1044	
	IC ₂₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₂₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₂₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₂₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₂₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ g/ml)
AMH-R	187.67	1104.54	16.13	77.71	24.31	60.98	0.07	4.09	-	-
AME-R	4.98	39.92	4.22	29.78	12.31	60.87	0.49	3.18	2.0×10^2	4.1×10^3
AMN-R	2.26	12.97	3.43	24.35	14.34	69.58	0.06	0.89	1.8×10^2	3.8×10^3
AMH-T	8.04	41.95	4.77	51.21	17.19	49.90	44.62	81.1	1.5×10^2	1.4×10^3
AME-T	30.47	273.06	31.52	93.87	24.26	223.57	183.27	2702.02	-	-
AMN-T	13.38	41.91	10.57	30.57	13.41	78.91	31.98	45.39	163.32	2.33×10^3
cisplatin	0.42	46.29	3.17	18.55	8.97	35.11	7.46	97.24	5.77	19.34
Mitomycin C	0.24	1.37	0.03	0.24	2.21	11.77	2370	0.13	0.53	4.73

ตาราง 7 ดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ (selectivity index, SI) ของสารสกัดประตัตตอย ยา cisplatin และ mitomycin C ต่อเซลล์มะเร็ง เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ

สารทดสอบ	selectivity index, SI			
	NCI-H1299	A549	MDA-MB-231	MCF-7
AMH-R	-	-	-	-
AME-R	0.0097	0.0073	0.0148	0.0008
AMN-R	0.0034	0.0064	0.0183	0.0002
AMH-T	0.0300	0.0366	0.0356	0.0579
AME-T	-	-	-	-
AMN-T	0.0180	0.0131	0.0339	0.0195
cisplatin	2.393	0.959	1.815	5.027
Mitomycin C	0.289	0.050	2.488	0.028

เมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบประทัดดอยจากกิ่งที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอล (AMN-T) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ค่า IC_{50} ของเซลล์เชื้อสายมะเร็งปอด ทั้ง 2 ชนิด และมะเร็งเต้านมทั้ง 2 ชนิด มีค่าน้อยกว่าค่า IC_{50} ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ มีค่าน้อยกว่า $100 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดประทัดดอย สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ เมื่อเซลล์ได้รับสารสกัดที่ระยะเวลามากขึ้น ในขณะที่ยา mitomycin C มีผลต่อการยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์เชื้อสายมะเร็ง MDA-MB231 ด้วยค่า IC_{50} น้อยกว่า $50 \mu g/ml$ และยา cisplatin มีผลต่อออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เชื้อสายมะเร็ง MCF-7 ด้วยค่า IC_{50} $97.24 \mu g/ml$ และพบว่าสารสกัดประทัดดอยมีแนวโน้มของการออกฤทธิ์ในทิศทางเดียวกับยาทั้งสองชนิด

เมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดประทัดดอย ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) พบว่า สารสกัดหยาบจากเหง้าประทัดดอยทั้ง 3 ชนิด (AMH-R, AME-R, AMN-R) มีค่า IC_{50} น้อยกว่า $5 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้ดีมาก (strongly active) มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง $0.89 - 4.09 \mu g/ml$ ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอยที่สกัดด้วยเฮกเซนและนอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AMN-T) มีค่า IC_{50} 81.1 และ $45.39 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในระดับปานกลาง (moderately active) เมื่อเปรียบเทียบกับยา cisplatin พบว่า สารสกัดจากเหง้าประทัดดอย (AMH-R, AME-R, AMN-R) และ สารสกัดจากกิ่ง (AMH-T, AMN-T) แสดงฤทธิ์ได้ดีกว่า ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับ mitomycin C พบว่า สารสกัดจากประทัดดอยแสดงฤทธิ์ได้ต่ำกว่า

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} ของสารสกัดประทัดดอยกับเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) พบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าประทัดดอยทั้ง 3 ชนิด (AMH-R, AME-R, AMN-R) และสารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอย ที่สกัดด้วยเฮกเซนและนอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AMN-T) มีค่า IC_{50} มากกว่า $20 \mu g/ml$ แต่มีน้อยกว่า $100 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในระดับปานกลาง (moderately active) เมื่อเปรียบเทียบกับยา cisplatin และ mitomycin C พบว่า สารสกัดจากเหง้าและกิ่งประทัดดอย ทั้ง 6 ชนิด แสดงฤทธิ์ได้ต่ำกว่ายา มาตรฐานทั้ง 2 ชนิด

เมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดประทัดดอยกับเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอลจากเหง้า (AMN-R) มีค่า IC_{50} ของเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) $12.97 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้ดี (active) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดหยาบจากเหง้าที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AME-R) และ สารสกัดหยาบจากกิ่งที่สกัดด้วยเฮกเซนและนอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AMN-T) มีค่า IC_{50} ของเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) 39.92 , 41.95 และ $41.91 \mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในระดับปานกลาง (moderately active) เมื่อเปรียบเทียบกับยา cisplatin พบว่า สารสกัดจากเหง้าและกิ่งประทัดดอย ทั้ง 4 ชนิดที่กล่าวมา (AME-R, AMN-R, AMH-T, AMN-T) T แสดงฤทธิ์ได้ดีกว่า ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับ mitomycin C พบว่าสารสกัดจากประทัดดอยทั้ง 6 ชนิด แสดงฤทธิ์ได้ต่ำกว่า

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากกิ่งและเหง้าของประทัดดอยทั้ง 6 ชนิดกับเซลล์มะเร็งปอด (A549) พบว่ามีค่ามากกว่า 20 $\mu g/ml$ แต่น้อยกว่า 100 $\mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดทั้งหมดสามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในระดับปานกลาง (moderately active) เมื่อเปรียบเทียบกับยา cisplatin และ mitomycin C พบว่า สารสกัดจากเหง้าและกิ่งประทัดดอย ทั้ง 6 ชนิด แสดงฤทธิ์ได้ต่ำกว่ายา มาตรฐานทั้ง 2 ชนิด

เมื่อนำสารสกัดประทัดดอย ยา cisplatin และยา mitomycin C มาทดสอบกับเซลล์ปกติจากปอด (F1044) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดประทัดดอย ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 1,400 – 4,100 $\mu g/ml$ เมื่อพิจารณาการออกฤทธิ์ของยา cisplatin และยา mitomycin C ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า มีผลออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยค่า IC_{50} 19.34 และ 4.73 $\mu g/ml$ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ายาทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งเซลล์ปกติในร่างกายที่มีการแบ่งตัวได้ ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุของผลข้างเคียงของยาที่ใช้ในผู้ป่วยได้

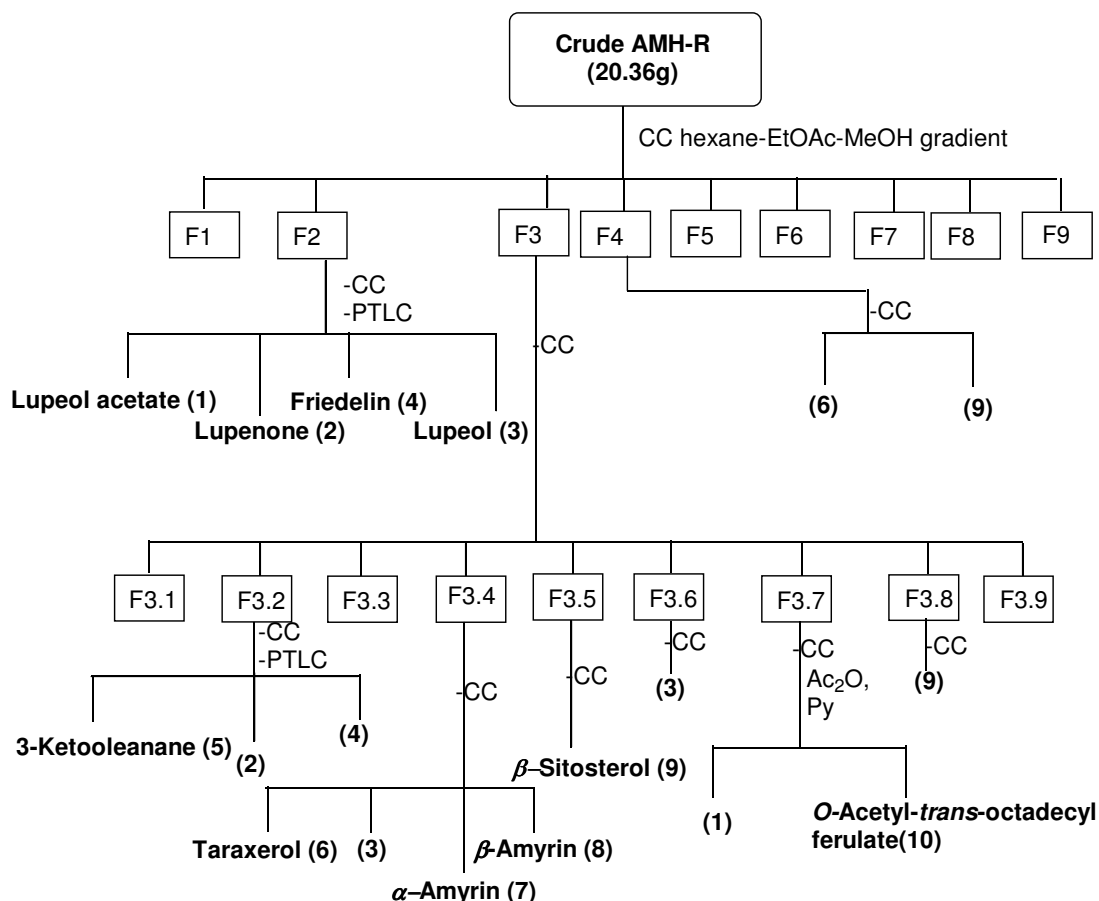
เมื่อพิจารณาดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ของสารต่อเซลล์ (selectivity index, SI) ที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยพิจารณาจากค่า IC_{50} ของเซลล์เชื้อสายมะเร็งมาเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ F1044 ถ้าค่า SI ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงให้เห็นว่าสารมีการเลือกออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ แต่ถ้าค่า SI ที่มีค่ามากกว่า 1 แสดงให้เห็นว่าสารมีการเลือกออกฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติมากกว่าเซลล์มะเร็ง

จากตาราง 7 พบว่าสารสกัดประทัดดอยมีความจำเพาะในการออกฤทธิ์ต่อเซลล์เชื้อสายมะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ F1044 มีค่า SI อยู่ในช่วง 0.0002 – 0.0579 โดยสารสกัดประทัดดอย AMN-R มีผลต่อเซลล์ MCF-7 มากที่สุด (SI = 0.0131) ในส่วนของยา cisplatin พบว่าในเซลล์ A549, MCF-7 และ MDA-MB231 มีค่า SI มากกว่า 1 แสดงว่ายามีการออกฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติ F1044 มากกว่าเซลล์มะเร็งเต้านม และในส่วนของยา mitomycin C พบว่ายามีการเลือกออกฤทธิ์ต่อเซลล์ MCF-7 ได้ดีกว่าเซลล์ปกติตามลำดับ โดยมีค่า SI เท่ากับ 0.028 แต่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติ F1044 ได้ดีกว่าเซลล์มะเร็ง MDA-MB231 ด้วยค่า SI เท่ากับ 2.488

3.4 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากเหง้าประทัดดอย

3.4.1 สารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (AMH-R)

สารสกัดจากเหง้าประทัดดอย ที่สกัดด้วยเฮกเซน (AMH-R) น้ำหนัก 20.36 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต และ เอทิลอะซิเตต ทำให้สารสกัด (AMH-R) ถูกแยกเป็น 9 ส่วน (F1-F9) ดังรูป 8



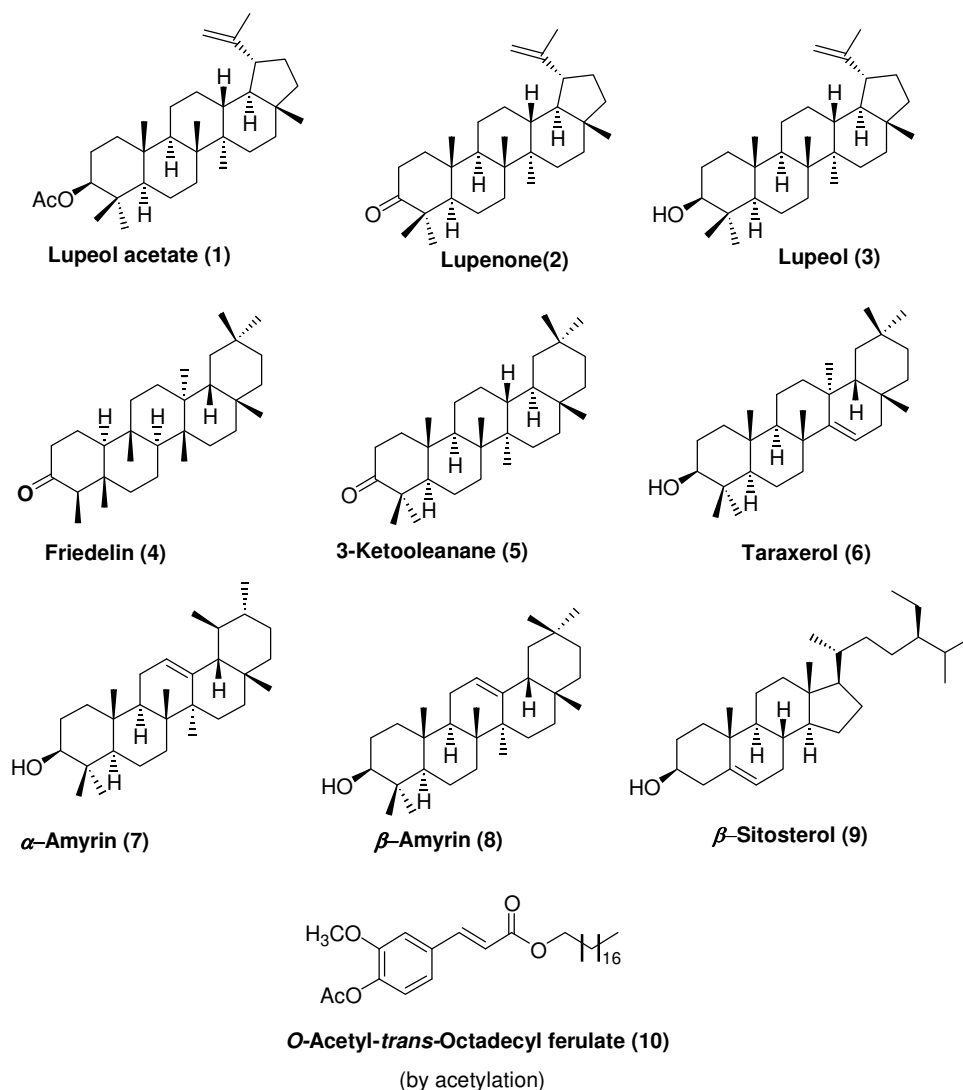
รูป 8 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AMH-R

ส่วนสกัดย่อย F2, F3 และ F4 เมื่อแยกต่อด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สารได้ 10 ชนิด เป็นสารกลุ่ม pentacyclic triterpenoids 8 ชนิด sterol 1 ชนิด และ ferulic ester 1 ชนิด (รูป 9) ดังนี้

1. Lupeol acetate พบใน F2 และ F3 น้ำหนัก 20.6 mg
2. Lupenone พบใน F2 และ F3 น้ำหนัก 15.1 mg
3. Lupeol พบใน F2 และ F3 น้ำหนัก 284.4 mg

4. Friedelin พบใน F2 และ F3 น้ำหนัก 50.2 mg
5. 3-Ketooleanane พบใน F3 น้ำหนัก 2.1 mg
6. Taraxerol พบใน F3 และ F4 น้ำหนัก 15.4 mg
7. α -Amyrin และ β -Amyrin พบเป็นสารผสมใน F3 และผสมกับ lupeol ในอัตราส่วน α -amyrin ต่อ β -amyrin ต่อ lupeol เท่ากับ 2 : 1 : 1 น้ำหนักสารผสม 57.7 mg
8. β -Sitosterol พบใน F3 และ F4 น้ำหนัก 158.1 mg
9. *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate พบใน F3 หลังจากทำ acetylation น้ำหนัก 2.4 mg

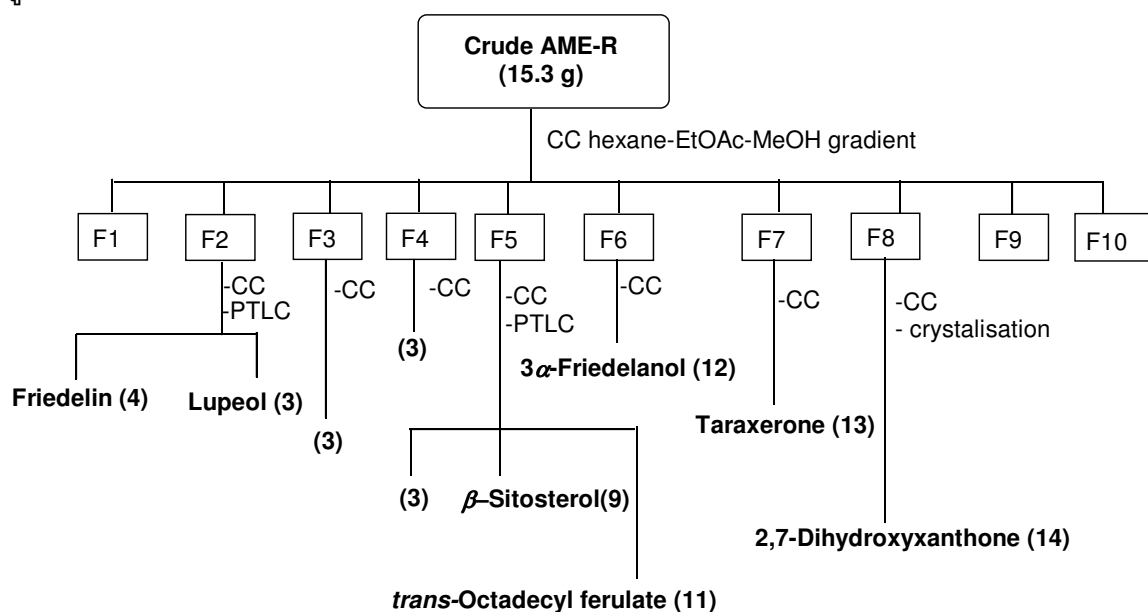
ส่วนสกัดย่อย F3.7 มีสารกลุ่ม triterpenes ผสมกับ phenolic compounds เมื่อทำ acetylation โดยใช้ acetic anhydride และ pyridine เป็น reagent และ solvent ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นแยกด้วยคอลัมโครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด lupeol acetate (1) และ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้น่าจะมาจากการเกิด acetylation ของสาร lupeol (3) และ *trans*-octadecyl ferulate (11) ที่เป็นองค์ประกอบในเหง้าของประทัดดอย



รูป 9 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AMH-R

3.4.2 สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต (AME-R)

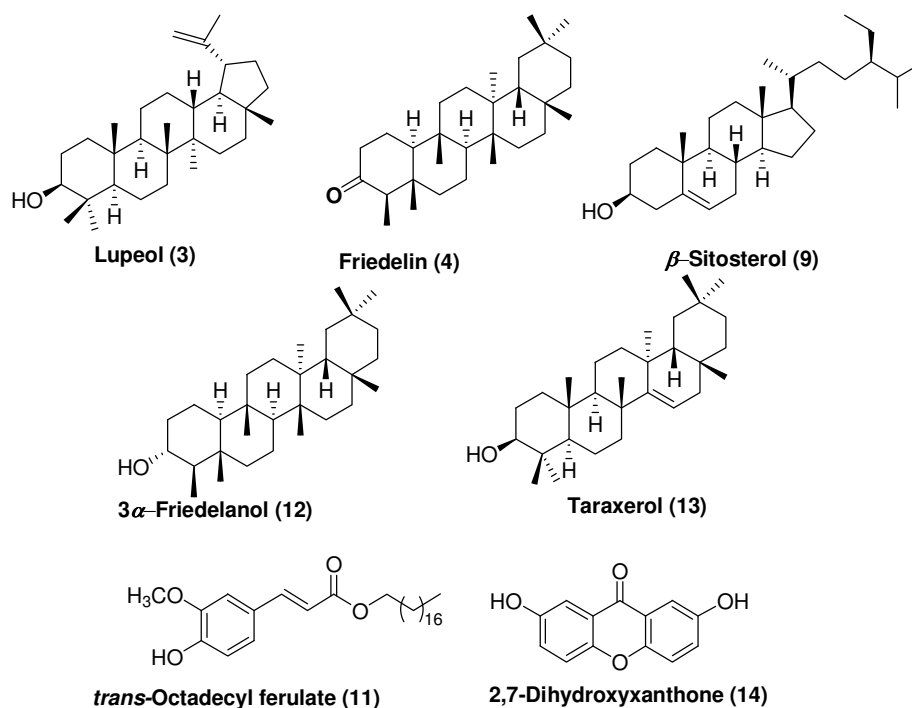
สารสกัดจากเหง้าประทัดดอย ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AME-R) น้ำหนัก 15.3 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟีใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AME-R) ถูกแยกเป็น 10 ส่วน (F1-F10) ดังรูป 10



รูป 10 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-R

ส่วนสกัดย่อย F2 ถึง F8 เมื่อแยกด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR) เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์โครงสร้างสารได้ 7 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่ซ้ำกับที่พบในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนของเหง้า 3 ชนิด ได้แก่ lupeol (3) friedelin (4) และ β -sitosterol (9) สาร 7 ชนิดที่แยกได้ในสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต เป็นสารกลุ่ม pentacyclic triterpene 4 ชนิด sterol 1 ชนิด cinnamic ester 1 ชนิด และ xanthone 1 ชนิด (รูป 10) ดังนี้

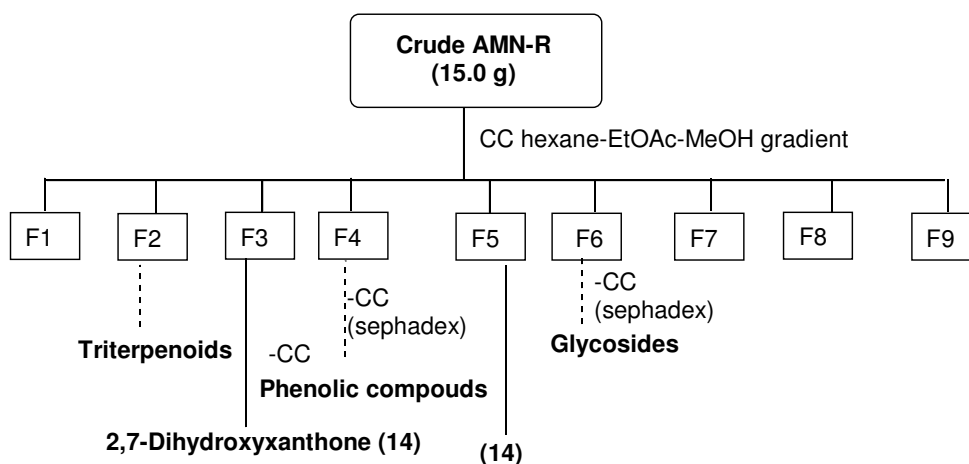
- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Lupeol | พบใน F2, F3, F4 และ F5 น้ำหนัก 92.4 mg |
| 2. Friedelin | พบใน F2 น้ำหนัก 5.4 mg |
| 3. β -Sitosterol | พบใน F5 น้ำหนัก 5.9 mg |
| 4. <i>trans</i> -Octadecyl ferulate | พบใน F5 น้ำหนัก 9.6 mg |
| 5. 3 α -friedelanol | พบใน F6 น้ำหนัก 11.0 mg |
| 6. Taraxerone | พบใน F7 น้ำหนัก 11.3 mg |
| 7. 2,7-Dihydroxyxanthone | พบใน F8 น้ำหนัก 457.0 mg |



รูป 11 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AME-R

3.4.3 สารสกัดหยาบชั้นนอร์มอลบิวทานอลจากเหง้า (AMN-R)

สารสกัดจากเหง้าประทัดดอย ที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอล (AMN-R) น้ำหนัก 15.0 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟีใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AMN-R) ถูกแยกเป็น 9 ส่วน (F1-F9) ดังรูป 12

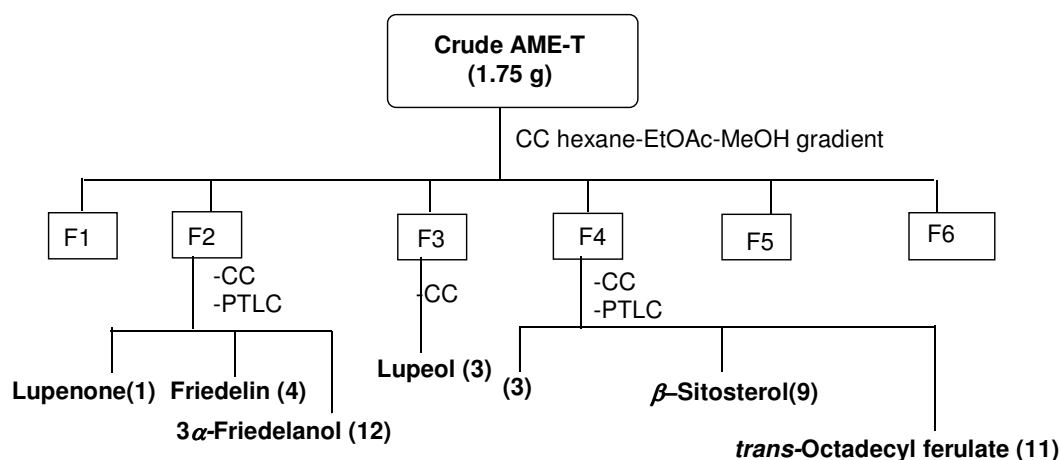


รูป 12 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AMN-R

ส่วนสกัดย่อย F2 ถึง F6 เมื่อแยกด้วย column chromatography โดยใช้ ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และแยกด้วย column chromatography โดยใช้ sephadex LH20 เป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์โครงสร้างสารได้ 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (**14**) พบใน F4 และ F5 น้ำหนัก 52.6 mg ซึ่งเป็นสารที่พบในสารสกัดหยาดชั้นเอทิลอะซิเตตของเหง้าเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่ม triterpenoids ใน F2 phenolic compounds ใน F4 และ glycosides ใน F6 แต่เมื่อนำมาแยกต่อ พบว่าไม่สามารถแยกและวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในส่วนสกัดย่อยเหล่านี้

3.5 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากกิ่งประทัดดอย

สารสกัดจากกิ่งประทัดดอย ที่สกัดด้วย เอทิลอะซิเตต (AME-T) นำมาแยกหาองค์ประกอบทางเคมี ด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟีใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต จำนวน 2 ครั้ง ครั้งแรก เริ่มจากสารสกัดหยาด AME-T น้ำหนัก 1.75 กรัม ถูกแยกเป็น ส่วนสกัดย่อย 6 ส่วน (F1-F6) ดังรูป 13

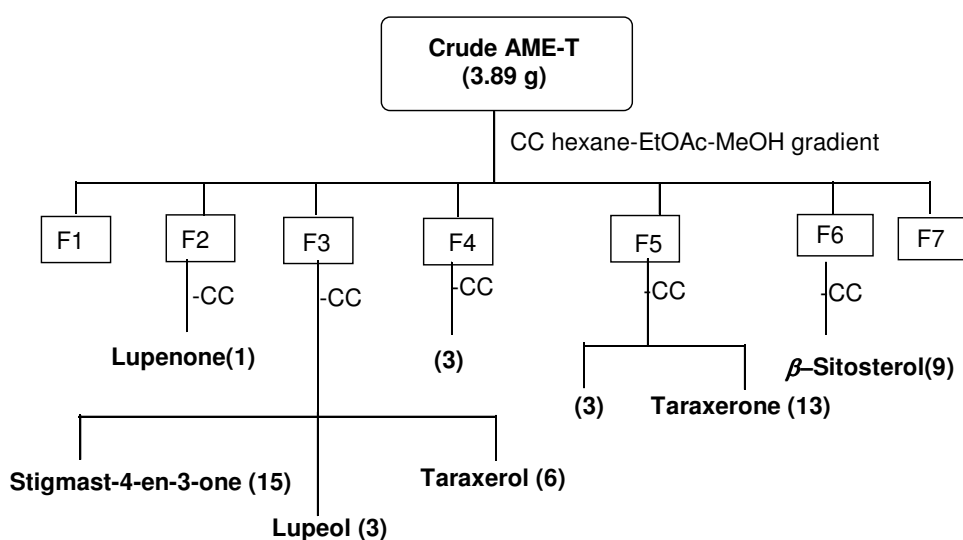


รูป 13 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-T ครั้งแรก

ส่วนสกัดย่อย F2 ถึง F4 เมื่อแยกด้วย column chromatography โดยใช้ ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์โครงสร้างสารได้ 6 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่ซ้ำกับที่พบในสารสกัดหยาดชั้นเฮกเซน และสารสกัดหยาดชั้นเอทิลอะซิเตตของเหง้า สารทั้ง 6 ชนิดที่แยกได้เป็นสารกลุ่ม pentacyclic triterpenes 4 ชนิด sterol 1 ชนิด และ cinnamic ester 1 ชนิด ดังนี้

- | | |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| 1. Lupenone | พบใน F2 น้ำหนัก 4.6 mg |
| 2. Lupeol | พบใน F3 และ F4 น้ำหนัก 344.0 mg |
| 3. Friedelin | พบใน F2 น้ำหนัก 3.3 mg |
| 4. 3α -friedelanol | พบใน F2 น้ำหนัก 1.8 mg |
| 5. β -Sitosterol | พบใน F4 น้ำหนัก 9.0 mg |
| 6. <i>trans</i> -Octadecyl ferulate | พบใน F4 น้ำหนัก 5.0 mg |

การแยกสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตของกิ่งประทัดดอย ครั้งที่สอง เริ่มจากสารสกัดหยาบ AME-T น้ำหนัก 3.89 กรัม ถูกแยกเป็นส่วนสกัดย่อย 7 ส่วน (F1-F7) ดังรูป 14

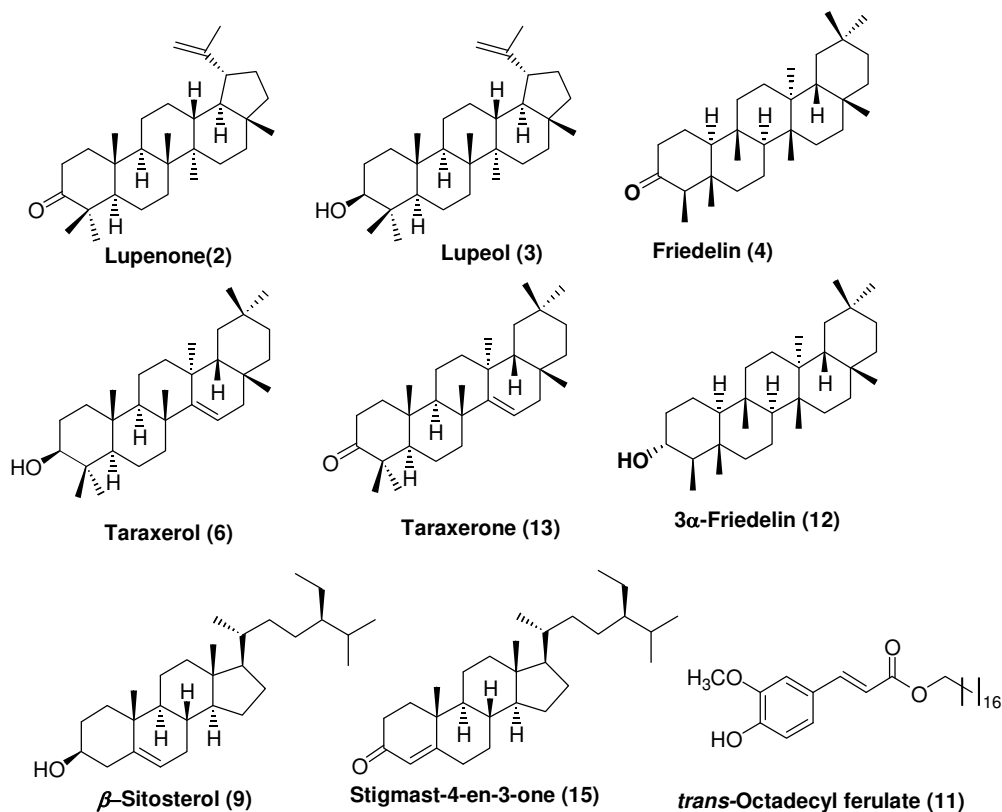


รูป 14 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AME-T ครั้งที่ 2

ส่วนสกัดย่อย F2 ถึง F6 เมื่อแยกต่อด้วย column chromatography โดยใช้ ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี สามารถแยกและวิเคราะห์โครงสร้างสารได้ 6 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่ซ้ำกับการแยกสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตของกิ่งครั้งแรก 3 ชนิด คือ lupenone (2), lupeol (3) และ β -sitosterol (9) และพบเพิ่มเติมอีก 3 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่ซ้ำกับที่พบในสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตของเหง้า 2 ชนิด คือ taraxerol (6) และ taraxerone (13) ส่วนสารที่พบใหม่อีก 1 ชนิด คือ stigmast-4-en-3-one (15) สารทั้ง 6 ชนิดที่แยกได้มีรายละเอียดดังนี้

- | | |
|------------------------|--|
| 1. Lupenone | พบใน F2 น้ำหนัก 7.8 mg |
| 2. Lupeol | พบใน F3 F4 และ F5 น้ำหนัก 170.9 mg |
| 3. Taraxerol | พบใน F3 และผสมกับ lupeol น้ำหนัก 36.9 mg |
| 4. Taraxerone | พบใน F5 น้ำหนัก 51.0 mg |
| 5. β -Sitosterol | พบใน F6 น้ำหนัก 10.0 mg |
| 6. Stigmast-4-en-3-one | พบใน F3 น้ำหนัก 6.2 mg |

ดังนั้นจากการแยกและวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตของกิ่ง
ประทัดดอย 2 ครั้ง พบสาร 9 ชนิด เป็นสารกลุ่ม pentacyclic triterpenes 6 ชนิด sterols 2 ชนิด และ
cinnamic ester 1 ชนิด ดังแสดงในรูป 15



รูป 15 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AME-T

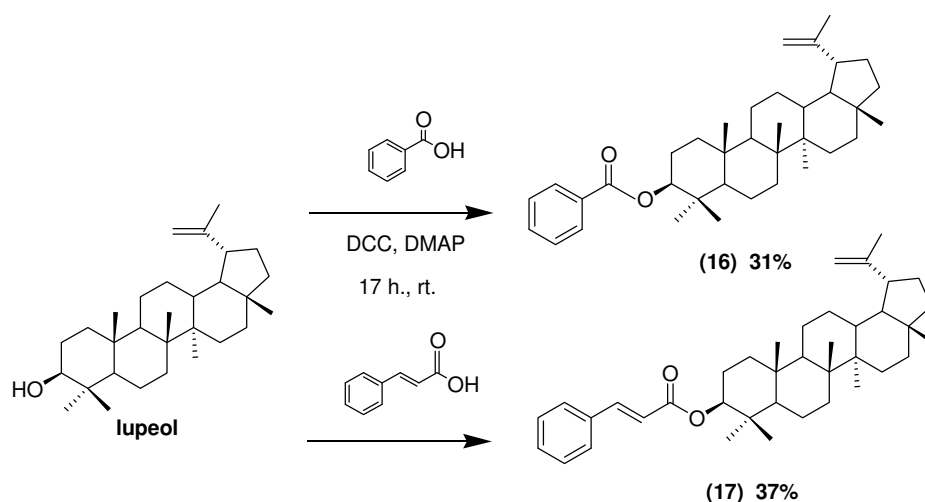
3.6 การสังเคราะห์เอสเทอร์ของ lupeol และ β -sitosterol^[10]

เนื่องจาก lupeol และ β -sitosterol เป็นสารองค์ประกอบที่พบมากในประทัดดอย ดังนั้นจึง ทำ
การสังเคราะห์เอสเทอร์ของ lupeol และ β -sitosterol โดยทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับ benzoic acid
และ cinnamic acid เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.6.1 การสังเคราะห์ lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17)

เติม lupeol (20 mg, 0.047 mmol) ในสารละลายผสมของ benzoic acid (5.6 mg, 0.046 mmol)
หรือ cinnamic acid (7.08 mg, 0.047 mmol) และ 4-(dimethylamino)-pyridine (DMAP) (1.83 mg,
0.015 mmol) ในไดคลอโรมีเทน (2 ml) จากนั้นคนให้อุ่นหมักเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายของ
dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (9.8 mg, 0.046 mmol) ในไดคลอโรมีเทน (1 ml) ในสารผสม จากนั้น

คนที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 17 ชั่วโมง จะมีตะกอนสีขาวของ dicyclohexylurea เกิดขึ้นในสารผสมที่เกิดปฏิกิริยา กรอง dicyclohexylurea ออกจากสารผสม และ นำสารละลายที่ได้มาทำจัดเบสด้วยสารละลายอิ่มตัวของ ammonium chloride และล้างด้วยน้ำ จากนั้นกำจัดน้ำที่ค้างอยู่ด้วย anhydrous sodium sulfate นำสารละลายไประเหยตัวทำละลาย จะได้ สารสกัดหยาบของผลิตภัณฑ์ (crude product) นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี preparative TLC โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสม 10 % เอทิลอะซิเตต/เฮกเซน เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ผลิตภัณฑ์ lupeol benzoate (16) หนัก 5.1 mg มี lupeol เหลือ 6.8 mg คิดเป็น %yield เท่ากับ 31% ส่วน lupeol cinnamate (17) ได้ผลิตภัณฑ์หนัก 6.0 mg มี lupeol เหลือ 7.5 mg คิดเป็น %yield เท่ากับ 37% ดังแสดงในรูป 16

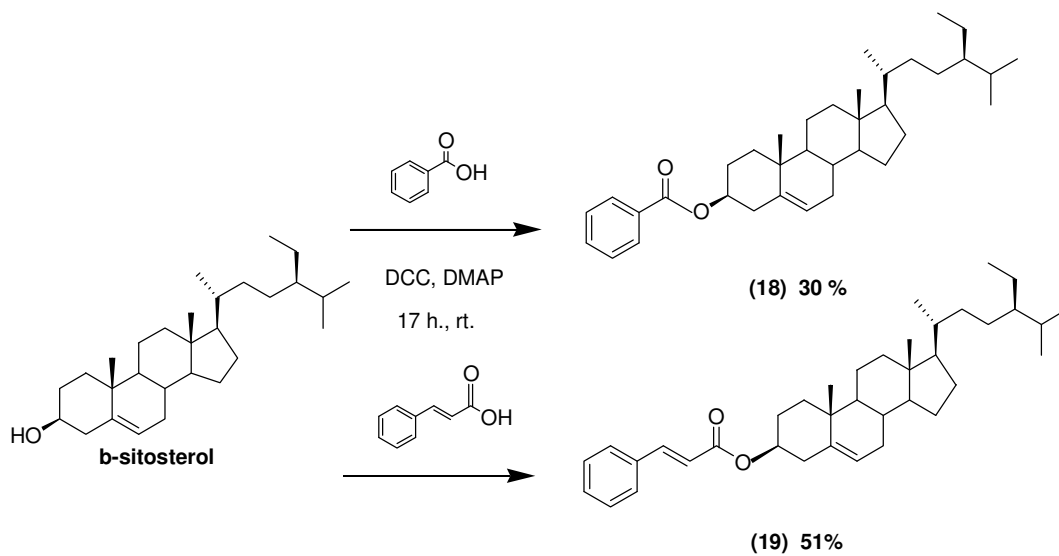


รูป 16 แผนภาพการสังเคราะห์ lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17)

3.6.2 การสังเคราะห์ β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19)

เติม β -sitosterol (20 mg, 0.048 mmol) ในสารละลายผสมของ benzoic acid (5.6 mg, 0.046 mmol) หรือ cinnamic acid (7.08 mg, 0.047 mmol) และ 4-(dimethylamino)-pyridine (DMAP) (1.83 mg, 0.015 mmol) ในไดคลอโรมีเทน (2 ml) จากนั้นคนที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายของ dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (9.8 mg, 0.046 mmol) ในไดคลอโรมีเทน (1 ml) ในสารผสม จากนั้นคนที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 17 ชั่วโมง จะมีตะกอนสีขาวของ dicyclohexylurea เกิดขึ้นในสารผสมที่เกิดปฏิกิริยา กรอง dicyclohexylurea ออกจากสารผสม และ นำสารละลายที่ได้มาทำจัดเบสด้วยสารละลายอิ่มตัวของ ammonium chloride และล้างด้วยน้ำ จากนั้นกำจัดน้ำที่ค้างอยู่ด้วย anhydrous sodium sulfate นำสารละลายไประเหยตัวทำละลาย จะได้ สารสกัดหยาบของผลิตภัณฑ์ (crude product) นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี preparative TLC โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสม 10 % เอทิลอะซิเตต/เฮกเซน เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ผลิตภัณฑ์ β -sitosterol

benzoate (18) หนัก 5.2 mg มี β -sitosterol เหลือ 7.0 mg คิดเป็น %yield เท่ากับ 30% ส่วน β -sitosterol cinnamate (19) ได้ผลิตภัณฑ์หนัก 7.7 mg มี β -sitosterol เหลือ 8.5 mg คิดเป็น %yield เท่ากับ 51% ดังแสดงในรูป 17



รูป 17 แผนภาพการสังเคราะห์ β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19)

บทที่ 4

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสะเภาลม

4.1 การเตรียมพืชสะเภาลม

สะเภาลม (*Agapetes hosseana* Diels) จากดอยผ้าห่มปก จังหวัดเชียงใหม่ เก็บเดือน สิงหาคม 2551 มี voucher specimen (QBG No.15988) ระบุโดยองค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เชียงใหม่ นำสะเภาลมแยกเป็นส่วนต่าง ๆ (รูป 18) ได้แก่ เหง้า กิ่ง และ ใบ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผึ่งให้แห้งและบดละเอียด

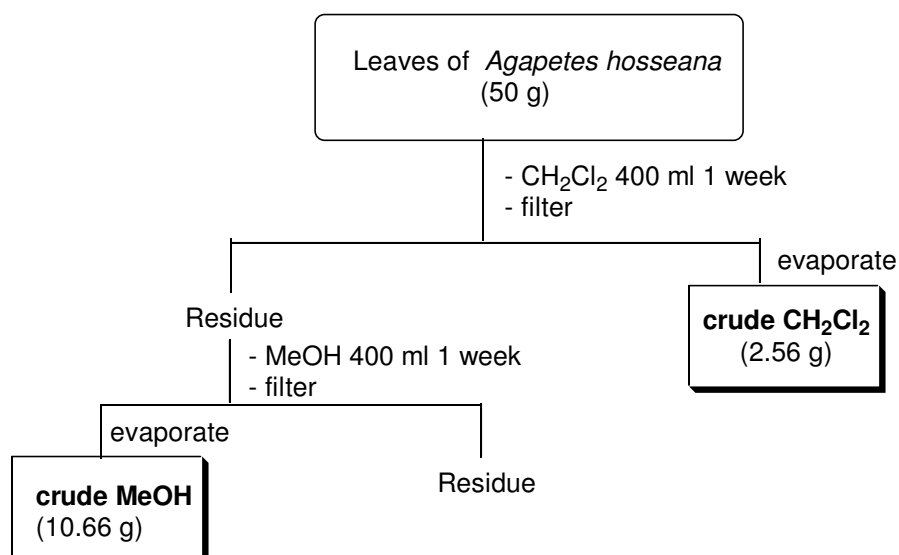


รูป 18 ภาพ ใบ กิ่ง และ เหง้าสะเภาลม

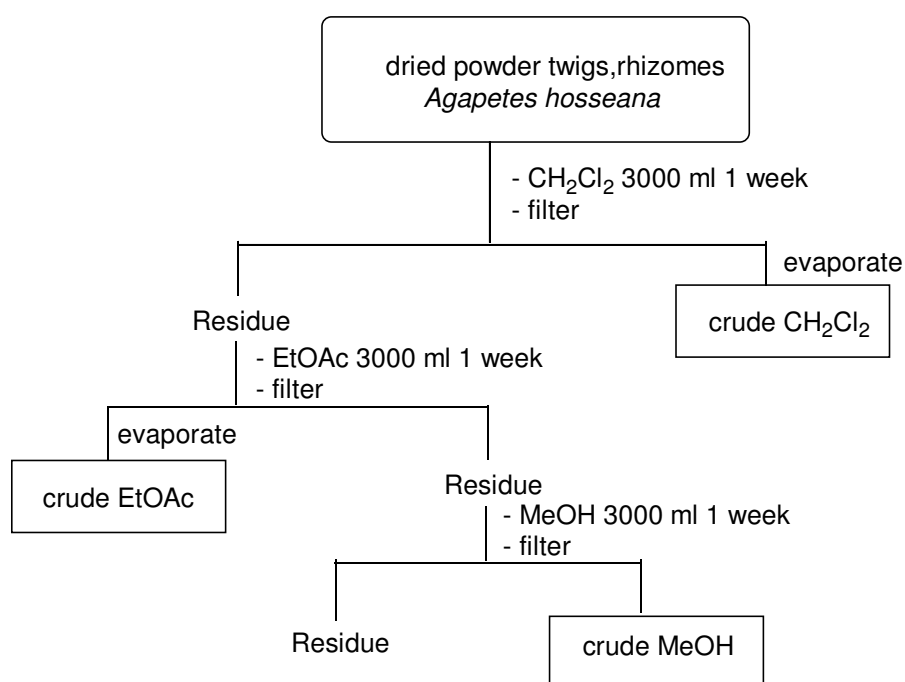
4.2 การสกัดสารองค์ประกอบ

นำ ใบ ของสะเภาลมที่แห้งและบดละเอียด น้ำหนัก 50.00 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน และ เมทานอล ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (รูป 19) หลังจากกระเหยตัวทำละลายออก จะได้สารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลของใบสะเภาลม (AHD-L และ AHM-L) น้ำหนักและ % ของสารสกัดหยาบที่ได้แสดงในตาราง 8

ส่วนกิ่ง และ เหง้า ของสะเภาลมที่แห้งและบดละเอียด น้ำหนัก 304.72 และ 318.20 กรัม นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และ เมทานอล ตามลำดับ (รูป 20) หลังจากกระเหยตัวทำละลายออก จะได้สารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลของกิ่ง และ เหง้าสะเภาลม น้ำหนักและ % ของสารสกัดหยาบที่ได้แสดงในตาราง 8



รูป -19 แผนภาพการสกัดใบของสะเมอลม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์



รูป -20 แผนภาพการสกัดกิ่ง และ เหง้า ของสะเมอลม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตาราง 8 สารสกัดหยาบจาก ใบ กิ่ง และ เหง้า ของสะเภาลม

ส่วนของ ประดัดดอย	น้ำหนักแห้ง (g)	สารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (g)	% สารสกัดเทียบ น้ำหนักแห้ง
ใบสะเภาลม	50.00	CH ₂ Cl ₂ (AHD-L)	2.56	5.1
		MeOH (AHM-L)	10.66	21.3
กิ่งสะเภาลม	304.72	CH ₂ Cl ₂ (AHD-T)	2.45	0.8
		EtOAc (AHE-T)	2.50	0.8
		MeOH (AHM-T)	14.88	4.9
เหง้าสะเภาลม	318.72	CH ₂ Cl ₂ (AHD-R)	2.97	0.9
		EtOAc (AHE-R)	1.54	0.5
		MeOH (AHM-R)	23.73	7.4

4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

4.3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

นำสารสกัดหยาบสะเภาลม จำนวน 8 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยใช้ DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) เป็นรีเอเจนต์ทดสอบ และใช้ วิตามินซี และ BHT (Butyllated Hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งทำการศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging Activity)^[9] ตามวิธีดังนี้

1. เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบในเมทานอลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันในช่วง 2-500 $\mu\text{g/ml}$
2. เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 μM ปริมาตร 2 ml ลงในสารละลายสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น ที่เตรียมไว้ใน ข้อ 1 (ปริมาตร 1 ml) เขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที
3. เตรียมสารละลาย control (ผสม DPPH ความเข้มข้น 100 μM ปริมาตร 2 ml กับ เมทานอล ปริมาตร 1 ml) เขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV spectronic 20
5. คำนวณ % DPPH scavenging effect จากสมการ

$$\% \text{ DPPH scavenging effect} = \frac{\text{Absorbance (control)} - \text{Absorbance (sample)}}{\text{Absorbance (control)}} \times 100$$

6. หาค่า IC₅₀ จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง และ % DPPH scavenging โดยใช้โปรแกรม Priprobit Version 1.63 ที่ความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดจากใบ กิ่ง และ เหง้า ที่สกัดด้วยเมทานอล (AHM-L, AHM-T, AHM-R) และสารสกัดจากกิ่ง และ เหง้า ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-T, AHE-R) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดี มีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 2.86 – 6.69 $\mu\text{g/ml}$ แต่ยังมีค่าสูงกว่าสารมาตรฐาน วิตามินซี และ BHT ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.65 และ 0.52 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากใบ กิ่ง และ เหง้า ที่สกัดด้วยเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ดังแสดงใน ตาราง 9-10

ตาราง 9 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดจากสะเปาผล

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (control)	Absorbance (sample)*	% DPPH scavenging	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
AHD-L	33.73	0.502	0.499	0.60	5.6×10^4
	67.47		0.498	0.80	
	101.2		0.498	0.80	
	134.93		0.494	1.59	
	168.67		0.490	2.39	
AHM-L	1.77	0.602	0.436	27.57	2.86
	3.55		0.247	58.97	
	5.32		0.142	76.41	
	7.09		0.041	93.19	
	8.87		0.036	94.02	
AHD-T	33.73	0.331	0.330	0.30	2.76×10^3
	67.47		0.323	2.41	
	101.2		0.314	5.14	
	134.93		0.314	5.14	
	168.67		0.315	5.07	
AHE-T	1.75	0.475	0.432	9.05	4.32
	3.51		0.276	41.89	
	5.26		0.240	49.47	
	7.01		0.076	84.00	
	8.77		0.069	85.47	
AHM-T	3.41	0.538	0.426	20.81	6.69
	6.83		0.288	46.46	
	10.24		0.180	66.54	
	13.64		0.065	87.92	
	17.07		0.040	92.56	
AHD-R	33.60	0.269	0.238	11.52	4.9×10^2
	67.20		0.221	17.84	
	100.80		0.205	23.79	
	134.4		0.197	26.76	
	168.00		0.182	32.34	

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (control)	Absorbance (sample)*	% DPPH scavenging	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
AHE-R	3.37	0.378	0.265	29.89	5.46
	6.74		0.178	52.91	
	10.12		0.074	80.42	
	13.49		0.035	90.74	
	16.87		0.032	91.53	
AHM-R	3.39	0.560	0.329	41.25	3.56
	6.77		0.072	87.14	
	10.16		0.036	93.57	
	13.49		0.036	93.57	
	16.93		0.035	93.75	
Vitamin C	0.33	0.538	0.426	20.18	0.65
	0.67		0.288	46.46	
	1.00		0.180	66.54	
	1.33		0.065	87.92	
	1.67		0.040	92.56	
BHT	0.33	0.540	0.394	27.03	0.52
	0.67		0.216	60.00	
	1.00		0.096	82.22	
	1.33		0.041	92.40	
	1.67		0.039	92.78	

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตาราง 10 สรุปผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดจากสะเปาผล

Crude extracts	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	Antioxidant activity*
AHD-T	2.76×10^3	Inactive
AHE-T	4.32	Strongly active
AHM-T	6.69	Moderately active
AHD-R	490	Inactive
AHE-R	5.46	Moderately active
AHM-R	3.56	Strongly active
AHD-L	5.6×10^4	Inactive
AHM-L	2.86	Strongly active
Vitamin C	0.65	Strongly active
BHT	0.52	Strongly active

* Inactive IC₅₀ > 50 Weakly active IC₅₀ > 20 – 50 Moderately active IC₅₀ = 5 – 20 Strongly active < 5

4.3.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง (anti-proliferation)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นำสารสกัดหยาบจากใบ กิ่ง และ เหง้าของสะเภาลม จำนวน 8 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด 2 ชนิด (A549 และ MDA-MB-231) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) เทียบกับ ยา cisplatin และ mitomycin C เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยเซลล์แต่ละเชื้อสายจะได้รับสารสกัดจากสะเภาลมที่ความเข้มข้น 0-100 $\mu\text{g/ml}$ ยา cisplatin และ mitomycin C ที่ความเข้มข้น 0-10 $\mu\text{g/ml}$ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเซลล์ได้รับสารตามระยะเวลาที่กำหนด นำเซลล์มาตรวจสอบความมีชีวิตด้วยเทคนิค SRB แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Priprobit ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดสะเภาลม ที่มีผลต่อเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในที่นี้จะแสดงค่าเพียง 2 ค่า คือ IC_{20} และ IC_{50} ดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดสะเภาลม ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)

สารทดสอบ	A549		NCI-H1299		MDA-MB-231	
	IC_{20} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{20} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{20} ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
AHD-L	6.36	42.64	16.76	236.24	21.48	66.21
AHM-L	45.62	509.09	-	-	317.99	4.46×10^3
AHD-T	3.02	15.54	10.10	59.18	8.25	50.62
AHE-T	84.71	125.88	-	-	23.82	181.10
AHM-T	218.06	3.41×10^3	-	-	381.3	1.18×10^4
AHD-R	4.37	22.25	77.15	1652.6	12.38	79.43
AHE-R	25.25	72.15	-	-	3.18	22.22
AHM-R	53.80	289.41	-	-	31.49	549.57
cisplatin	0.42	46.29	3.17	18.55	8.97	35.11
Mitomycin C	0.24	1.37	0.03	0.24	2.21	11.77

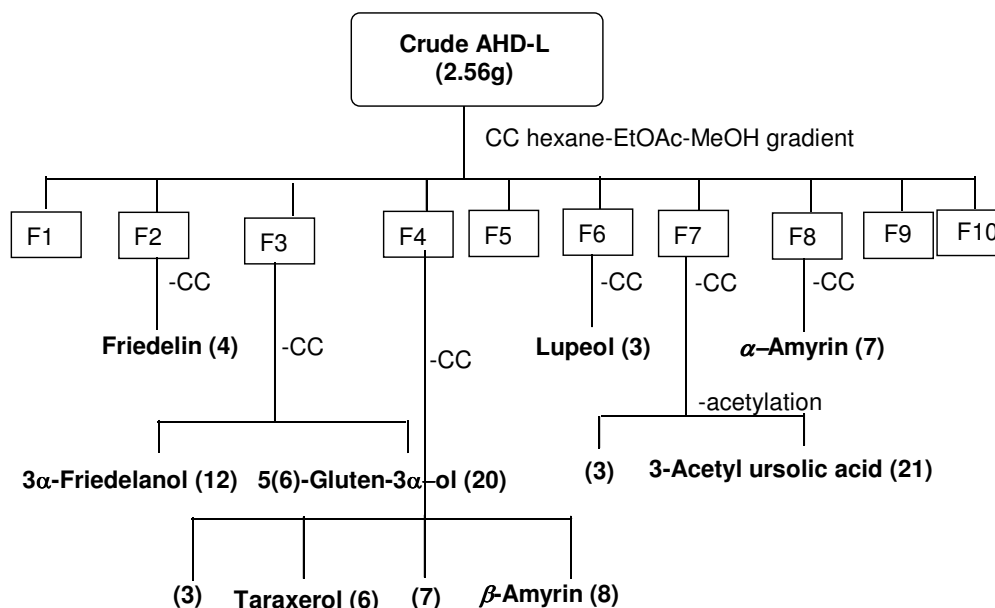
เมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบสะเภาลม ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) และมะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) พบว่า สารสกัดหยาบจากใบที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-L) สารสกัดหยาบจากกิ่งที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-T) และสารสกัดหยาบจากเหง้าที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และ เอทิลอะซิเตต (AHD-R, AHE-R) มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 15.54 – 79.43 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีค่ามากกว่า 20 $\mu\text{g/ml}$ แต่น้อยกว่า 100 $\mu\text{g/ml}$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดเหล่านี้สามารถยับยั้งการ

แบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งได้ในระดับปานกลาง (moderately active) นอกจากนี้ยังพบว่า ผลต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ของสารสกัดหยาบจากกิ่งสะเปาลมที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-T) มีค่า IC_{50} 59.18 $\mu g/ml$ แสดงให้ทราบว่าสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ในระดับปานกลาง (moderately active) และเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน พบว่า สารสกัดจากใบ กิ่ง และเหง้าที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-L, AHD-T, AHD-R) แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ดีกว่ายา cisplatin ในขณะที่สารสกัดจากเหง้าที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-R) แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) ได้ดีกว่ายา cisplatin อย่างไรก็ตามสารสกัดจากสะเปาลมที่ทดสอบทั้งหมด แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง ทั้ง 3 ชนิดได้ต่ำกว่ายา mitomycin C

4.4 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากใบสะเปาลม

4.4.1 สารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-L)

สารสกัดจากใบสะเปาลม ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-L) น้ำหนัก 2.56 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHD-L) ถูกแยกเป็น 10 ส่วน (F1-F10) ดังรูป 21



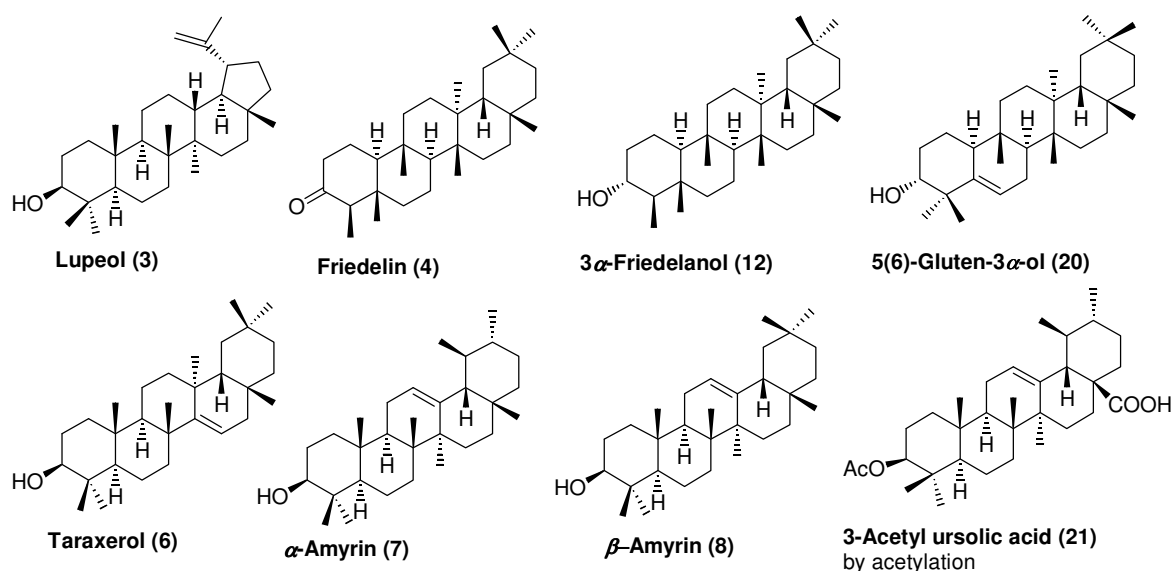
รูป 21 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-L

ส่วนสกัดย่อย F2, F3, F4, F6, F7 และ F8 เมื่อแยกต่อด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์

แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สารกลุ่ม pentacyclic triterpenoids ได้ 8 ชนิด (รูป 22) ดังนี้

1. Friedelin พบใน F2 น้ำหนัก 160.0 mg
2. 3α -Friedelanol พบใน F3 น้ำหนัก 32 mg และพบเป็นสารผสมใน F3 น้ำหนัก 125.3 mg
3. 5(6)-Gluten- 3α -ol พบใน F3 น้ำหนัก 125.3 mg โดยสารผสมกับ 3α -friedelanol ในอัตราส่วน 2:1
4. Lupeol พบใน F6 และ F7 น้ำหนัก 1.7 mg และพบเป็นสารผสมใน F4 น้ำหนัก 445.1 mg
5. Taraxeoal พบใน F4 น้ำหนัก 445.1 mg โดยผสมกับ lupeol, α -amyrin และ β -amyrin
6. α -Amyrin พบใน F8 1.6 mg และพบเป็นสารผสมใน F4 น้ำหนัก 445.1 mg
7. β -Amyrin พบใน F4 น้ำหนัก 445.1 mg โดยผสมกับ lupeol, α -amyrin และ taraxeoal
8. 3-Acetyl ursolic acid พบใน F7 เมื่อทำ acetylation โดยใช้ acetic anhydride และ pyridine เป็น reagent และ solvent ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นแยกด้วยคอลัมโครมาโทกราฟี ซึ่งสารชนิดนี้น่าจะมาจากการเกิด acetylation ของสาร ursolic acid ที่เป็นองค์ประกอบในใบของสะเภาลม

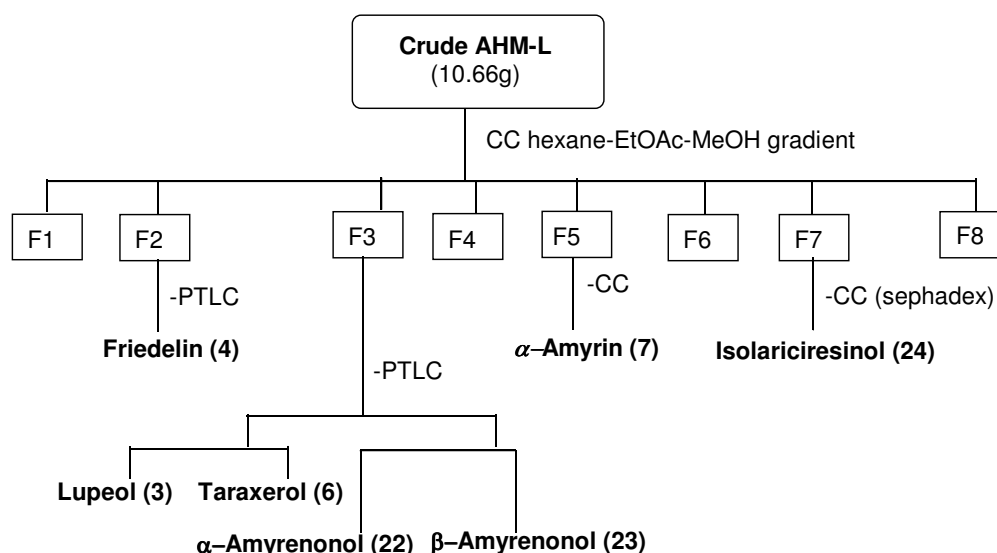
สารไตรเทอร์พีนทั้ง 8 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของใบสะเภาลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งและเหง้าของประทัดดอย 6 ชนิด ได้แก่ lupeol (3) friedelin (4) Taraxerol (6) α -Amyrin (7) β -Amyrin (8) และ 3α -Friedelanol (12) ส่วนสารไตรเทอร์พีนอีก 2 ชนิด คือ 5(6)-gluten- 3α -ol (20) และ 3-acetyl ursolic acid (21) เป็นสารที่พบเพิ่มเติม และยังไม่เคยมีรายงานในพืชทั้งสองชนิดนี้



รูป 22 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-L

4.4.2 สารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (AHM-L)

สารสกัดจากใบสะเปาลม ที่สกัดด้วยเมทานอล (AHM-L) น้ำหนัก 10.66 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHM-L) ถูกแยกเป็น 8 ส่วน (F1-F8) ดังรูป 23



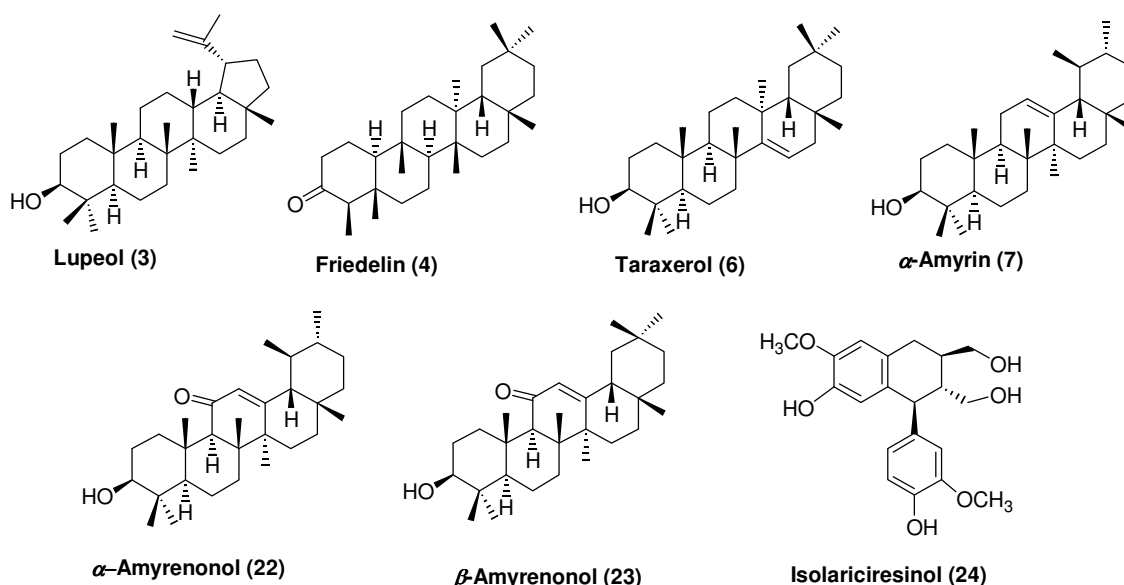
รูป 23 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-L

ส่วนสกัดย่อย F2, F3, F5 และ F7 เมื่อแยกด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจล หรือ sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ ดังแผนภาพรูป 23 จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สาร ได้ 7 ชนิด เป็นกลุ่ม pentacyclic triterpenoids 6 ชนิด และ lignan 1 ชนิด (รูป 24) ดังนี้

1. Friedelin พบใน F2 น้ำหนัก 3 mg
2. Lupeol และ Taraxerol พบเป็นสารผสมใน F3 น้ำหนัก 4.6 mg
3. α -Amyrin พบใน F5 น้ำหนัก 1.7 mg
4. α -Amyrenonol และ β -Amyrenonol พบเป็นสารผสมใน F3 ในอัตราส่วน $\alpha : \beta$ ประมาณ 6:1 น้ำหนัก 3.8 mg
5. Isolariciresinol เป็นสารกลุ่ม lignan พบใน F7 น้ำหนัก 81.6 mg

สารทั้ง 7 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของใบสะเปาลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของใบสะเปาลม และถูกพบในกิ่งและเหง้าของประทัดดอย 4 ชนิด ได้แก่ lupeol (3) friedelin (4) taraxerol (6) และ α -amyrin (7) ส่วนสารไตร

เทอร์พีนอีก 2 ชนิด คือ α -amyrenonol (22) และ β -amyrenonol (23) รวมถึงลิแกน 1 ชนิด คือ isolariciresinol (24) เป็นสารที่พบเพิ่มเติม และยังไม่เคยมีรายงานในพืชทั้งสองชนิดนี้

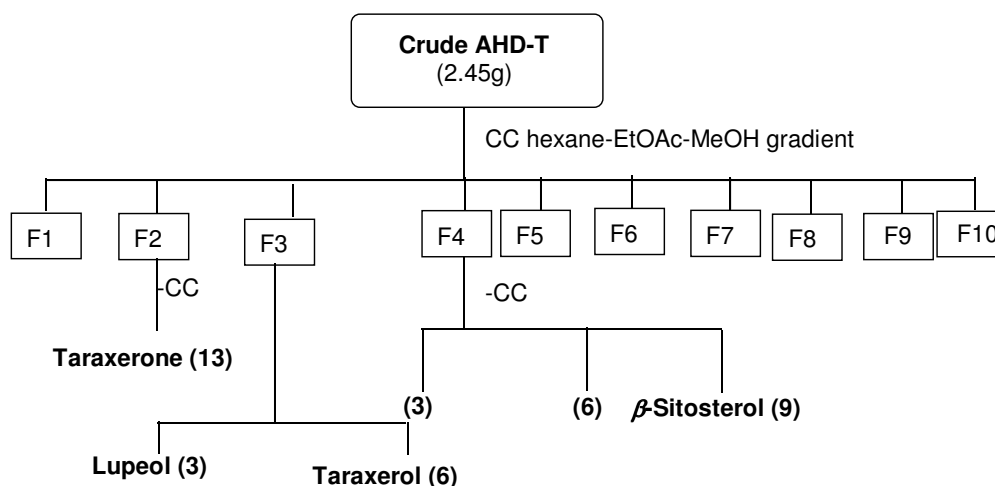


รูป 24 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-L

4.5 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากกิ่งสะเกอลม

4.5.1 สารสกัดหยาดชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-T)

สารสกัดจากกิ่งสะเกอลม ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-T) น้ำหนัก 2.45 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHD-T) ถูกแยกเป็น 10 ส่วน (F1-F10) ดังรูป 25

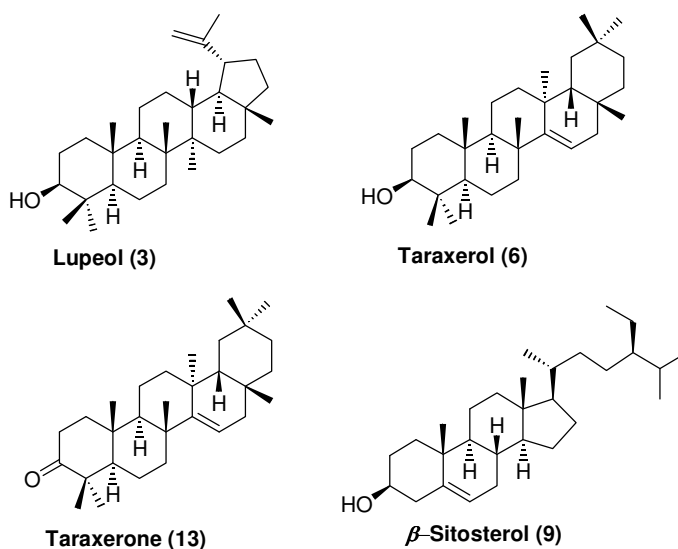


รูป 25 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-T

ส่วนสกัดย่อย F2, F3 และ F4 เมื่อแยกต่อด้วย column chromatography โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สาร 4 ชนิด เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 3 ชนิด และ sterol 1 ชนิด (รูป 26) ดังนี้

1. Taraxerone พบใน F2 น้ำหนัก 150 mg
2. Lupeol และ Taraxerol พบเป็นสารผสมใน F3 และ F4 น้ำหนัก 54.1 mg
3. β -Sitosterol พบใน F4 น้ำหนัก 40.6 mg

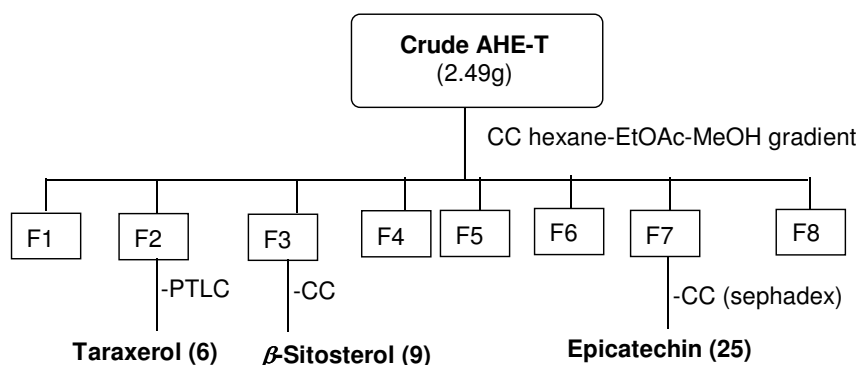
สารทั้ง 4 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของกิ่งสะเทาะลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งและเหง้าของประทัดดอย แต่มีสารเพิ่มเติม 2 ชนิดที่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบในใบสะเทาะลม คือ taraxerone (13) และ β -sitosterol (9)



รูป 26 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-T

4.5.2 สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต (AHE-T)

สารสกัดจากกิ่งสะเทาะลม ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-T) น้ำหนัก 2.49 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHE-T) ถูกแยกเป็น 8 ส่วน (F1-F8) ดังรูป

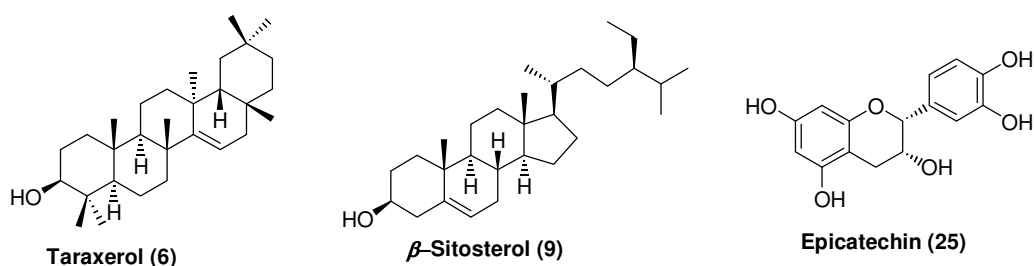


รูป 27 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHE-T

ส่วนสกัดย่อย F2, F3 และ F7 เมื่อแยกด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจล หรือ sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ ดังแผนภาพรูป 27 จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สาร 3 ชนิด (รูป 28) ดังนี้

1. Taraxerol เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids พบใน F2 น้ำหนัก 5.0 mg
2. β -Sitosterol เป็นสารประเภท sterol พบใน F3 น้ำหนัก 1.9 mg
3. Epicatechin เป็นสารประเภท proanthocyanidin พบใน F7 น้ำหนัก 29.6 mg

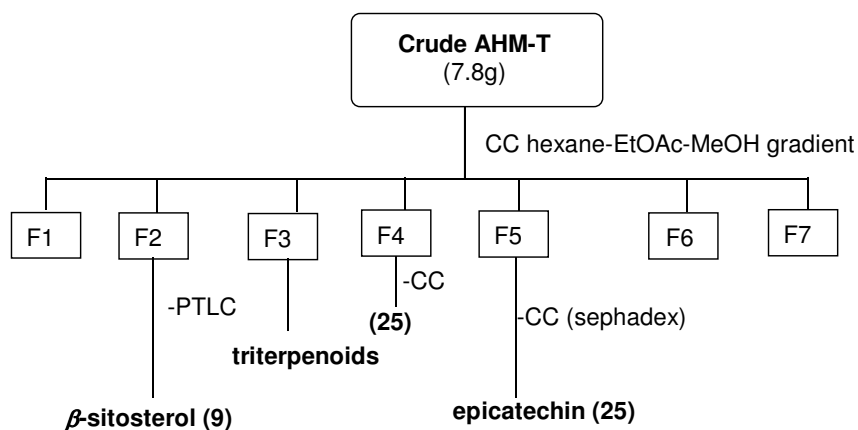
สารทั้ง 3 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาดชันเอทิลอะซิเตตของกิ่งสะเลาลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งและเหง้าของประทัดดอย 2 ชนิด คือ Taraxerol (6) และ β -Sitosterol (9) ส่วนสาร proanthocyanidin 1 ชนิด คือ epicatechin (25) เป็นสารที่พบเพิ่มเติม และยังไม่เคยมีรายงานในพืชทั้งสองชนิดนี้



รูป 28 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHE-T

4.5.3 สารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (AHM-T)

สารสกัดจากกิ่งสะเทาะลม ที่สกัดด้วยเมทานอล (AHM-T) น้ำหนัก 7.80 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHM-T) ถูกแยกเป็น 7 ส่วน (F1-F7) ดังรูป 29

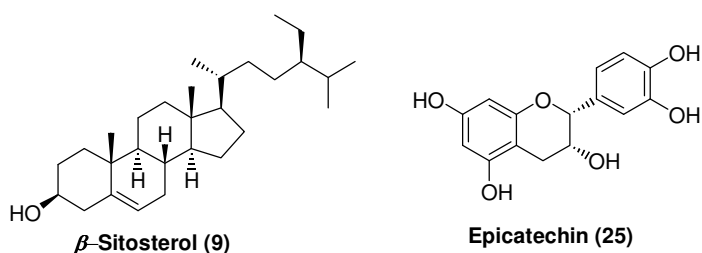


รูป 29 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-T

ส่วนสกัดย่อย F2, F4 และ F5 เมื่อแยกด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจล หรือ sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ ดังแผนภาพรูป 29 จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สารได้ 2 ชนิด (รูป 30) ดังนี้

1. β -Sitosterol เป็นสารประเภท sterol พบใน F2 น้ำหนัก 6.6 mg
2. Epicatechin เป็นสารประเภท proanthocyanidin พบใน F4 และ F5 น้ำหนัก 152.5 mg

สารทั้ง 2 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของกิ่งสะเทาะลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งสะเทาะลม ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต

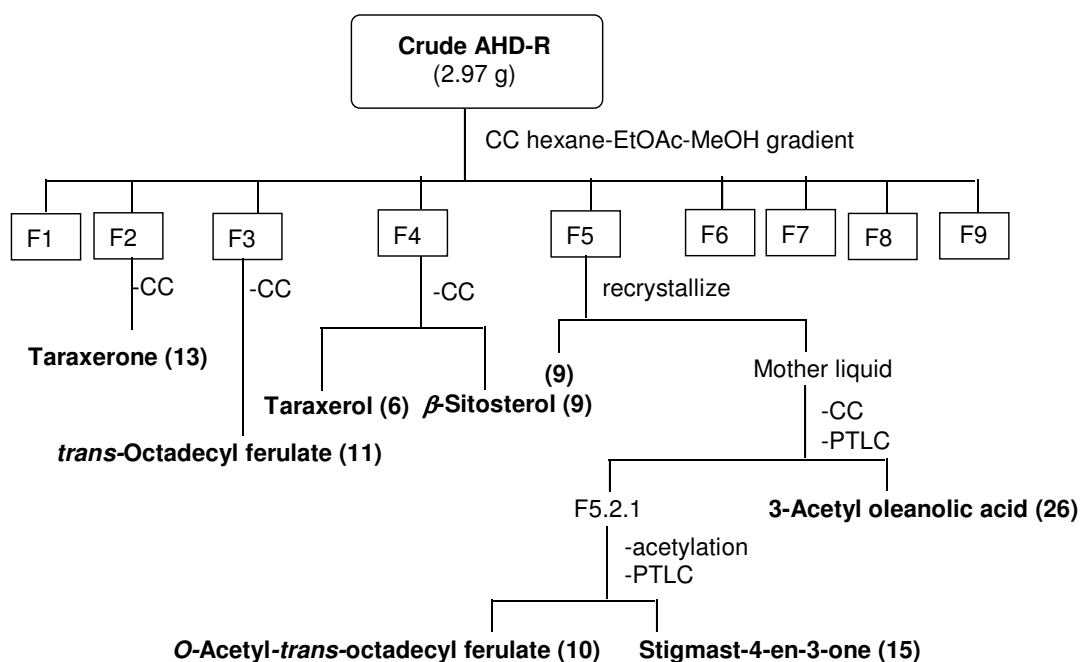


รูป 30 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-T

4.6 การแยกองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากเหง้าสะเกลอม

4.6.1 สารสกัดหยาดชั้นไดคลอโรมีเทน (AHD-R)

สารสกัดจากเหง้าสะเกลอม ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-R) น้ำหนัก 2.97 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHD-R) ถูกแยกเป็น 9 ส่วน (F1-F9) ดังรูป 31



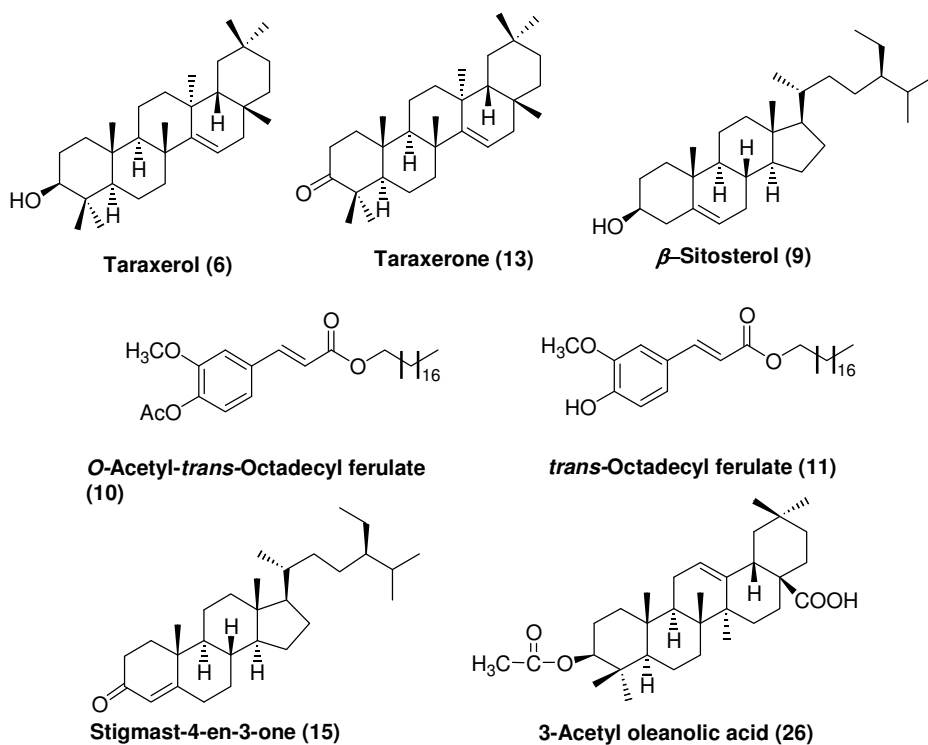
รูป 31 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHD-R

ส่วนสกัดย่อย F2, F3 F4 และ F5 เมื่อแยกด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ จนได้สารบริสุทธิ์ (ดังแผนภาพรูป 30) ส่วนสกัดย่อย 5.2.1 ซึ่งเป็นสารผสมของ phenolic และ sterol นำไปทำ acetylation โดยนำไปทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride และ ใช้ pyridine เป็นเบส ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วย preparative thin layer chromatography (PTLC) จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สาร 7 ชนิด เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 3 ชนิด sterol 2 ชนิด และ cinnamate ester 2 ชนิด (รูป 32) ดังนี้

1. Taraxerone พบใน F2 น้ำหนัก 29.0 mg
2. Taraxerol พบใน F4 น้ำหนัก 10.0 mg

3. 3-Acetyl oleanolic acid พบใน F4 น้ำหนัก 7.1 mg
4. β -Sitosterol พบใน F4 และ F5 น้ำหนัก 7.1 mg
5. Stigmast-4-en-3-one พบใน F5 น้ำหนัก 1.0 mg
6. *trans*-Octadecyl ferulate พบใน F3 น้ำหนัก 15.7 mg
7. *O*-acetyl-*trans*-Octadecyl ferulate พบใน F5.2.1 ที่ทำปฏิกิริยา acetylation ซึ่งสารชนิดนี้น่าจะมาจากการเกิด acetylation ของสาร *trans*-octadecyl ferulate ที่เป็นองค์ประกอบในเหง้าของสะเกอลม

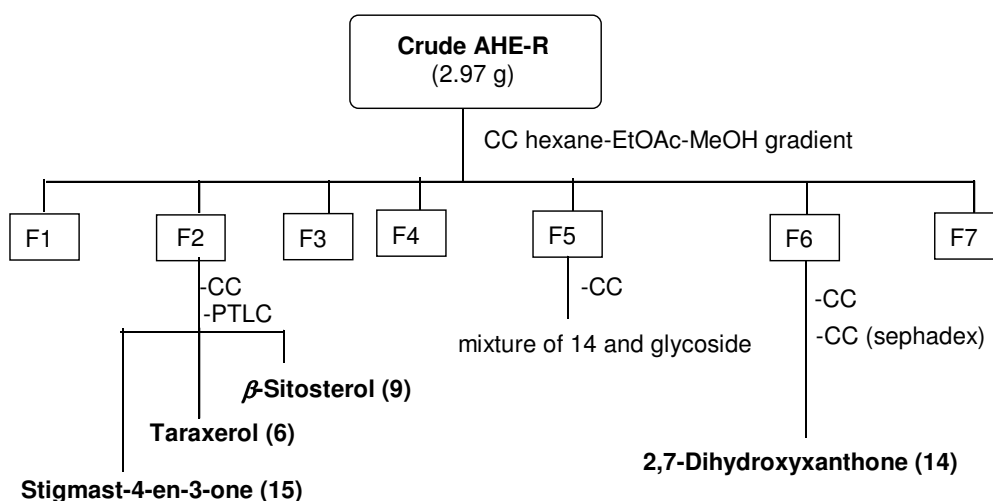
สารทั้ง 7 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของกิ่งสะเกอลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งและ/หรือเหง้าของประดาดอย 6 ชนิด และพบเป็นองค์ประกอบในใบหรือกิ่งของสะเกอลมเพียง 3 ชนิด คือ taraxerol (6) taraxerone (13) และ β -sitosterol อีก 3 ชนิด stigmast-4-en-3-one (15) *trans*-octadecyl ferulate (11) และ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) พบเฉพาะในประดาดอย แต่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบในใบและกิ่งสะเกอลม นอกจากนี้ยังพบสารประเภท pentacyclic triterpenoids เพิ่มเติมอีก 1 ชนิด คือ 3-acetyl oleanolic acid (26) ที่ยังไม่เคยมีรายงานในพืชทั้งสองชนิดนี้



รูป 32 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHD-R

4.6.2 สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต (AHE-R)

สารสกัดจากเหง้าสะเภาลม ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-R) น้ำหนัก 1.54 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHE-R) ถูกแยกเป็น 7 ส่วน (F1-F7) ดังรูป 33

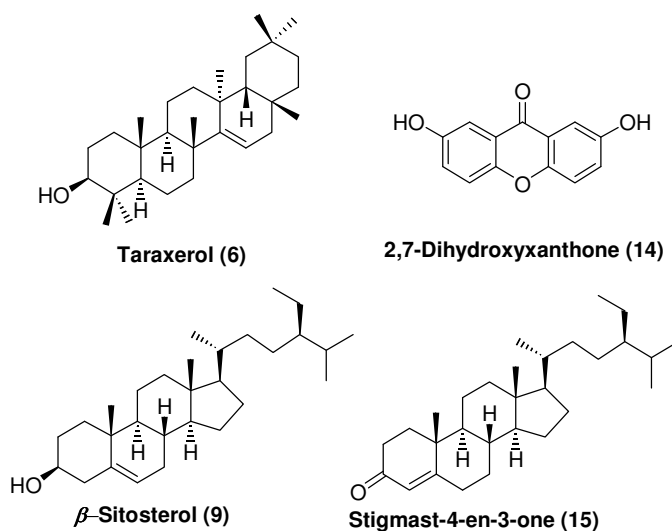


รูป 33 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHE-R

ส่วนสกัดย่อย F2, F5 และ F6 เมื่อแยกต่อด้วย column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจล หรือ sephadex LH20 เป็นตัวดูดซับ จนได้สารบริสุทธิ์ (ดังแผนภาพรูป 33) จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สารได้ 4 ชนิด เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 1 ชนิด sterol 2 ชนิด และ xanthone 1 ชนิด (รูป 34) ดังนี้

1. Taraxerol และ Stigmast-4-en-3-one พบผสมกันใน F2 น้ำหนัก 10.2 mg
2. β -Sitosterol พบใน F2 น้ำหนัก 20.7 mg
3. 2,7-Dihydroxyxanthone พบใน F6 น้ำหนัก 7.8 mg และ พบผสมกับ glycosides ใน F5 น้ำหนัก 69.4 mg

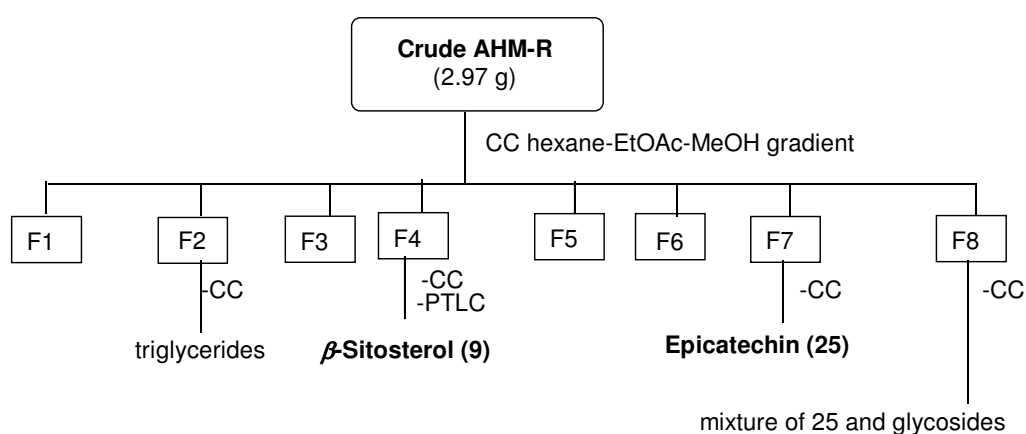
สารทั้ง 4 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตของเหง้าสะเภาลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่ง หรือเหง้าของประทัดดอย แต่มีเพียง 3 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในใบหรือกิ่งของสะเภาลม คือ taraxerol (6) β -sitosterol (9) และ stigmast-4-en-3-one (15) ส่วนอีก 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (14) เป็นสารประเภทแซนโทนที่พบเป็นองค์ประกอบเพิ่มเติมในเหง้าของสะเภาลม



รูป 34 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHE-R

4.6.3 สารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (AHM-R)

สารสกัดจากเหง้าสะเปาลม ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHM-R) น้ำหนัก 4.83 กรัม แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีคอลัมโครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วต่ำไปขั้วสูงเป็นตัวพาให้สารเคลื่อนที่โดยเริ่มจาก เฮกเซน เฮกเซนผสมเอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตต เอทิลอะซิเตตผสมเมทานอล และ เมทานอล ทำให้สารสกัด (AHM-R) ถูกแยกเป็น 8 ส่วน (F1-F8) ดังรูป 35

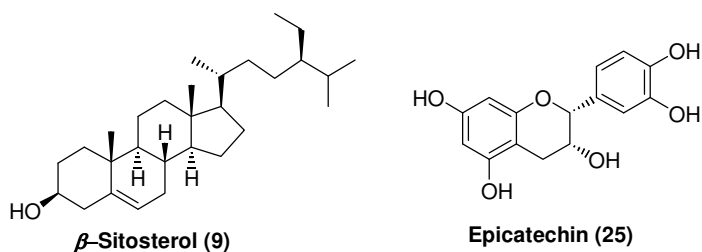


รูป 35 แผนภาพการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด AHM-R

ส่วนสกัดย่อย F4, F7 และ F8 เมื่อแยกด้วย column chromatography หรือ preparative thin layer chromatography (PTLC) โดยใช้ซิลิกาเจล เป็นตัวดูดซับ (ดังแผนภาพรูป 35) จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR), เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) และ แมสสเปกโตรเมตรี (MS) สามารถแยกและวิเคราะห์สารได้ 2 ชนิด เป็นสารประเภท sterol 1 ชนิด และ proanthocyanidin 1 ชนิด (รูป36) ดังนี้

1. β -Sitosterol พบใน F4 น้ำหนัก 11.2 mg
2. epicatechin พบใน F7 น้ำหนัก 27.9 mg และ พบผสมกับ glycosides ใน F8 น้ำหนัก 90.8 mg

สารทั้ง 2 ชนิดที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของเหง้าสะเลาลม เป็นสารที่ซ้ำกับที่เป็นองค์ประกอบในกิ่งหรือเหง้าของประทัดดอย 1 ชนิด β -sitostero (9) ส่วนอีก 1 ชนิด คือ epicatechin (25) พบเป็นองค์ประกอบเฉพาะในกิ่งสะเลาลม



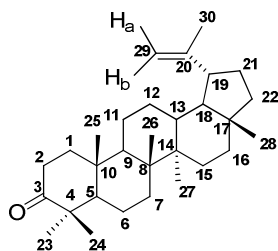
รูป 36 โครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด AHM-R

บทที่ 5

การวิเคราะห์โครงสร้างของสารองค์ประกอบในประทัดดอย สะเทาลม
และสารอนุพันธ์จากปฏิกิริยาเคมี

5.1 สารประเภท pentacyclic triterpenoids

5.1.1 Lupenone (2)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

 $C_{30}H_{48}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AMH-R, AME-T) สารนี้ได้เคยมี
รายงานการพบในพืชหลายชนิด^[12-13] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

173.0–175.0 °C (lit.^[13] 168-170 °C)FTIR (KBr) V_{max} cm^{-1} : 2930 (C-H), 1715 (C=O) 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 1)

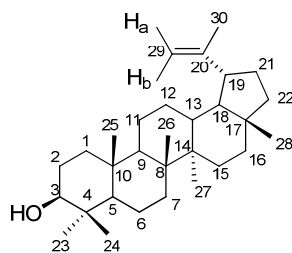
δ : 0.80 (3H, s, H-28), 0.93 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 1.02 (3H, s, H-24), 1.05 (6H, s, H-23, 25), 1.68 (3H, s, H-30), 0.80-2.00 (20H, m, CH, CH_2), 1.80-2.00 (2H, m, H-6, 21), 2.30-2.60 (3H, m, H-2, H-19), 4.57 (1H, dd, J = 2.2, 1.3 Hz, H_b -29), 4.68 (1H d, J = 2.2 Hz, H_a -29)

 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 2) lit.^[13]

δ : 14.48 (q, C-27), 15.79 (q, C-26), 15.98 (q, C-25), 18.02 (q, C-28), 19.68 (q, C-30), 19.80 (t, C-6), 21.04 (q, C-24), 21.47 (t, C-11), 25.16 (t, C-12), 26.65 (q, C-23), 27.43 (t, C-15), 29.83 (t, C-21), 33.57 (t, C-7), 34.17 (t, C-2), 35.53 (t, C-16), 36.89 (s, C-10), 38.17 (d, C-13), 39.62 (t, C-1), 39.98 (t, C-22), 40.79 (s, C-8), 42.90 (s, C-14), 43.00 (s, C-4), 47.35 (s, C-17), 47.97 (d, C-19), 48.25 (d, C-18), 49.80 (d, C-9), 54.93 (d, C-5), 109.40 (t, C-29), 151.00 (s, C-20)

EIMS m/z : 424 (M^+ , 31), 313 (25), 205 (69), 189 (26), 71 (83), 55 (100)

5.1.2 Lupeol (3)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AMH-R, AME-R, AME-T) สารสกัดหยาบสะเมอลมจากใบและกิ่ง (AHD-L, AHM-L, AHD-T) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[12,14-16] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

210.3 – 212.5 °C (lit.^[15] 213 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3450 (O-H), 2910-2820 (C-H), 1500 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 3) lit.^[16]

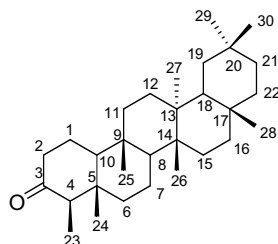
δ 0.68 (1H, *m*, H-5), 0.75 (3H, *s*, H-24) , 0.79 (3H, *s*, H-28) , 0.83 (3H, *s*, H-25) , 0.93 (3H, *s*, H-27), 0.97 (3H, *s*, H-23), 1.02 (3H, *s*, H-26), 1.68 (3H, *s*, H-30), 0.8-1.70 (22H, *m*, CH, CH_2), 1.90 (1H, *m*, H-21), 2.37 (1H, *dt*, $J = 11.1, 5.9$ Hz, H-19), 3.19 (1H, *dd*, $J = 11.1, 5.0$ Hz, H-3), 4.57 (1H, *dd*, $J = 2.3, 1.3$ Hz H_b -29), 4.68 (1H, *d*, $J = 2.3$ Hz, H_a -29)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 4) lit.^[16]

δ 14.56 (*q*, C-27), 15.38 (*q*, C-24), 15.98 (*q*, C-26), 16.13 (*q*, C-25), 18.01 (*q*, C-28), 18.33 (*t*, C-6), 19.31 (*q*, C-30), 20.94 (*t*, C-11), 25.17 (*t*, C-12), 27.42 (*t*, C-15), 27.45 (*t*, C-2), 28.00 (*q*, C-23), 29.85 (*t*, C-21), 34.29 (*t*, C-7), 35.59 (*t*, C-16), 37.18 (*s*, C-10), 38.06 (*d*, C-13), 38.71 (*t*, C-1), 38.87 (*s*, C-4), 40.01 (*t*, C-22), 40.84 (*s*, C-8), 42.84 (*s*, C-14), 43.01 (*s*, C-17), 48.00 (*d*, C-19), 48.31 (*d*, C-18), 50.45 (*d*, C-9), 55.33 (*d*, C-5), 79.02 (*d*, C-3), 109.33 (*t*, C-29), 150.99 (*s*, C-20)

EIMS m/z : 426(M^+ , 24), 207 (94), 189 (95), 95 (100)

5.1.3 Friedelin (4)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทิดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AMH-R, AME-R, AME-T) สารสกัดหยาบสะเภาลมจากใบ (AHD-L, AHM-L) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[17-18] รวมถึง สกุล Agapetes^[8] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

252.7 – 253.2 °C (lit.^[18] 263 – 264 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 2933 (C-H), 1716 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 5) lit.^[18]

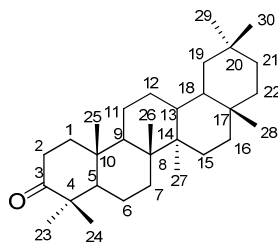
δ : 0.73 (3H, s, H-24), 0.87 (3H, s, H-25), 0.88 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-23), 0.95 (3H, s, H-29), 0.99 (3H, s, H-30), 1.01 (3H, s, H-26), 1.05 (3H, s, H-27), 1.18 (3H, s, H-28), 1.20-1.65 (19H, m, CH, CH_2), 1.68 (1H, dd, J = 13.0, 5.2 Hz, 1H, H-1), 1.72-1.78 (2H, m, H-2, 6), 1.96 (1H, m, H-1), 2.25 (1H, q, J = 6.8 Hz, H-4), 2.30 (1H, m, H-2), 2.40 (1H, ddd, J = 13.8, 5.2, 2.0 Hz, H-6)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 6) lit.^[18]

δ : 6.82 (q, C-23), 14.66 (q, C-24), 17.95 (q, C-25), 18.24 (t, C-7), 18.66 (q, C-27), 20.26 (q, C-26), 22.28 (t, C-1), 28.17 (s, C-20), 30.00 (s, C-17), 30.51 (t, C-12), 31.78 (q, C-29), 32.09 (q, C-28), 32.42 (t, C-21), 32.77 (t, C-15), 35.02 (q, C-30), 35.35 (t, C-19), 35.63 (t, C-11), 36.01 (t, C-16), 37.45 (s, C-9), 38.30 (s, C-14), 39.26 (t, C-22), 39.70 (s, C-13), 41.29 (t, C-6), 41.54 (t, C-2), 42.15 (s, C-5), 42.80 (d, C-18), 53.11 (d, C-8), 58.23 (d, C-4), 59.47 (d, C-10)

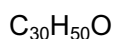
EIMS m/z : 426(M^+ , 12), 207 (58), 95 (100)

5.1.4 3-Ketooleanane (5)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้า (AMH-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช *Pterocarpus santalinus* ^[19] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

230.2-232.0 °C (lit. ^[19] 233-235.5 °C)

FTIR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 2916 (C-H), 1702 (C=O)

¹H-NMR (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 7) lit. ^[19]

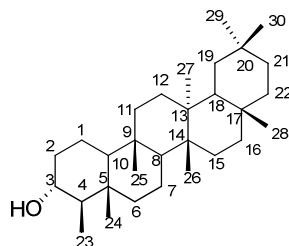
δ 0.79 (3H, s, H-26), 0.87 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-28), 0.98 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-29), 1.01 (3H, s, H-27), 1.18 (3H, s, H-24), 1.25 (3H, s, H-23), 0.75-1.76 (24H, m, CH, CH_2), 2.38 (2H, m, H-2)

¹³C-NMR (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 8) lit. ^[19]

δ 17.93 (q, C-26), 18.09 (t, C-7), 18.70 (q, C-25), 19.34 (q, C-27), 20.19 (q, C-28), 21.10 (q, C-24), 28.20 (q, C-23), 29.72 (t, C-2), 30.00 (s, C-20), 30.20 (t, C-16), 30.96 (q, C-30), 31.80 (s, C-17), 32.11 (q, C-29), 32.26 (t, C-12), 32.82 (t, C-15), 35.00 (d, C-13), 35.16 (t, C-22), 35.30 (t, C-11), 36.06 (t, C-19), 37.14 (t, C-22), 37.80 (s, C-4), 38.30 (s, C-10), 38.80 (s, C-14), 38.91 (t, C-1), 39.29 (t, C-6), 39.50 (s, C-8), 42.80 (d, C-18), 52.97 (d, C-9), 59.80 (d, C-5)

EIMS m/z : 426(M^+ , 5), 302 (3), 205 (8), 125 (29), 97 (100)

5.1.5 3 α -Friedelanol (12)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{52}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AME-R, AME-T) สารสกัดหยาบสะเมอลมจากใบ (AHD-L) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[17] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

282.8-284.0 °C (lit.^[20] 280- 283 °C)

FIR (KBr) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3475 (OH), 2931 (CH), 1173 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 9) lit.^[20]

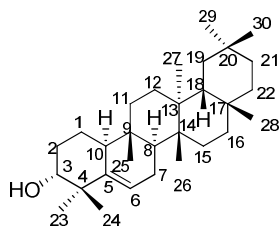
δ : 0.85 (3H, s, H-25), 0.90 (1H, *dd*, $J = 11.2, 2.2$ Hz, H-10), 0.93 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-23), 0.94 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-24), 0.98 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-26), 1.16 (3H, s, H-30), 1.05-1.62 (23H, *m*, CH, CH_2), 1.73 (1H, *dt*, $J = 13.0, 2.8$ Hz, H-6), 1.90 (1H, *m*, H-2), 3.72 (1H, *brs*, H-3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 10) lit.^[20]

δ : 11.62 (*q*, C-23), 15.79 (*t*, C-1), 16.40 (*q*, C-24), 17.55 (*t*, C-7), 18.25 (*q*, C-25), 18.65 (*q*, C-26), 20.12 (*q*, C-27), 28.18 (*s*, C-20), 30.03 (*s*, C-17), 30.64 (*t*, C-12), 31.80 (*q*, C-30), 32.09 (*q*, C-28), 32.33 (*t*, C-21), 32.82 (*t*, C-15), 35.03 (*q*, C-29), 35.19 (*t*, C-11), 35.34 (*t*, C-2), 35.56 (*t*, C-19), 36.08 (*t*, C-16), 37.10 (*s*, C-5), 37.84 (*s*, C-9), 38.37 (*s*, C-13), 39.28 (*t*, C-22), 39.68 (*s*, C-14), 41.73 (*t*, C-6), 42.82 (*d*, C-18), 49.17 (*d*, C-4), 53.20 (*d*, C-8), 61.35 (*d*, C-10), 72.76 (*d*, C-3)

EIMS m/z : 428 (M^+ , 10), 275 (46), 23 (52), 205 (53), 177 (57), 165 (82), 95 (100)

5.1.6 5(6)-Gluten-3 α -ol (20)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเอากลมจากใบ (AHD-L) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช *Micromelum minutum*^[21] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

208.7-213.0 °C (lit.^[21] 210- 212 °C)

FTIR (KBr

3462 (O-H), 1637 (C=C), 1384 (CH₃), 1098 (C-O) cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 11)

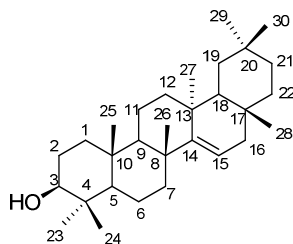
δ : 0.84 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.98 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.14 (3H, s), 1.15 (3H, s), 0.85-2.5 (23H, *m*, CH, CH₂), 3.45 (1H, *t*, *J*=2.6 Hz, H-3), 5.60 (1H, *d*, *J*=6.0 Hz, H-6)

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 12) lit.^[21]

δ : 16.21 (*q*, C-25), 18.22 (*t*, C-1), 18.43 (*q*, C-26), 19.62 (*q*, C-27), 23.64 (*t*, C-7), 25.46 (*q*, C-24), 27.81 (*t*, C-2), 28.25 (*s*, C-20), 28.96 (*q*, C-23), 30.09 (*s*, C-17), 30.36 (*t*, C-12), 32.04 (*q*, C-28), 32.07 (*t*, C-15), 32.41 (*q*, C-30), 33.12 (*t*, C-19), 34.53 (*q*, C-29), 34.61 (*t*, C-11), 34.84 (*s*, C-9), 35.08 (*t*, C-21), 36.02 (*t*, C-22), 37.83 (*s*, C-13), 38.96 (*t*, C-16), 39.60 (*s*, C-14), 40.82 (*s*, C-4), 43.06 (*d*, C-18), 47.43 (*d*, C-8), 49.68 (*d*, C-10), 76.36 (*d*, C-3), 122.08 (*d*, C-6), 141.59 (*s*, C-5)

EIMS *m/z*: 426 (M⁺, 3), 274 (83), 259 (100), 205 (25), 95 (68)

5.1.7 Taraxerol (6)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AMH-R, AME-T) สารสกัดหยาบสะเกอลมจากใบ กิ่ง และเหง้า (AHD-L, AHD-M, AHD-T, AHE-T, AHD-R, AHE-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[22-23] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

284.7-285.3 °C (lit. ^[23] 283- 285 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3486 (OH), 2934 (C-H), 1037 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 13)

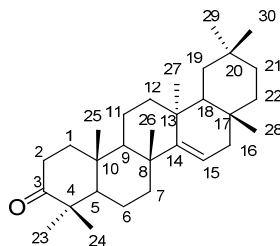
δ : 0.75-0.85 (1H, *m*, H-5), 0.80 (3H, *s*, H-24), 0.82 (3H, *s*, H-26), 0.90 (6H, *s*, H-28, 30), 0.92 (3H, *s*, H-25), 0.94 (3H, *s*, H-29), 0.97 (3H, *s*, H-23), 1.09 (3H, *s*, H-27), 0.98-1.70 (21H, *m*, CH, CH_2), 1.92 (1H, *dd*, $J = 14.7, 2.9$ Hz, H-1), 2.04 (1H, *dt*, $J = 12.6, 3.0$ Hz, H-19), 3.19 (1H, *dd*, $J = 11.2, 4.8$ Hz, H-3), 5.53 (1H, *dd*, $J = 8.1, 3.2$ Hz, H-15)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 14) lit. ^[23]

δ : 15.43 (*q*, C-25), 15.46 (*q*, C-24), 17.50 (*t*, C-11), 18.80 (*t*, C-6), 21.32 (*q*, C-30), 25.91 (*q*, C-27), 27.15 (*t*, C-2), 28.00 (*q*, C-23), 28.81 (*s*, C-20), 29.83 (*q*, C-26), 29.93 (*q*, C-28), 33.09 (*t*, C-22), 33.35 (*q*, C-29), 33.70 (*t*, C-21), 35.12 (*t*, C-12, 7), 35.80 (*s*, C-10), 36.67 (*t*, C-16), 37.57 (*s*, C-13), 37.71 (*t*, C-1), 37.99 (*s*, C-17), 38.77 (*s*, C-8), 38.98 (*s*, C-4), 41.32 (*t*, C-19), 48.75 (*d*, C-9), 49.28 (*d*, C-18), 55.53 (*d*, C-5), 79.08 (*d*, C-3), 116.88 (*d*, C-15), 158.09 (*s*, C-14)

EIMS m/z : 426 (M^+ , 12), 302 (34), 287 (35), 204 (100)

5.1.8 Taraxerone (13)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{48}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AME-R, AME-T) สารสกัดหยาบสะเมอลมจาก กิ่ง และเหง้า (AHD-T, AHD-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[17,20,22] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ผลึกสีขาว

จุดหลอมเหลว

241.5-242 °C (lit. ^[20] 240- 243 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$: 2937 (C-H), 1708 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 15)

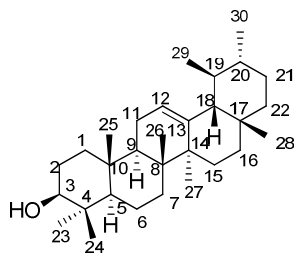
δ : 0.83 (3H, s, H-28), 0.90 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-30), 0.95 (3H, s, H-29), 1.06 (3H, s, H-24), 1.08 (3H, s, H-23), 1.09 (3H, s, H-25) 1.13 (3H, s, H-27), 1.00-1.70 (18H, m, CH, CH_2), 1.86 (1H, m, H-1), 1.92 (1H, dd, $J = 15.2, 3.2 \text{ Hz}$, H-12), 2.07 (1H, dt, $J = 13.0, 3.2 \text{ Hz}$, H-19), 2.32 (1H, m, H-2), 2.57 (1H, m, H-2), 5.58 (1H, dd, $J = 8.1, 3.2 \text{ Hz}$, H-15)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 16) lit. ^[20]

δ : 14.82 (q, C-25), 17.45 (t, C-11), 19.68 (t, C-6), 21.35 (q, C-24), 21.49 (q, C-30), 25.58 (q, C-27), 26.09 (q, C-23), 28.80 (q, C-20), 29.86 (q, C-26), 29.93 (q, C-28), 33.07 (t, C-22), 33.37 (q, C-29), 33.56 (t, C-21), 34.15 (t, C-2), 35.10 (t, C-7), 35.78 (s, C-10), 36.66 (t, C-16), 37.53 (s, C-17), 37.69 (t, C-12), 37.74 (s, C-13), 38.35 (t, C-1), 38.87 (C-8, s), 40.62 (t, C-19), 47.59 (s, C-4), 48.70 (d, C-9), 48.77 (d, C-18), 55.77 (d, C-5), 117.20 (d, C-15), 157.59 (s, C-14), 217.00 (s, C-3)

EIMS m/z : 424 (M^+ , 21), 300 (82), 285 (63), 204 (100), 133 (60)

5.1.9 α -Amyrin (7)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{30}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้า (AMH-R) สารสกัดหยาบสะเกอลมจากใบ (AHD-L, AHM-L) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[14,24,25] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

182.8-184.1 °C (lit. ^[24] 186 °C)

FTIR (KBr)

3441 (O-H), 1591 (C=C), 1385 (CH₃), 1020 (C-O) cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 17)

δ : 0.77 (3H, s), 0.79 (3H, s), 0.86 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.88 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.94 (3H, d, $J=6.2$ Hz), 0.99 (3H, s), 1.08 (3H, s), 0.70-2.50 (23H, m, CH, CH₂), **3.21** (1H, dd, $J=4.9$, 10.9 Hz, H-3), **5.25** (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12)

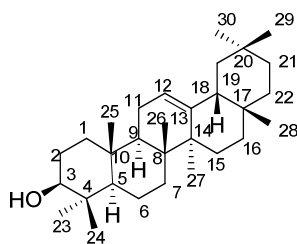
¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz)

δ : 15.5 (q), 15.6 (q), 17.0 (q), 17.1 (q), 18.3 (t), 21.2 (q), 23.2 (q), 23.5 (t), 27.1 (t), 28.0 (t, 2C), 28.2 (q), 30.9 (s), 30.92 (q), 33.0 (t), 36.6 (s), 36.7 (t), 36.90 (t), 38.7 (t), 38.8 (d), 39.1 (d), 39.2 (s), 39.3 (s), 42.0 (s), 47.5 (d), 52.7 (d), 55.2 (d), 79.1 (d, C-3), 125.9 (d, C-12), 144.0 (s, C-13)

EIMS m/z : 426 (M⁺, 18), 218 (100), 203 (28), 189 (35)

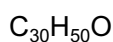
เมื่อเทียบ แมสสเปกตรัมของสาร **7** กับ α -amyrin ใน database พบว่ามีความเหมือนกัน 93 % (%match = 93%)

5.1.10 β -Amyrin (8)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประัดดอยจากเหง้า (AMH-R) และสารสกัดหยาบสะเภาลมจากใบ (AHD-L) โดยพบเป็นองค์ประกอบรอง ในสารผสมของ α -amyrin และ triterpenes อื่น ๆ สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[14,22,25] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

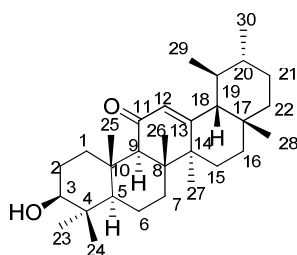
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 18)

δ : 3.2 (1H, *dd*, $J=4.9, 10.9$ Hz, H-3), 5.28 (1H, *t*, $J=3.5$ Hz, H-12), 0.5-2.5 (other methyl, methylene, methine protons)

EIMS m/z : 426 (M^+ , 4), 218 (100), 203 (48), 189 (15)

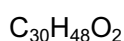
เมื่อเทียบ แมสสเปกตรัมของสาร 8 กับ β -amyrin ใน database พบว่ามีความเหมือนกัน 90 % (%match = 90%)

5.1.11 α -Amyrenol (22)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเภาลมจากใบ (AHD-M) โดยพบเป็นองค์ประกอบหลักในสารผสมของ β -amyrenol และ triterpenes อื่น ๆ สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช หลายชนิด ^[25-26] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

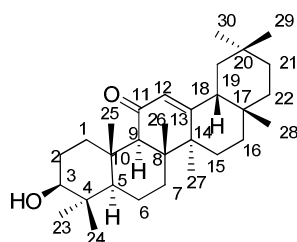
ลักษณะกายภาพ ของแข็งสีขาว

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป A19) lit. ^[26]

δ : 0.80 (3H, *d*, $J = 6.7\text{Hz}$), 0.81 (3H, *s*), 0.94 (3H, *brs*), 1.00 (3H, *s*), 1.13 (3H, *s*), 1.17 (6H, *s*), 1.30 (3H, *s*), 2.32 (1H, *s*, H-9), 0.50-2.60 (20H, *m*, CH, CH_2), 2.75 (1H, *m*, H-18), 3.23 (1H, *dd*, $J = 5.3, 10.9\text{ Hz}$, H-3), 5.51 (1H, *s*, H-12)

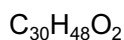
EIMS m/z : 440 (M^+ , 10), 273 (100), 232 (55), 175 (30), 135 (55)

5.1.12 β -Amyrenonol (23)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเหาลมจากใบ (AHD-M) โดยพบเป็นองค์ประกอบรองในสารผสมของ α -amyrenonol และ triterpenes อื่น ๆ สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช หลายชนิด ^[25,27] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

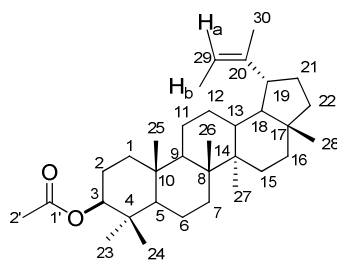
ของแข็งสีขาว

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 19) lit. ^[27]

δ : 0.82 (3H, *s*), 0.86 (3H, *s*), 0.88 (3H, *s*), 0.90 (3H, *s*), 0.99 (3H, *s*), 1.17 (6H, *s*), 1.36 (3H, *s*), 2.35 (1H, *s*, H-9), 0.50-2.60 (20H, *m*, CH, CH_2), 2.79 (1H, *m*, H-18), 3.23 (1H, *dd*, $J = 5.3, 10.9\text{ Hz}$, H-3), 5.58 (1H, *s*, H-12)

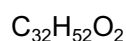
5.2 สารประเภท pentacyclic triterpenoids esters

5.2.1 Lupeol acetate (1)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทิดดอยจากเหง้า (AM-R) และได้จากปฏิกิริยา acetylation ของ lupeol สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[28,29] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

217.0-218.0 °C (lit.^[29] 154-156 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 2926 (C-H), 1735 (C=O ester), 1246 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 20)

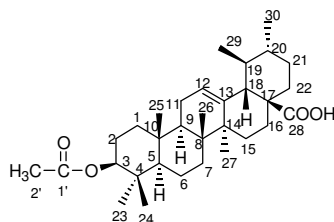
δ : 0.78 (3H, s, H-28), 0.80 (1H, *m*, H-5), 0.83 (3H, s, H-24), 0.84 (3H, s, H-25), 0.85 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 1.03 (3H, s, H-26), 1.68 (3H, s, H-30), 0.9-1.7 (22H, *m*, CH, CH_2), 1.90 (1H, *m*, H-21), 2.03 (3H, s, H-2'), 2.39 (1H, *dt*, $J = 11.1, 5.9 \text{ Hz}$, H-19), 4.47 (1H, *m*, H-3), 4.57 (1H, *dd*, $J = 2.3, 1.3 \text{ Hz}$, H_b -29), 4.68 (1H, *d*, $J = 2.3 \text{ Hz}$, H-29)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 21) lit.^[29]

δ : 14.51 (*q*, C-27), 15.98 (*q*, C-25), 16.18 (*q*, C-24), 16.50 (*q*, C-26), 18.01 (*q*, C-28), 18.21 (*t*, C-6), 19.29 (*q*, C-30), 20.95 (*t*, C-11), 21.32 (*q*, C-2'), 23.72 (*t*, C-2), 25.11 (*t*, C-12), 27.44 (*t*, C-15), 27.95 (*q*, C-23), 29.85 (*t*, C-21), 34.22 (*t*, C-7), 35.58 (*t*, C-16), 37.10 (*s*, C-10), 37.81 (*d*, C-13), 38.06 (*t*, C-1), 38.40 (*s*, C-4), 40.00 (*t*, C-22), 40.86 (*s*, C-8), 42.84 (*s*, C-14), 43.00 (*s*, C-17), 48.01 (*d*, C-19), 48.29 (*d*, C-18), 50.36 (*d*, C-9), 55.39 (*d*, C-5), 81.00 (*d*, C-3), 109.35 (*t*, C-29), 150.98 (*s*, C-20) 171.03 (*s*, C-1')

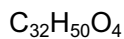
EIMS m/z : 468 (M^+ , 11), 408 (4), 189 (100), 121 (66)

5.2.2 3-Acetyl ursolic acid (21)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเมอลมจากใบ (AHD-L) เมื่อทำปฏิกิริยา acetylation สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[30] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

169.8-172.3 °C (lit.^[30] 170 °C)

FTIR (KBr)

3426 (O-H), 2928 (C-H), 1733 (C=O), 1690 (C=O), 1460 (CH₂), 1368 (CH₃), 1029 (C-O) cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 22) lit.^[30]

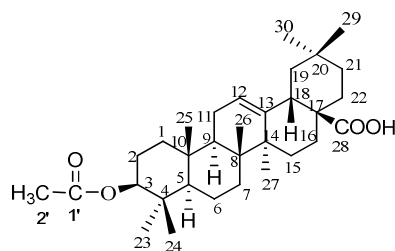
δ: 0.76 (3H, s, H-25), 0.81 (1H, *m*, H-5), 0.84 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, *d*, *J*=7.1 Hz, H-30), 0.86 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, *d*, *J*=6.6 Hz, H-29), 0.95 (3H, s, H-26), 1.06 (3H, s, H-27), 2.05 (3H, s, CH₃COO), 0.90-2.10 (21H, *m*, CH, CH₂), 2.18 (1H, *m*, H-18), 4.50 (1H, *m*, H-3), 5.23 (1H, *m*, H-12)

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 23) lit.^[30]

δ: 15.53 (*q*, C-25), 16.70 (*q*, C-26), 17.12 (*q*, C-29), 18.15 (*t*, C-6), 21.17 (*q*, C-24), 21.30 (*q*, C-30, C-2'), 23.28 (*t*, C-2), 23.58 (*q*, C-27), 23.58 (*t*, C-11), 24.05 (*t*, C-16), 27.98 (*t*, C-15), 28.07 (*q*, C-23), 30.59 (*t*, C-21), 32.83 (*t*, C-7), 36.72 (*t*, C-22), 36.91 (*s*, C-10), 37.69 (*s*, C-4), 38.26 (*t*, C-1), 38.82 (*d*, C-19), 39.01 (*d*, C-20), 39.49 (*s*, C-8), 41.90 (*s*, C-14), 47.46 (*d*, C-9), 47.95 (*s*, C-7), 52.52 (*d*, C-18), 55.29 (*d*, C-5), 80.95 (*d*, C-3), 125.73 (*d*, C-12), 137.96 (*s*, C-13), 171.06 (*s*, C-1'), 183.45 (*s*, C-28)

HRESIMS *m/z*: 521.3621 for C₃₂H₅₀O₄Na (calcd. 521.3607)

5.2.3 3-Acetyl oleanolic acid (26)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{32}H_{50}O_4$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเมอลมจากเหง้า (AHD-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[31] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

219.3-222.7 °C (lit.^[31] 220-222 °C)

FTIR (KBr) $\nu_{\max}$

3445 (O-H), 1750 (C=O), 1695 (C=O), 1462 (CH₂), 1024 (C-O) cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 24) lit.^[31]

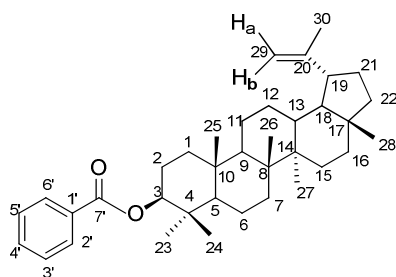
δ : 0.74 (3H, s, H-26), 0.83 (*m*, H-5) 0.85 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-23), 0.90 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-30), 0.96 (3H, s, H-25), 1.13 (3H, s, H-27), 1.00-2.00 (22H, *m*, CH, CH₂), 2.05 (3H, s, H-2'), 2.80 (1H, *dd*, *J* = 13.7, 4.0 Hz, H-18), 4.48 (1H, *t*, *J*=7.6 Hz, H-3), 5.27 (1H, *t*, *J* = 3.3 Hz, H-12)

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 25) lit.^[31]

δ : 15.38 (*q*, C-25), 16.65 (*q*, C-24), 17.16 (*q*, C-26), 18.18 (*t*, C-6), 21.30 (*q*, C-2'), 22.89 (*t*, C-19), 23.39 (*t*, C-16), 23.53 (*t*, C-11), 23.57 (*q*, C-30), 25.89 (*q*, C-27), 27.67 (*t*, C-2), 28.04 (*q*, C-23), 29.70 (*t*, C-15), 30.67 (*s*, C-20), 32.44 (*t*, C-22), 32.54 (*t*, C-7), 33.05 (*q*, C-29), 33.79 (*t*, C-21), 36.99 (*s*, C-8), 37.70 (*s*, C-10), 38.07 (*t*, C-1), 39.29 (*s*, C-4), 40.95 (*d*, C-18), 41.57 (*s*, C-14), 46.54 (*s*, C-17), 47.55 (*d*, C-9), 55.30 (*d*, C-5), 80.93 (*d*, C-3), 122.57 (*d*, C-12), 143.6 (*s*, C-13), 171.63 (*s*, C-1'), 183.63 (*s*, C-28)

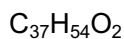
ESIMS *m/z*: 521 [M+H]⁺

5.2.4 Lupeol benzoate (16)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



การสังเคราะห์

จากปฏิกิริยา esterification ของ lupeol กับ benzoic acid สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช *Befaria racemosa* ^[32] โดยทำปฏิกิริยา benzylation ของสารสกัด

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

258.2-260.5 °C (lit. ^[32] 265- 268 °C)

FTIR (KBr) $V_{\max} \text{ cm}^{-1}$: 2940 (C-H), 1711 (C=O), 1640 (C=C), 1278 (C-O)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 Hz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 26)

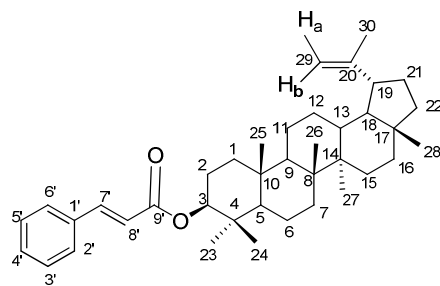
δ 0.80 (3H, s, H-28), 0.8-0.9 (2H, m, H-2, 5), 0.90 (3H, s, H-24), 0.92 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-23), 1.00 (3H, s, H-27), 1.05 (3H, s, H-26), 1.69 (3H, s, H-30), 1.00-1.80 (21H, m, CH, CH₂), 1.90 (1H, m, H-21), 2.38 (1H, m, H-19), 4.58 (1H, dd, $J = 1.3, 2.3$ Hz, H_b-29), 4.70 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H_a-29), 4.71 (1H, dd, $J = 5.2, 11.0$ Hz, H-3), 7.42 (2H, dd, $J = 7.4, 7.8$ Hz, H-3', 5'), 7.54 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4'), 8.10 (2H, dd, $J = 1.1, 8.2$ Hz, H-2', 6')

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 27)

δ 14.56 (q, C-27), 16.01 (q, C-25), 16.20 (q, C-24), 16.80 (q, C-26), 18.02 (q, C-28), 18.25 (t, C-6), 19.30 (q, C-30), 20.99 (t, C-11), 23.78 (t, C-2), 25.13 (t, C-12), 27.46 (t, C-15), 28.13 (q, C-23), 29.86 (t, C-21), 34.24 (t, C-7), 35.59 (t, C-16), 37.16 (s, C-10), 38.08 (d, C-13), 38.22 (s, C-4), 38.42 (t, C-1), 40.02 (t, C-22), 40.90 (s, C-8), 42.87 (s, C-14), 43.02 (s, C-17), 48.03 (d, C-19), 48.32 (d, C-18), 50.38 (d, C-9), 55.47 (d, C-5), 81.64 (d, C-3), 109.37 (t, C-29), 128.31 (d, C-3', 5'), 129.53 (d, C-2', 6'), 131.04 (s, C-1'), 132.68 (d, C-4'), 150.97 (s, C-20), 166.30 (s, C-7')

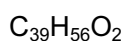
HRESIMS m/z : 531.4650 for C₃₇H₅₅O₂ (calcd. 531.4631)

5.2.5 Lupeol cinnamate (17)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



การสังเคราะห์

จากปฏิกิริยา esterification ของ lupeol กับ cinnamic acid สารนี้ได้เคยมี
รายงานการพบในพืชหลายชนิด^[29,33] โดยทำปฏิกิริยา benzylation ของสารสกัด

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

272.8-274 °C

FTIR (KBr) $V_{\max} \text{ cm}^{-1}$: 2935 (C-H), 1707 (C=O), 1638 (C=C), 1173 (C-O)

¹H-NMR (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 28) lit.^[29]

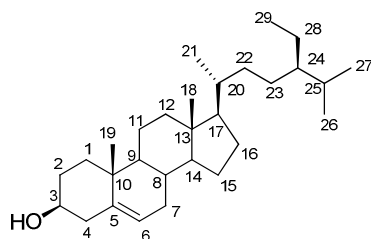
δ : 0.79 (3H, s, H-28), 0.80-0.90 (2H, *m*, H-2, 5), 0.89 (3H, s, H-25), 0.90 (3H, s, H-23),
0.92 (3H, s, H-24), 0.95 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-26), 1.69 (3H, s, H-30), 1.00-1.80 (21H,
m, CH, CH_2), 1.85-2.0 (1H, *m*, H-21), 2.38 (1H, *dt*, $J = 11.0, 5.8 \text{ Hz}$, H-19), 4.57 (1H, *d*, $J = 1.3$
 Hz , H_b -29), 4.62 (1H, *dd*, $J = 10.5, 5.9 \text{ Hz}$, H-3), 4.71 (1H, *d*, $J = 2.3 \text{ Hz}$, H_a -29), 6.44 (1H, *d*, J
 $= 16.0 \text{ Hz}$, H-8'), 7.35-7.42 (3H, *m*, H-3', 4', 5'), 7.50-7.80 (2H, *m*, H-2', 6'), 7.66 (1H, *d*, $J = 16.0$
 Hz , H-7')

¹³C-NMR (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 29) lit.^[29]

δ : 14.54 (*q*, C-27), 16.00 (*q*, C-25), 16.21 (*q*, C-24), 16.67 (*q*, C-26), 18.01 (*q*, C-28),
18.24 (*t*, C-6), 19.00 (*q*, C-30), 20.95 (*t*, C-11), 23.90 (*t*, C-2), 25.00 (*t*, C-12), 27.45 (*t*, C-15),
28.02 (*q*, C-23), 29.70 (*t*, C-21), 34.24 (*t*, C-7), 35.50 (*t*, C-16), 37.13 (*s*, C-4, 10), 38.07 (*d*, C-
13), 38.43 (*t*, C-1), 40.01 (*t*, C-22), 41.00 (*s*, C-8), 42.86 (*s*, C-14), 43.01 (*s*, C-17), 48.02 (*d*, C-
19), 48.31 (*d*, C-18), 50.37 (*d*, C-9), 55.44 (*d*, C-5), 81.08 (*d*, C-3), 109.36 (*t*, C-29), 118.90 (*d*,
C-8'), 128.05 (*d*, C-2', 6'), 128.85 (*d*, C-3', 5'), 130.13 (*d*, C-4'), 134.80 (*s*, C-1'), 144.25 (*d*, C-
7'), 151.00 (*s*, C-20), 167.00 (*s*, C-9')

5.3 สารประเภท sterols

5.3.1 β -Sitosterol (9)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{29}H_{50}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประจัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AMH-R, AME-R, AME-T) และสารสกัดหยาบสะเภาลมจากเหง้าและกิ่ง (AHD-R, AHE-R, AHM-R, AHD-T, AHE-T, AHM-T) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[14,34] และมีรายงานการพบในสะเภาลม ^[7] และพืชในสกุล Agapetes ^[8]

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

138.6-140.0 °C (lit. ^[34] 138-139 °C)

FTIR (KBr) V_{max} cm^{-1} : 3450 (OH), 1050 (C-O)

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 30) lit. ^[34]

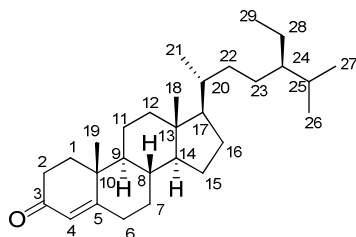
δ : 0.67 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-27), 0.82 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-26), 0.84 (3H, t, J = 7.8 Hz, H-29), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 1.07-1.92 (25H, m, CH, CH_2), 1.90-2.05 (2H, m, H-7, H-12), 2.18-2.32 (2H, m, H-4), 3.52 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, d, J = 5.2 Hz, H-6)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 31) lit. ^[34]

δ : 11.87 (q, C-29), 11.99 (q, C-18), 18.79 (q, C-21), 19.05 (q, C-27), 19.41 (q, C-19), 19.83 (q, C-26), 21.09 (t, C-11), 23.07 (t, C-28), 24.31 (t, C-15), 26.07 (t, C-23), 28.26 (t, C-16), 29.16 (d, C-25), 31.64 (t, C-2), 31.90 (d, C-8), 31.93 (t, C-7), 33.95 (t, C-22), 36.15 (d, C-20), 36.51 (s, C-10), 37.26 (t, C-1), 39.78 (t, C-12), 42.28 (t, C-4), 42.32 (s, C-13), 45.83 (d, C-24), 50.14 (d, C-9), 56.07 (d, C-17), 56.77 (d, C-14), 70.79 (d, C-3), 121.71 (d, C-6), 140.76 (s, C-5)

EIMS m/z : 414 (M^+ , 100), 396 (87), 381 (47), 329 (61), 303 (63), 213 (67)

5.3.2 Stigmast-4-en-3-one (15)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{29}H_{48}O$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดตอยจากกิ่ง (AME-T) และสารสกัดหยาบสะเภาลมจากเหง้า (AHD-R, AHE-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด ^[35] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

87.0-89.5 °C (lit. ^[35] 87-88 °C).

FTIR (KBr) V_{max}

2934 (C-H), 1653 (C=O), 1450 (CH₂) cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 32) lit. ^[35]

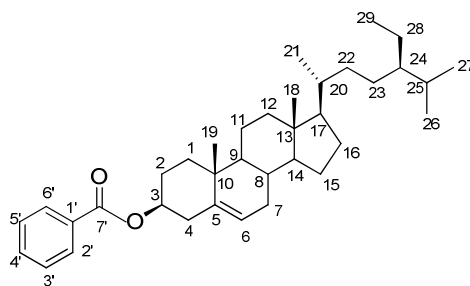
δ : 0.71 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.83 (3H, d, $J=7.1$ Hz, H-26), 0.84 (3H, t, $J=7.6$ Hz, H-29), 0.91 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 1.18 (3H, s, H-19), 0.95-2.1 (25H, m, CH, CH₂) 2.21-2.45 (4H, m, H-2, H-6), 5.72 (1H, brs, H-4)

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 33) lit. ^[35]

δ : 11.98 (q, C-18), 14.11 (q, C-29), 17.39 (q, C-21), 18.70 (q, C-19), 19.03 (q, C-27), 19.82 (q, C-26), 21.04 (t, C-11), 23.08 (t, C-28), 24.19 (t, C-15), 26.09 (t, C-23), 28.20 (t, C-16), 29.16 (d, C-25), 32.06 (t, C-7), 32.96 (t, C-6), 33.89 (t, C-2), 33.99 (t, C-22), 35.64 (d, C-8), 35.70 (t, C-1), 36.12 (d, C-20), 38.62 (s, C-10), 39.63 (t, C-12), 42.40 (s, C-13), 45.83 (d, C-24), 53.82 (d, C-9), 55.89 (d, C-17), 56.02 (d, C-14), 123.74 (d, C-4), 173.37 (s, C-5), 199.70 (s, C-3)

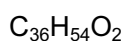
EIMS m/z : 412 (M⁺, 25), 370 (11), 229 (42), 124 (100), 95 (20)

5.3.3 β -Sitosterol benzoate (18)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



การสังเคราะห์

จากปฏิกิริยา esterification ของ β -sitosterol กับ benzoic acid สารนี้เป็นสารใหม่ ไม่พบการรายงานทั้งจากพืชและการสังเคราะห์

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

223.5-224.2 °C

FTIR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 2950 (C-H), 1714 (C=O), 1638 (C=C), 1270 (C-O)

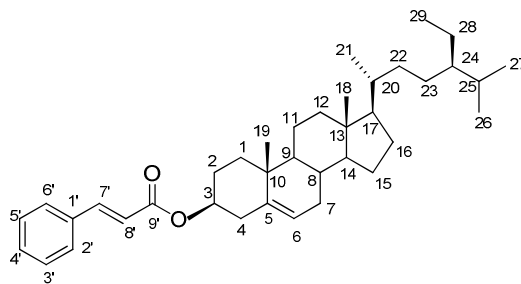
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz)) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 34)

δ : 0.69 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-27), 0.83 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-26), 0.85 (3H, t, J = 7.6 Hz, H-29), 0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 1.07 (3H, s, H-19), 0.95-2.07 (27H, m, CH, CH_2), 2.46 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-4), 4.88 (1H, m, H-3), 5.41 (1H, d, J = 3.8 Hz, H-6), 7.41 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-3', 5'), 7.55 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-4'), 8.02 (2H, dd, J = 7.9, 1.4 Hz, H-2', 6')

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz)) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 35)

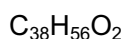
δ : 11.87 (q, C-29), 11.99 (q, C-18), 18.79 (q, C-21), 19.04 (q, C-27), 19.38 (q, C-19), 19.82 (q, C-26), 21.06 (t, C-11), 23.08 (t, C-28), 24.31 (t, C-15), 26.11 (t, C-23), 27.90 (t, C-16), 28.26 (t, C-2), 29.18 (d, C-25), 31.90 (d, C-8), 31.95 (t, C-7), 33.96 (t, C-22), 36.17 (d, C-20), 36.67 (s, C-10), 37.05 (t, C-1), 38.23 (t, C-4), 39.75 (t, C-12), 42.34 (s, 13), 45.86 (d, C-24), 50.07 (d, C-9), 56.06 (d, C-17), 56.72 (d, C-14), 74.60 (d, C-3), 122.79 (d, C-6), 128.27 (d, C-3', 5'), 129.54 (d, C-2', 6'), 130.87 (s, C-1'), 132.71 (d, C-4'), 139.69 (s, C-5), 166.03 (s, C-7')

5.3.4 β -Sitosterol cinnamate (19)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล



การสังเคราะห์

จากปฏิกิริยา esterification ของ β -sitosterol กับ cinnamic acid สารนี้เป็นสารใหม่ ไม่พบการรายงานทั้งจากพืชและการสังเคราะห์

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีขาว

จุดหลอมเหลว

248.3-250 °C

FTIR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 2939 (C-H), 1710 (C=O), 1642 (C=C), 1208 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 36)

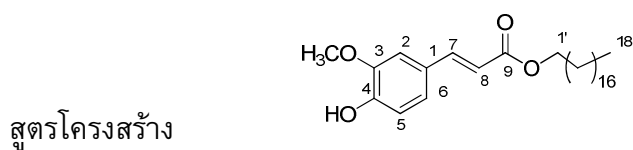
δ : 0.69 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-27), 0.83 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-26), 0.85 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-29), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.05 (3H, s, H-19), 0.95-2.07 (27H, m, CH, CH_2), 2.40 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 4.75 (1H, m, H-3), 5.41 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 7.41 (3H, m, H-3', 4', 5'), 7.52 (2H, m, H-2', 6'), 7.68 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7')

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 37)

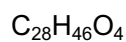
δ : 11.87 (q, C-29), 11.99 (q, C-18), 18.79 (q, C-21), 19.04 (q, C-27), 19.36 (q, C-19), 19.82 (q, C-26), 21.05 (t, C-11), 23.08 (t, C-28), 24.31 (t, C-15), 26.11 (t, C-23), 27.90 (t, C-16), 28.26 (t, C-2), 29.17 (d, C-25), 31.90 (d, 8), 31.94 (t, C-7), 33.96 (t, C-22), 36.17 (d, C-20), 36.65 (s, C-10), 37.04 (t, C-1), 38.24 (t, C-4), 39.75 (t, C-12), 42.34 (s, C-13), 45.86 (d, C-24), 50.07 (d, C-9), 56.06 (d, C-17), 56.71 (d, C-14), 74.12 (d, C-3), 118.73 (d, C-8'), 122.73 (d, C-6), 128.04 (d, C-2', 6'), 128.87 (d, C-3', 5'), 130.16 (d, 4'), 134.56 (s, 1'), 139.71 (s, C-5), 144.43 (d, C-7'), 166.43 (s, C-9)

5.4 สารประเภท ferulate esters

5.4.1 *trans*-Octadecyl ferulate (11)



สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้าและกิ่ง (AME-R, AME-T) และสารสกัดหยาบสะเกล็ดจากเหง้า (AHD-R, AHE-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช *Aaucaria angustifolia* ^[36] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน

FTIR (Thin film) $V_{\max} \text{ cm}^{-1}$: 3443 (OH), 1713 (C=O), 1633 (C=C), 1272, 1158 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 38) lit. ^[36]

δ : 0.88 (3H, *t*, $J = 6.6$ Hz, H-18'), 1.25 (30H, *brs*, H-3'-17'), 1.70 (2H, *m*, H-2'), 3.93 (3H, *s*, OCH_3), 4.18 (2H, *t*, $J = 6.7$ Hz, H-1'), 5.85 (1H, *brs*, OH), 6.29 (1H, *d*, $J = 16.0$ Hz, H-8), 6.91 (1H, *d*, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.03 (1H, *d*, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.08 (1H, *dd*, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-6), 7.60 (1H, *d*, $J = 16.0$ Hz, H-7)

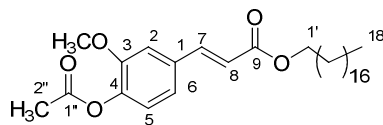
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 39) lit. ^[36]

δ : 14.11 (*t*, C-18'), 22.69 (*t*, C-17'), 26.01 (*t*, C-3'), 28.78 (*t*, C-2'), 29.31- 29.70 (*t*, C- 4'-15'), 31.93 (*t*, C-16'), 55.94 (*q*, OCH_3), 64.62 (*t*, C-1'), 109.31 (*d*, C-2), 114.70 (*d*, C-5), 115.72 (*d*, C-8), 123.04 (*d*, C-6), 127.08 (*s*, C-1), 144.62 (*d*, C-7), 146.76 (*s*, C-3), 147.90 (*s*, C-4), 167.40 (*s*, C-9)

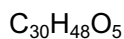
HRESIMS m/z : 469.3143 for $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$ (calcd. 469.3196)

5.4.2 O-Acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10)

สูตรโครงสร้าง



สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้า (AMH-R) และสารสกัดหยาบสะเปาลมจากเหง้า (AHD-R) หลังทำปฏิกิริยา acetylation ของสารส่วนสกัดย่อย สารนี้เป็นสารใหม่ ที่ไม่มีรายงานการพบในพืช หรือการสังเคราะห์

ลักษณะกายภาพ

ของเหลวหนืดไม่มีสี

FTIR (Thin film) ν_{max} cm^{-1} : 2918, 2850 (C-H), 1767 (C=O of ester), 1200 (C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 40)

δ : 0.88 (3H, *t*, J = 6.6 Hz, H-18'), 1.25 (30H, *brs*, H-3'-H-7'), 1.70 (2H, *m*, H-2'), 2.32 (3H, *s*, 2''), 3.89 (3H, *s*, OCH_3), 4.18 (2H, *t*, J = 6.7 Hz, H-1'), 6.38 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-8), 7.05 (1H, *d*, J = 7.9 Hz, H-5), 7.11 (1H, *brs*, H-2), 7.12 (1H, *dd*, J = 7.9, 1.8 Hz, H-6), 7.64 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-7)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 41)

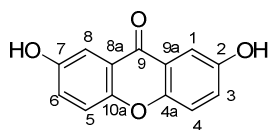
δ : 14.12 (*q*, C-18'), 20.65 (*q*, C-2''), 22.71 (*t*, C-17'), 25.99 (*t*, C-3'), 28.74 (*t*, C-2'), 29.31-29.71 (*t*, C-4'-15'), 31.93 (*t*, C-16'), 55.92 (*q*, OCH_3), 64.85 (*t*, C-1'), 112.21 (*d*, C-2), 118.53 (*d*, C-8), 121.21 (*d*, C-6), 123.24 (*d*, C-5), 133.46 (*s*, C-1), 141.38 (*s*, C-4), 143.83 (*d*, C-7), 151.38 (*s*, C-3), 166.94 (*s*, C-9), 168.79 (*s*, C-1'')

HRESIMS m/z : 489.3591 for $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_5$ (calcd. 489.3580)

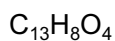
5.5 สารประเภท xanthone

2,7-Dihydroxyxanthone (14)

สูตรโครงสร้าง



สูตรโมเลกุล



พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบประทัดดอยจากเหง้า (AME-R, AMN-R) และสารสกัดหยาบสะเกล็ดจากเหง้า (AHE-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืช *Mammea acuminata* ^[37] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีน้ำตาล

จุดหลอมเหลว

329.4-330.7 °C (lit. ^[37] 328 – 330 °C)

FTIR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 3200-3600 (OH), 1676 (C=O), 1600 (C=C), 1299 (C-O)

¹H-NMR (Acetone- d_6 , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 42) lit. ^[37]

δ : 6.89 (2H, *d*, J = 8.2 Hz, H-4, 5), 7.47 (2H, *dd*, J = 8.2, 2.0 Hz, H-3, 6), 7.52 (2H, *d*, J = 2.0 Hz, H-1, 8), 8.70 (2H, *brs*, OH)

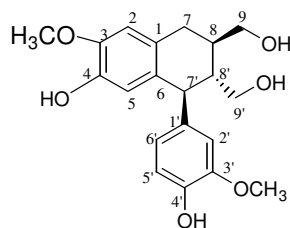
¹³C-NMR (Acetone- d_6 , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 43) lit. ^[37]

δ : 115.68 (*d*, C-4, 5), 117.44 (*d*, C-1, 8), 123.12 (*s*, C-8a, 9a), 123.60 (*d*, C-3, 6), 145.55 (*s*, C-4a, 10a), 150.70 (*s*, C-2, 7), 167.55 (*s*, C-9)

ESIMS m/z : 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$

5.6 สารประเภท lignan

Isolariciresinol (24)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{20}H_{24}O_6$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเอาลมจากใบ (AHM-L) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[38,39] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีน้ำตาล

จุดหลอมเหลว

156.7-158.1 °C (lit.^[38] 157- 158 °C)

FTIR (KBr) ν_{max}

3420 (O-H), 2924 (C-H), 1602, 1513 (C=C), 1020 (C-O) cm^{-1}

1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 44) lit.^[38]

δ : 1.77 (1H, *m*, H-8'), 2.00 (1H, *m*, H-8), 2.76 (2H, *d*, $J=7.7$ Hz, H-7), 3.40 (1H, *dd*, $J=4.1, 11.2$ Hz, H-9'), 3.62-3.73 (3H, *m*, H-9, 9'), 3.76 (3H, *s*, 3'-OMe), 3.78 (3H, *s*, 3-OMe), 3.79 (1H, *d*, $J=10.45$ Hz, H-7'), 6.19 (1H, *s*, H-2), 6.61 (1H, *dd*, $J=1.8, 8.0$ Hz, H-6'), 6.64 (1H, *s*, H-5), 6.68 (1H, *d*, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.73 (1H, *d*, $J=8.0$ Hz, H-5')

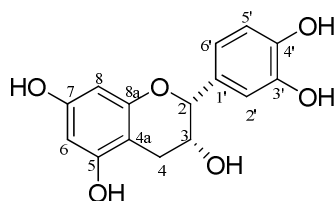
^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 45) lit.^[38]

δ : 33.50 (*t*, C-7), 39.94 (*d*, C-8), 47.91 (*d*, C-8'), 48.01 (*d*, C-7'), 56.30 (*q*, 3'-OMe), 56.33 (*q*, 3-OMe), 62.22 (*t*, C-9'), 65.92 (*t*, C-9), 112.29 (*d*, C-5), 113.70 (*d*, C-2'), 115.95 (*d*, C-5'), 117.29 (*d*, C-2), 123.13 (*d*, C-6'), 128.95 (*s*, C-1), 134.07 (*s*, C-6), 138.57 (*s*, C-1'), 145.13 (*s*, C-4), 145.80 (*s*, C-4'), 147.10 (*s*, C-3), 148.92 (*s*, C-3')

HRESIMS m/z : 383.1349 for $C_{20}H_{24}O_6Na$ (calcd. 383.1371)

5.7 สารประเภท proanthocyanidin

Epicatechin (25)



สูตรโครงสร้าง

สูตรโมเลกุล

$C_{15}H_{14}O_6$

พบในสารสกัด

สารสกัดหยาบสะเมอลมจากกิ่งและเหง้า (AHE-T, AHM-T, AHM-R) สารนี้ได้เคยมีรายงานการพบในพืชหลายชนิด^[37,40] แต่ไม่มีรายงานการพบในพืชนี้

ลักษณะกายภาพ

ของแข็งสีน้ำตาล

จุดหลอมเหลว

239.2-242.0 °C (lit.^[41] 240 °C)

FTIR (KBr)

3516 (O-H), 1624 (C=C), 1147 (C-O) cm^{-1}

1H -NMR ($(CD_3)_2C=O$, 400 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 46) lit.^[40]

δ : 2.74 (1H, *dd*, J = 3.2, 16.6 Hz, H-4), 2.85 (1H, *dd*, J = 4.6, 16.6 Hz, H-4), 3.60 (1H, *brs*, OH), 4.20 (1H, *brs*, H-3), 4.87 (1H, *s*, H-2), 5.91 (1H, *d*, J =2.3 Hz, H-8), 6.20 (1H, *d*, J =2.3 Hz, H-6), 6.78 (1H, *d*, J =8.1 Hz, H-5'), 6.83 (1H, *dd*, J =1.8, 8.1 Hz, H-6'), 7.05 (1H, *d*, J =1.8 Hz, H-2'), 8.0 (4H, *brs*, OH)

^{13}C -NMR ($(CD_3)_2C=O$, 100 MHz) (สเปกตรัมแสดงในภาคผนวก รูป 47) lit.^[40]

δ : 28.11 (*t*, C-4), 66.04 (*d*, C-3), 78.54 (*d*, C-2), 94.79 (*d*, C-8), 95.25 (*d*, C-6), 98.91 (*s*, C-4a), 114.39 (*d*, C-2'), 114.58 (*d*, C-5'), 118.48 (*d*, C-6'), 131.39 (*s*, C-1'), 144.39, 144.50 (*s*, C-3', C-4'), 156.27, 156.68, 156.71 (*s*, C-5, C-7, C-8a)

ESIMS m/z : 291.0 $[M+H]^+$

บทที่ 6

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์

6.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารบริสุทธิ์ที่ได้แยกได้จากสารสกัดของประทัดดอย และสะเภาลม รวมทั้งอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีเพิ่มเติม จำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ β -sitosterol (9), *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10), *trans*-octadecyl ferulate (11), 2,7-dihydroxyxanthone (14), isolariciresinol (24) และ epicatechin (25) ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยใช้ DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) เป็นรีเอเจนต์ทดสอบ และใช้ วิตามินซี และ BHT (Butylated Hydroxytoluene) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเป็นสารมาตรฐาน ซึ่งทำการศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging Activity)^[9] ตามวิธีการทดสอบดังที่ได้กล่าวไว้ในบททดสอบสารสกัดหยาบ ผลที่ได้แสดงในตาราง 12 และ 13

ผลการทดสอบพบว่า สารประเภท phenolic compounds ที่มีหมู่ phenol ในโมเลกุลจะมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารประเภทอื่น ซึ่งพบว่า สาร phenolic compounds ได้แก่ *trans*-octadecyl ferulate (11), 2,7-dihydroxyxanthone (14) และ epicatechin (25) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดีมาก มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.33, 0.68 และ 4.55 μ g/ml ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ วิตามินซี และ BHT ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.65 และ 0.52 μ g/ml ตามลำดับ พบว่า 2,7-dihydroxyxanthone (14) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับ วิตามินซี และสูงกว่า BHT เล็กน้อย สำหรับ isolariciresinol (24) ซึ่งมีหมู่ phenol ในโมเลกุล มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้เกือบดีมาก มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.49 μ g/ml ส่วน *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งไม่มีหมู่ phenol อิสระ มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ปานกลาง มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.77 μ g/ml ในขณะที่ β -sitosterol (9) ซึ่งเป็นสารประเภท sterol ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

trans-Octadecyl ferulate (11), 2,7-dihydroxyxanthone (14) และ epicatechin (25) สารเหล่านี้เป็นสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากกิ่งและเหง้าของประทัดดอย และ สะเภาลม ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตและแอลกอฮอล์ ได้แก่ AME-R, AMN-R, AHE-R, AHE-T, AHM-T ซึ่งสารสกัดหยาบเหล่านี้ มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีเช่นกัน มีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 4.32 -6.69 μ g/ml

สาร phenols ทั้ง 5 ชนิด (ยกเว้น β -sitosterol) มีรายงาน ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพียงชนิดเดียว คือ epicatechin (25) ได้แก่ Geetha และคณะ^[42] รายงาน epicatechin จากใบชา มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.5 μ g/ml Singh และ คณะ^[43] รายงาน epicatechin จาก *Ricinus communis* มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.82 μ g/ml เป็นต้น สาร *trans*-Octadecyl ferulate (11) ถึงแม้จะไม่มีรายงาน แต่มีรายงานฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารที่เป็นไอโซเมอร์กัน คือ สาร *cis*-Octadecyl ferulate โดย Anselmi และคณะ^[44] รายงานฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของ *cis*-Octadecyl ferulate ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 24.97 μ M เป็นต้น

ตาราง 12 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารบริสุทธิ์

สาร	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (control)	Absorbance (sample)*	% DPPH inhibition	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
β -Sitosterol (9)	8.33	0.796	0.727	8.67	93.82
	16.67		0.678	14.82	
	33.33		0.626	21.35	
	50.00		0.548	31.15	
	66.67		0.409	48.62	
O-Acetyl-trans-octadecyl ferulate (10)	3.33	0.129	0.103	20.61	14.77
	6.67		0.089	31.00	
	10.00		0.081	37.21	
	13.33		0.069	46.51	
	16.67		0.056	56.59	
trans-Octadecyl ferulate (11)	1.53	0.768	0.385	49.87	1.33
	3.07		0.096	87.76	
	4.60		0.049	93.62	
	6.13		0.044	94.27	
	9.20		0.041	94.66	
2,7-Dihydroxyxanthone (14)	0.33	0.692	0.365	47.25	0.68
	0.67		0.336	51.44	
	1.33		0.306	55.78	
	2.00		0.273	60.55	
	2.67		0.238	65.61	
	4.00		0.173	75.00	
	8.33		0.141	79.62	
Isolariciresinol (24)	3.87	0.212	0.130	38.68	5.49
	7.73		0.083	60.85	
	11.60		0.057	73.11	
	15.60		0.037	82.55	
	19.33		0.031	85.38	
Epicatechin (25)	4.48	0.296	0.211	28.71	4.55
	8.96		0.133	55.07	
	13.44		0.069	76.69	
	17.92		0.022	92.66	
	22.40		0.019	93.58	

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตาราง 13 สรุปผลฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ของสารบริสุทธิ์

Compound	IC ₅₀ (μg/ml)	Antioxidant activity*
β-Sitosterol (9)	93.82	Inactive
O-Acetyl- <i>trans</i> -octadecyl ferulate (10)	14.77	Moderately active
<i>trans</i> -Octadecyl ferulate (11)	1.33	Strongly active
2,7-Dihydroxyxanthone (14)	0.68	Strongly active
Isolariciresinol (24)	5.49	Moderately active
Epicatechin (25)	4.55	Strongly active
Vitamin C	0.65	Strongly active
BHT	0.52	Strongly active

* Inactive IC₅₀ > 50 Weakly active IC₅₀ > 20 – 50 Moderately active IC₅₀ = 5 – 20 Strongly active < 5

6.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) เชื้อไวรัสเริม (anti-HSV-1) และเชื้อมาลาเรีย (anti-malaria)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (BIOTEC)

สารบริสุทธิ์ประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ หรือ ไตรเทอร์พีนอยด์ เอสเทอร์ ที่ได้แยกได้จากสารสกัดของประทัดดอย และสะเกอลม รวมทั้งอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีเพิ่มเติม จำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ lupenone (2), taraxerol (6), α -amyrin (16), 3α-friedelanol (12), taraxerone (13), 5(6)-gluten-3α-ol (20), lupeol benzoate (16), lupeol cinnamate (17), β-sitosterol benzoate (18), β-sitosterol cinnamate (19), 3-acetyl ursolic acid (21) และ 3-acetyl oleanolic acid (26) ทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (anti-TB) ด้วยวิธี green fluorescent protein microplate assay (GFPMMA) ผลที่ได้พบว่าสารไตรเทอร์พีนอยด์ทั้งหมดที่ทดสอบ ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค (%inhibition < 90%) (ตาราง 14)

สารบริสุทธิ์ lupenone (2) และ lupeol (3) ทดสอบฤทธิ์ ยับยั้งเชื้อไวรัสเริม (Herpes simplex virus type-1, HSV-1) ด้วยวิธี Green fluorescent protein (GFP) ผลที่ได้พบว่าสารไตรเทอร์พีนอยด์ทั้งสองชนิด ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสเริม (ตาราง 14)

สารบริสุทธิ์ 3-acetyl ursolic acid (21), 3-acetyl oleanolic acid (26), isolariciresinol (24) และ epicatechin (25) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ด้วยวิธี microculture radioisotope ผลที่ได้พบว่าสารไตรเทอร์พีนอยด์ และ สารฟีนอลิก ทั้งหมดที่ทดสอบ ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย (ตาราง 14)

ตาราง 14 ผล Anti-TB, Anti-HSV-1 และ Anti-malaria ของสารบริสุทธิ์

สาร	% inhibition		
	Anti-TB	Anti-HSV-1	Anti-malaria
Lupenone (2)	16.74	Inactive	-
Lupeol (3)	-	Inactive	-
Taraxerol (6)	0	-	-
α -Amyrin (16)	22.51	-	-
3 α -Friedelanol (12)	15.48	-	--
Taraxerone (13)	0	-	-
5(6)-Gluten- 3 α -ol (20)	22.29	-	-
Lupeol benzoate (16)	62.43	-	-
Lupeol cinnamate (17)	68.07	-	-
β -Sitosterol benzoate (18)	61.43	-	-
β -Sitosterol cinnamate (19)	58.29	-	-
3-Acetyl ursolic acid (21)	0	-	inactive
3-Acetyl oleanolic acid (26)	0	-	inactive
Isolariciresinol (24)	-	-	inactive
Epicatechin (25)	-	-	inactive

% inhibition < 90 % Inactive

6.3 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (BIOTEC) และ ห้องปฏิบัติการของ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สารบริสุทธิ์ประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ และ ฟีนอล ที่ได้แยกได้จากสารสกัดของประดัดดอย และ สะเก็ดลม รวมทั้งอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีเพิ่มเติม จำนวน 18 ตัวอย่าง ทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187, NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7, MDA-MB-231) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงดังตาราง 15

สาร 2,7-dihydroxyxanthone (14) ทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187, NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7, MDA-MB-231) และ เซลล์มะเร็งปาก (KB) พบว่า ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งหมดที่กล่าวมา

สาร lupeol (3) ทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า ออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A-549) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า

IC₅₀ เท่ากับ 39.49 $\mu\text{g/ml}$ แต่ไม่ออกฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela)

สาร 3 α -friedelanol (12) และ *trans*-octadecyl ferulate (11) ทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) พบว่า สารทั้งสองไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดนี้

สาร β -sitosterol (9) และ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 6.73 $\mu\text{g/ml}$ (16.26 μM) แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ในขณะที่ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดนี้

สาร isolariciresinol (24) และ epicatechin (25) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า สารทั้งสองไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดนี้

สาร lupeol acetate (1), lupenone (2), friedelin (4) และ taraxerol (6) ทดสอบฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) พบว่า สารทุกตัวไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งนี้

สาร 3-acetyl ursolic acid (21) และ 3-acetyl oleanolic acid (26) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) พบว่า สารทั้งสองไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งนี้

สาร lupeol benzoate (16), lupeol cinnamate (17), β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดนี้ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 30.46 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่สารอื่น ไม่มีฤทธิ์

ตาราง 15 ความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์มะเร็ง ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับสารบริสุทธิ์

สาร	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μ g/ml)						
	KB*	MCF-7*	MDA-MB-231**	NCI-H187*	NCI-H1299**	A549**	Hela**
Lupeol acetate (1)	-	inactive	-	-	-	-	-
Lupenone (2)	-	inactive	-	-	-	-	-
Lupeol (3)	-	inactive	-	-	inactive	39.49	inactive
Friedelin (4)	-	inactive	-	-	-	-	-
Taraxerol (6)	-	inactive	-	-	-	-	-
β -Sitosterol (9)	-	inactive	-	-	-	-	6.73
3 α -Friedelanol (12)	-	inactive	-	inactive	-	-	-
Lupeol benzoate (16)	-	-	-	-	-	-	inactive
Lupeol cinnamate (17)	-	-	-	-	-	-	inactive
β -Sitosterol benzoate (18)	-	-	-	-	-	-	30.46
β -Sitosterol cinnamate (19)	-	-	-	-	-	-	inactive
3-Acetyl ursolic acid (21)	-	-	-	inactive	-	-	-
3-Acetyl oleanolic acid (26)	-	-	-	inactive	-	-	-
O-Acetyl- <i>trans</i> -octadecyl ferulate (10)	-	inactive	-	-	-	-	inactive
<i>trans</i> -Octadecyl ferulate (11)	-	inactive	-	inactive	-	-	-
2,7-Dihydroxyxanthone (14)	inactive	inactive	inactive	inactive	inactive	inactive	-
Isolariciresinol (24)	-	-	-	inactive	-	-	inactive
Epicatechin (25)	-	-	-	inactive	-	-	inactive

* ทดสอบโดย Biotect laboratory

** ทดสอบโดย ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Activity	IC ₅₀ (μ g/ml)
Inactive	>50
Weakly active	>20 – 50
Moderately active	=5 – 20
Strongly active	< 5

6.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง (anti-proliferation)

ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สารบริสุทธิ์ประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ และ ฟีนอล ที่ได้แยกได้จากสารสกัดของประทัดดอย และ สะเกดลม รวมทั้งอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีเพิ่มเติม จำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ lupeol (3), β -sitosterol (9), lupeol benzoate (16), lupeol cinnamate (17), β -sitosterol benzoate (18), β -sitosterol cinnamate (19), *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10), isolariciresinol (24) และ epicatechin (25) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299 และ A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7 และ MDA-MB-231) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) เทียบกับ ยา cisplatin (*cis*-diamine dichloro platinum (II), $H_6Cl_2N_2Pt$) และ etoposide (4-demethylepipodophyllotoxin-9-(4,6-*O*-(*R*)-ethylidene- β -D-glucopyranoside, $C_{29}H_{32}O_{13}$) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค SRB แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Priprobit ได้ค่าความเข้มข้น (IC_{50}) ดังแสดงในตาราง 16

ผลของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) พบว่า β -sitosterol (9) และ lupeol (3) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 24.90 และ 40.90 $\mu g/ml$ ตามลำดับ ในขณะที่สารอื่นๆ มีฤทธิ์การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ต่ำมาก และเมื่อเทียบกับ ยา cisplatin และ etoposide พบว่าสารที่ทดสอบทั้งหมดมีฤทธิ์ที่ต่ำกว่า เมื่อพิจารณาโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ lupeol และ lupeol ester พบว่า lupeol (3), lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ใกล้เคียงกัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 96.01, 97.17 และ 93.88 μM ตามลำดับ (lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ดีกว่า lupeol (3) เล็กน้อย) ในขณะที่ โครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ β -sitosterol และ β -sitosterol ester พบว่า β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ที่ดีกว่า β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19)

พิจารณาผลของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอดอีกชนิด (A549) พบว่า β -sitosterol (9), lupeol (3) และ lupeol cinnamate (17) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 6.15, 12.30 และ 12.30 $\mu g/ml$ ตามลำดับ หรือ 14.85, 28.87, 22.12 μM ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ ยา etoposide ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 25.85 μM พบว่า β -sitosterol (9) และ lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ที่ดีกว่า ส่วน lupeol (3) มีฤทธิ์ต่ำกว่ายาเล็กน้อย ในขณะที่เมื่อเทียบกับ cisplatin (IC_{50} เท่ากับ 1.06 μM) พบว่าสารทั้งหมด มีฤทธิ์ต่ำกว่ายา ส่วน *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 40.4 $\mu g/ml$ ในขณะที่สารอื่นๆ มีฤทธิ์การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ต่ำมาก เมื่อพิจารณาโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ lupeol และ lupeol ester พบว่า lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) ที่ดีกว่า lupeol (3) ในขณะที่ lupeol benzoate (16) มีฤทธิ์ที่ต่ำกว่า ในขณะที่ โครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ β -sitosterol และ β -sitosterol ester พบว่า β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ที่

ดีกว่า β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19) ซึ่งเป็นไปทำนองเดียวกับฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299)

ผลของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) พบว่า สารทดสอบทั้ง 9 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีมาก และต่ำกว่ายามาตรฐาน ทั้งสองชนิด

พิจารณาผลของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านมอีกชนิด (MCF-7) พบว่า epicatechin (25), β -sitosterol benzoate (18), *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) และ lupeol (3) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.18, 1.20, 3.90 และ 4.56 μ g/ml ตามลำดับ หรือ 4.07, 2.32, 7.99 และ 10.70 μ M ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ ยา cisplatin (IC_{50} เท่ากับ 2.43 μ M) พบว่า β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีกว่ายาเล็กน้อย ในขณะที่เมื่อเทียบกับ etoposide (IC_{50} เท่ากับ 1.24 μ M) พบว่าสารทั้งหมด มีฤทธิ์ต่ำกว่ายา ส่วน β -sitosterol (9), lupeol benzoate (16) และ β -sitosterol cinnamate (19) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.15, 5.33 และ 7.90 μ g/ml ตามลำดับ หรือ 12.44, 10.06 และ 14.52 μ M ตามลำดับ ส่วน isolariciresinol (24) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 37.37 μ g/ml ขณะที่ epicatechin (25) มีฤทธิ์การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีมาก เมื่อพิจารณาโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ lupeol และ lupeol ester พบว่า lupeol benzoate (16) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ที่ดีกว่า lupeol (3) เล็กน้อย (พิจารณา IC_{50} หน่วย μ M) ในขณะที่ lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ที่ต่ำกว่า ในทำนองเดียวกันโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ β -sitosterol และ β -sitosterol ester พบว่า β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ดีกว่า β -sitosterol (9) ในขณะที่ β -sitosterol cinnamate (19) มีฤทธิ์ต่ำกว่าเล็กน้อย

ผลของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า β -sitosterol (9) และ β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.77 และ 3.88 μ g/ml ตามลำดับ หรือ 1.86 และ 7.49 μ M ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ ยา etoposide (IC_{50} เท่ากับ 8.30 μ M) พบว่าทั้ง β -sitosterol (9) และ β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ดีกว่ายา ในขณะที่เมื่อเทียบกับ cisplatin (IC_{50} เท่ากับ 6.83 μ M) พบว่า β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ดีกว่ายา ส่วน β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ต่ำกว่าเล็กน้อย ส่วนสารบริสุทธิ์อื่น ได้แก่ lupeol (3) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.39 μ g/ml หรือ 12.65 μ M ส่วน *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10), lupeol cinnamate (17) และ isolariciresinol (24) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 21.69, 45.43 และ 48.61 μ g/ml ตามลำดับ ในขณะที่ upeol benzoate (16), β -sitosterol cinnamate (19), และ epicatechin (25) มีฤทธิ์การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ต่ำมาก เมื่อพิจารณาโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ lupeol และ lupeol ester พบว่า lupeol (3) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ที่ดีกว่า lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17) ในทำนองเดียวกันโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ของ β -sitosterol และ β -sitosterol ester พบว่า β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ดีกว่า β -sitosterol benzoate (18) และ β -sitosterol cinnamate (19)

ตาราง 16 ค่าความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ ยา cisplatin และ etoposide ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง (antiproliferation)

สารทดสอบ	น้ำหนักโมเลกุล	NCI-H1299		A549		MDA-MB-231		MCF-7		Hela	
		IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ g/ml)	IC ₅₀ (μ M)
Lupeol (3)	426	40.90	96.01	12.3	28.87	68.92	161.78	4.56	10.70	5.39	12.65
β -Sitosterol (9)	414	24.90	60.14	6.15	14.85	53.07	128.19	5.15	12.44	0.77	1.86
Lupeol benzoate (16)	530	51.50	97.17	104.4	196.98	72.89	137.53	5.33	10.06	121.53	229.30
Lupeol cinnamate (17)	556	52.20	93.88	12.3	22.12	95.50	171.76	60.34	108.52	45.43	81.71
β -Sitosterol benzoate (18)	518	>500	>500	60.5	116.79	82.19	158.67	1.20	2.32	3.88	7.49
β -Sitosterol cinnamate (19)	544	>500	>500	>500	>500	88.52	162.72	7.90	14.52	307.89	565.97
O-Acetyl-trans-octadecyl ferulate (10)	488	479.10	>500	40.4	82.79	76.19	156.13	3.90	7.99	21.69	44.45
Isolaricresinol (24)	360	61.20	170.00	52.3	145.28	89.59	248.86	37.37	103.80	48.61	135.03
Epicatechin (25)	290	72.20	248.96	>500	>500	90.72	312.83	1.18	4.07	8.56	29.52
cisplatin	300	10.0	33.33	0.32	1.06	16.46	54.87	0.73	2.43	2.05	6.83
etoposide	588	4.0	6.80	15.2	25.85	17.79	30.25	0.73	1.24	4.88	8.30

Activity IC₅₀ (μ g/ml)

Inactive >50

Weakly active >20 – 50

Moderately active =5 – 20

Strongly active < 5

สารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากประตัตตอยและสะเภาลม หลายชนิด เป็นสารที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพ สารประเภท triterpenoids ที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพ มีดังนี้ lupeol acetate (1) มีรายงานฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glycosidase^[45] lupenone (2) มีรายงานฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส ชนิด Herpes simplex virus types HSV-1 และ HSV-2^[46] lupeol (3) มีรายงานฤทธิ์ anti-inflammatory ในหนู^[47] ความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งหลอดลมปอด เซลล์พังผืดมนุษย์^[48] β -amyrin (8) มีรายงานความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอด (PC-12) เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HCT119)^[49] และมีฤทธิ์ anti-inflammatory ในหนู^[47] 3 α -friedelanol (12) มีรายงาน มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ใน potato disc bioassay^[50] friedelin (4) มีรายงานความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (PC3) และเซลล์มะเร็งเส้นประสาท (U251)^[51] นอกจากนี้สารนี้ได้มีรายงานฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และ เชื้อรา ด้วยค่า MIC ช่วง 0.61-4.88 $\mu\text{g/ml}$ ^[52] 3-acetyl ursolic acid (21) มีรายงานมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* CQ-resistant strain FcB1 ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 24.93 μM ^[53] และมีรายงานความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (NTUB1) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 14.27 μM ^[54] 3-Acetyl oleanolic acid (26) มีรายงานมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย และ ความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ด้วยค่า 9.4 $\mu\text{g/ml}$ ^[55] สารประเภท sterol ที่มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพ มีดังนี้ β -Sitosterol (9) มีรายงานความเป็นพิษ (cytotoxicities) กับเซลล์มะเร็ง ลำไส้ มะเร็งปากมดลูก (Hela, CasKi) มะเร็งเต้านม (MCF-7) และมะเร็งปอด (A549)^[56-58] Stigmast-4-en-3-one (15) มีรายงานฤทธิ์ hypoglycaemic ในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นเบาหวาน^[35] สารประเภท lignin คือ Isolariciresinol (24) มีรายงานฤทธิ์ anti-inflammatory anti-noceptive และ anti-ulcerogenic ในหนู^[59-60]

บทที่ 7

บทสรุป

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด และ สารองค์ประกอบในสารสกัดของพืชสกุล (*Agapetes*) ในงานวิจัยนี้ศึกษาพืช 2 ชนิด คือ ประทัดดอย (*Agapetes megacarpus*) และ สะเภาลม (*Agapetes hosseana*) โดยเน้นศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity) และ ความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ของสารสกัด จาก ใบ กิ่ง และ เหง้า ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารองค์ประกอบในสารสกัด และ ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารองค์ประกอบในพืชทั้งสองชนิดและอนุพันธ์ของสารองค์ประกอบที่ได้จากการปรับปรุงโครงสร้างด้วยปฏิกิริยาทางเคมี

ผลงานวิจัย เกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดจาก ประทัดดอย (*Agapetes megacarpus*) พบว่า สารสกัดจากประทัดดอย 9 ชนิด ที่ได้จาก ใบ กิ่ง และ เหง้า ของประทัดดอย เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล จากนั้นสกัดแยกด้วย ตัวทำละลาย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล ตามลำดับ เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) กับ DPPH radical พบว่าสารสกัดจากกิ่ง เหง้า และใบของประทัดดอย ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และ นอร์มอลบิวทานอล ออกฤทธิ์ได้ดี มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 1.97 – 14.78 $\mu g/ml$ เมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7, MDA-MB-231) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) เซลล์มะเร็งกล่องเสียง (Hep2) เซลล์มะเร็งลำไส้ (HT29) เซลล์มะเร็งผิวหนัง (C32) และ เซลล์ปกติไฟโบบลาสต์จากปอดของคน (F1044) ของสารสกัดหยาบจากกิ่งของประทัดดอยที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอล (AMN-T) พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอย (AMN-T) แสดงแนวโน้มความเป็นพิษ (potential toxic) ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มะเร็งกล่องเสียง (Hep2) และมะเร็งลำไส้ (HT29) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 36.71-68.03 $\mu g/ml$ และแสดงแนวโน้มความเป็นอันตราย (potentially harmful) ต่อเซลล์มะเร็ง เต้านม (MDA-MB231) มะเร็งปอด ทั้ง 2 ชนิด (A549 และ NCI-H1299) มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และมะเร็งผิวหนัง (C32) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 130.47 – 322.52 $\mu g/ml$ ในขณะที่ไม่แสดงความเป็นพิษ (potentially non toxic) ต่อเซลล์เชื้อสายไฟโบบลาสต์ปกติจากปอดของคน (F1044) แสดงว่าสารสกัดนี้มีความจำเพาะกับเซลล์มะเร็งและไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299 และ A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7 และ MDA-MB-231) และ เซลล์ปกติไฟโบบลาสต์จากปอดของคน (F1044) เทียบกับ ยา cisplatin และ mitomycin C พบว่า สารสกัดหยาบจากเหง้าประทัดดอยทั้ง 3 ชนิด (AMH-R, AME-R, AMN-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก (strongly active) มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.89 – 4.09 $\mu g/ml$ แต่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) ในระดับปานกลาง (moderately active) ทำนองเดียวกันสารสกัดหยาบจากกิ่งประทัดดอยที่สกัดด้วยเฮกเซนและนอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AMN-T) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมทั้ง 2 ชนิด (MCF-7 และ MDA-MB-231) ในระดับปานกลาง ซึ่งสารสกัดทั้ง 5 ชนิดนี้แสดงฤทธิ์

ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีกว่ายา cisplatin สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลบิวทานอลจากเหง้า (AMN-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ได้ดี (active) มีค่า IC_{50} 12.97 $\mu g/ml$ แต่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง ส่วนสารสกัดหยาบจากเหง้าที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AME-R) และ สารสกัดหยาบจากกิ่งที่สกัดด้วยเฮกเซน และนอร์มอลบิวทานอล (AMH-T, AMN-T) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอดทั้ง 2 ชนิด (NCI-H1299 และ A549) ได้ปานกลางละสารสกัดทั้ง 4 ชนิดนี้มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ที่ดีกว่ายา cisplatin นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากเหง้า (AMH-R) และสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตจากกิ่ง (AME-T) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง ในขณะที่ไม่มีฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) และเมื่อนำสารสกัดประทัดดอย ทดสอบกับเซลล์ปกติจากปอด (F1044) พบว่า ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ในขณะที่ยา cisplatin และยา mitomycin C ออกฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยค่า IC_{50} 19.34 และ 4.73 $\mu g/ml$ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาดัชนีความจำเพาะในการเลือกออกฤทธิ์ของสารต่อเซลล์ (selectivity index, SI) พบว่าสารสกัดประทัดดอยมีความจำเพาะในการออกฤทธิ์ต่อเซลล์เชื้อสายมะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ F1044 มีค่า SI อยู่ในช่วง 0.0002 – 0.0579 โดยสารสกัดประทัดดอย AMN-R มีผลต่อเซลล์ MCF-7 มากที่สุด (SI = 0.0131) เมื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) เชื้อรา (antifungal) และความ เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ของสารสกัดจากกิ่งและเหง้าประทัดดอย พบว่าสารสกัดทุกตัวไม่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อทั้งหมดที่กล่าวมา

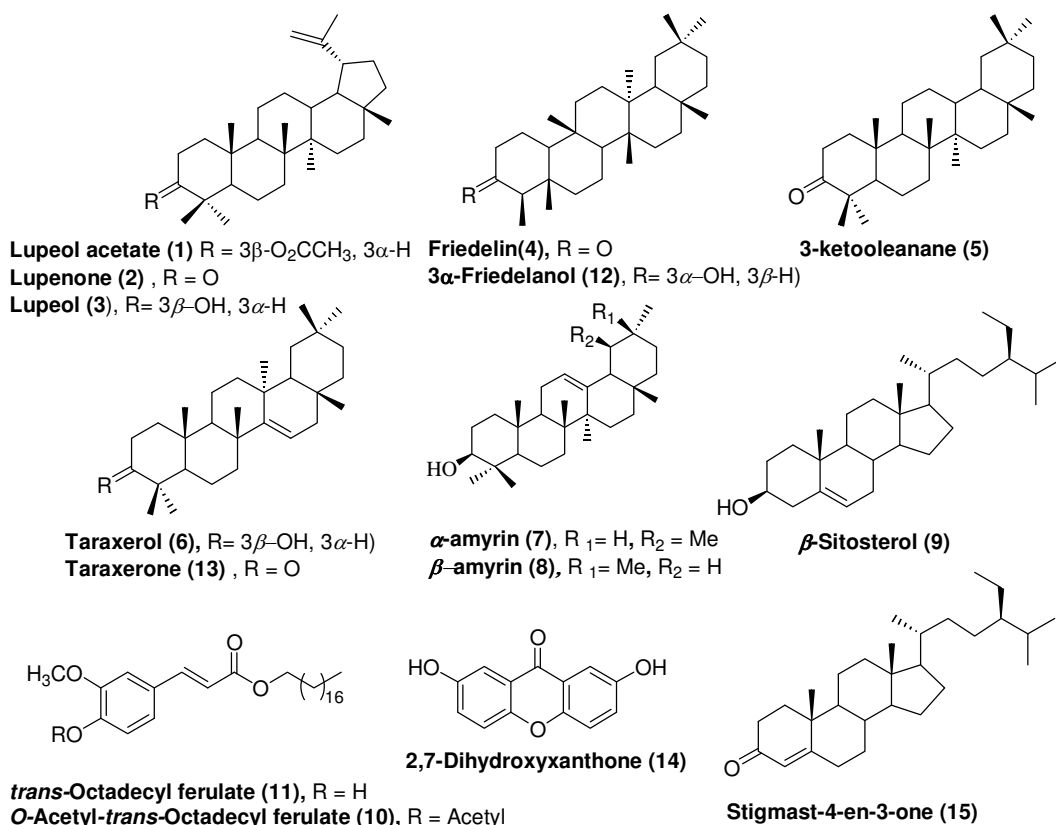
ผลงานวิจัย เกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดจากสะเภาลม (*Agapetes hosseana*) พบว่า สารสกัดจากสะเภาลม 8 ชนิด ที่ได้จากกิ่ง และ เหง้า ของสะเภาลม เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ และใบของสะเภาลม เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน และ เมทานอล เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) กับ DPPH radical พบว่า สารสกัดจากใบ กิ่ง และ เหง้า ที่สกัดด้วยเมทานอล (AHM-L, AHM-T, AHM-R) และสารสกัดจากกิ่ง และ เหง้า ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-T, AHE-R)) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดี มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 2.86 – 6.69 $\mu g/ml$ เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด 2 ชนิด (A549 และ MDA-MB-231) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) เทียบกับ ยา cisplatin และ mitomycin C พบว่า สารสกัดจากสะเภาลม สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งได้น้อยกว่า สารสกัดจากประทัดดอย สารสกัดหยาบจากใบที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-L) สารสกัดหยาบจากกิ่งที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-T) และสารสกัดหยาบจากเหง้าที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และ เอทิลอะซิเตต (AHD-R, AHE-R) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) และมะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) ได้ในระดับปานกลาง (moderately active) นอกจากนี้พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่ง สะเภาลมที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-T) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ในระดับปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน พบว่า สารสกัดจากใบ กิ่ง และเหง้าที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (AHD-L, AHD-T, AHD-R) แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ดีกว่ายา

cisplatin และสารสกัดจากเหง้าที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (AHE-R) แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) ได้ดีกว่ายา cisplatin

ผลการศึกษาร่องประกอบทางเคมีของสารสกัดจากประตัตตอย ได้แก่ สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตตจากกิ่ง (AME-T) สารสกัดหยาบจากเหง้า ชั้นเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและ นอร์มอลบิวทานอล (AMH-R, AME-R, AMN-R) พบสารองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างได้ ทั้งหมด 14 ชนิด เป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 10 ชนิด ได้แก่ lupeol acetate (1), lupenone (2), lupeol (3), friedelin (4), 3-ketooleanane (5), taraxerol (6), α -amyrin (7), β -amyrin (8), 3 α -friedelinol (12) และ taraxerone (13) สารประเภท sterols 2 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol (9) และ stigmast-4-en-3-one (15) สารประเภท xanthone 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (14) สารประเภท ferulate ester 1 ชนิด คือ *trans*-octadecyl ferulate (11) และสารอนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ 1 ชนิด ที่ได้จากปฏิกิริยา acetylation ของส่วนสกัดย่อย คือ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งน่าจะเกิดจาก การเติมหมู่ acetyl ของสาร *trans*-octadecyl ferulate (11) สารองค์ประกอบทั้ง 15 ชนิด มีเพียง *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ที่เป็นสารใหม่ ไม่เคยมีรายงานในพืช หรือ จากปฏิกิริยาเคมี ส่วนสารอีก 14 ชนิด มีรายงานการพบในพืชหลายชนิด แต่ยังไม่มีการพบในพืชประตัตตอย รายละเอียดชนิดของสารสกัดจากประตัตตอย ที่พบสารทั้ง 15 ชนิดนี้สรุปได้ในตาราง 17 และโครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของประตัตตอย แสดงในรูป 37

ตาราง 17 ชนิดของสารสกัดจากประตัตตอย ที่พบสารองค์ประกอบ

สารองค์ประกอบ	ชนิดของสารสกัด			
	AMH-R	AME-R	AMN-R	AME-T
lupeol acetate (1)	✓	-	-	-
lupeone (2)	✓	-	-	✓
lupeol (3)	✓	✓	-	✓
friedelin (4)	✓	✓	-	✓
3-ketooleanane (5),	✓	-	-	-
taraxerol (6)	✓	-	-	✓
α -amyrin (7)	✓	-	-	-
β -amyrin (8)	✓	-	-	-
β -sitosterol (9)	✓	✓	-	✓
<i>O</i> -acetyl- <i>trans</i> -octadecyl ferulate (10)	✓ (by acetylation)	-	-	-
<i>trans</i> -octadecyl ferulate (11)	-	✓	-	✓
3 α -friedelinol (12)	-	✓	-	✓
taraxerone (13)	-	✓	-	✓
2,7-dihydroxyxanthone (14)	-	✓	✓	-
stigmast-4-en-3-one (15)	-	-	-	✓



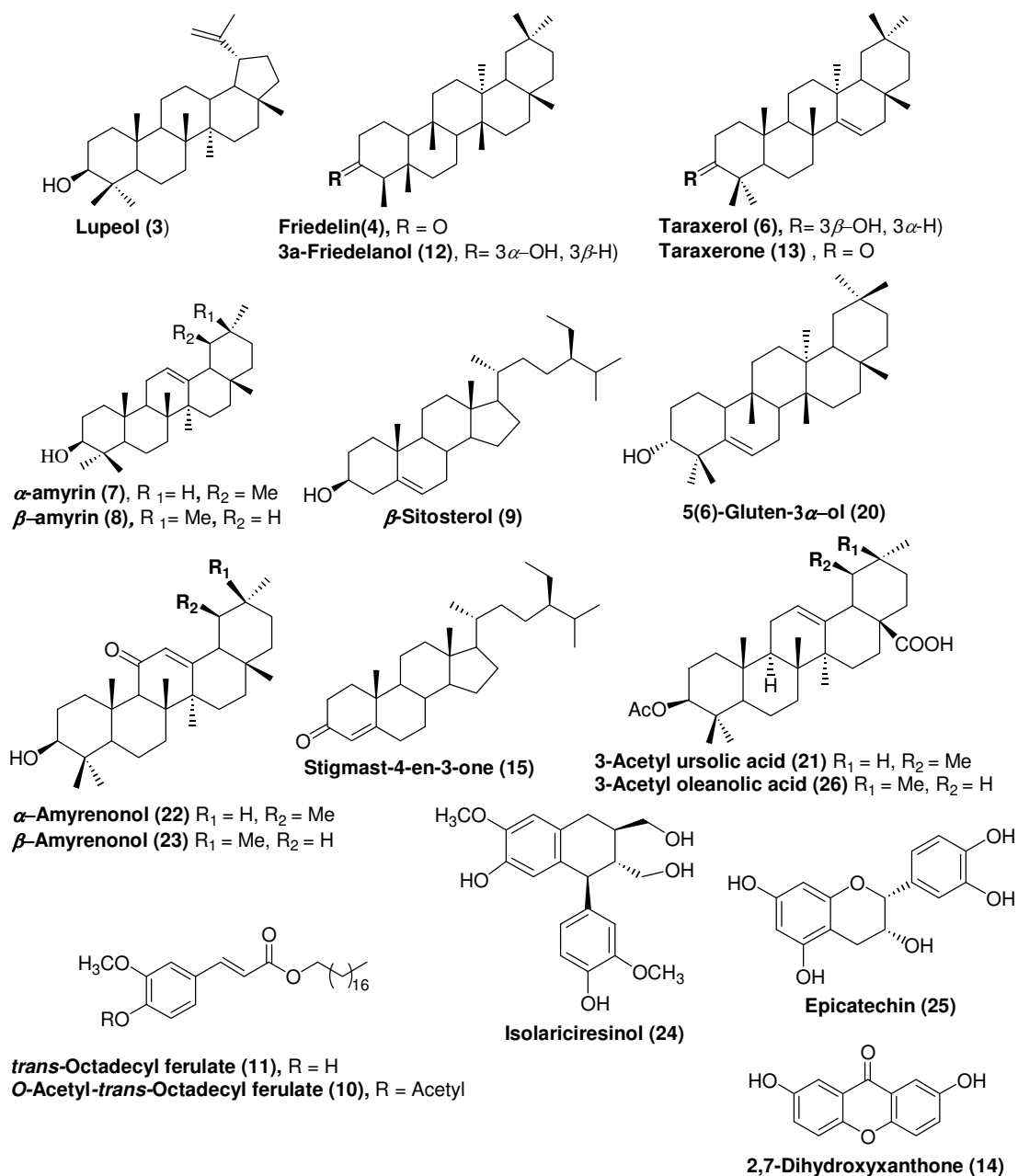
รูป 37 โครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของประทัดดอย

ผลการศึกษาร่องรอยทางเคมีของสารสกัดจากสะเท้านม ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบ ชันไดคลอโรมีเทน (AHD-L) และ เมทานอล (AHM-L) สารสกัดหยาบจากกิ่ง ชันไดคลอโรมีเทน (AHD-T) เอทิลอะซิเตต (AHE-T) และ เมทานอล (AHM-T) สารสกัดหยาบจากเหง้า ชันไดคลอโรมีเทน (AHD-R) เอทิลอะซิเตต (AHE-R) และ เมทานอล (AHM-R) พบสารองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างได้ทั้งหมด 19 ชนิด เป็นสารที่ซ้ำกับที่พบในสารสกัดจากประทัดดอย 12 ชนิด และพบใหม่อีก 7 ชนิด สารทั้งหมดที่พบ มีเพียง 17 ชนิด ที่เป็นสารองค์ประกอบในสารสกัดจากสะเท้านม ซึ่งเป็นสารประเภท pentacyclic triterpenoids 11 ชนิด ได้แก่ lupeol (3), friedelin (4), taraxerol (6), α -amyrin (7), β -amyrin (8), 3 α -friedelanol (12), taraxerone (13), 5(6)-gluten-3 α -ol (20), α -Amyrenonol (22), β -Amyrenonol (23) และ 3-acetyl oleanolic acid (26) สารประเภท sterols 2 ชนิด ได้แก่ β -sitosterol (9) และ stigmast-4-en-3-one (15) สารประเภท xanthone 1 ชนิด คือ 2,7-dihydroxyxanthone (14) สารประเภท ferulate ester 1 ชนิด คือ *trans*-octadecyl ferulate (11) สารประเภท lignin 1 ชนิด คือ isolariciresinol (24) และสารประเภท proanthocyanidin 1 ชนิด คือ epicatechin (25) ส่วนสารอีก 2 ชนิด เป็นสารอนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ ที่ได้จากปฏิกิริยา acetylation ของส่วนสกัดย่อย ได้แก่ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ซึ่งน่าจะเกิดจากการเติมหมู่ acetyl ของสาร *trans*-octadecyl ferulate (11) และ 3-acetyl ursolic acid (21) ซึ่งน่าจะเกิดจากการเติมหมู่ acetyl ของสาร ursolic acid สารองค์ประกอบทั้ง 19 ชนิด มีเพียง *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) ที่เป็นสารใหม่ ไม่เคยมี

รายงานในพืช หรือ จากปฏิกิริยาเคมี สารอีก 17 ชนิด มีรายงานการพบในพืชหลายชนิด แต่ยังไม่มีรายงานการพบในพืชสะเทาะลม ส่วนสารอีก 1 ชนิด คือ β -sitosterol มีรายงานการพบในพืชสะเทาะลม รายละเอียดชนิดของสารสกัดจากสะเทาะลม ที่พบสารทั้ง 19 ชนิดนี้สรุปได้ในตาราง 18 และโครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของสะเทาะลม แสดงในรูป 38

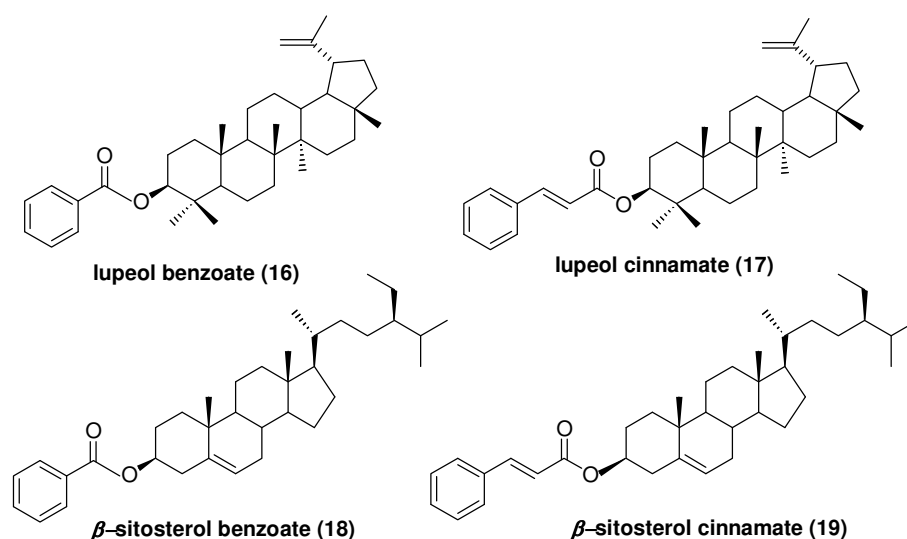
ตาราง 18 ชนิดของสารสกัดจากสะเทาะลม ที่พบสารองค์ประกอบ

สารองค์ประกอบ	ชนิดของสารสกัด							
	AHD-L	AHM-L	AHD-T	AHE-T	AHM-T	AHD-R	AHE-R	AHM-R
lupeol (3)	✓	✓	✓	-	-	-	-	-
friedelin (4)	✓	✓	-	-	-	-	-	-
taraxerol (6)	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	-
α -amyrin (7)	✓	✓	-	-	-	-	-	-
β -amyrin (8)	✓	-	-	-	-	-	-	-
β -sitosterol (9)	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓
O-acetyl-trans-octadecyl ferulate (10)	-	-	-	-	-	✓ (acetylation)	-	-
trans-octadecyl ferulate (11)	-	-	-	-	-	✓	-	-
3 α -friedelanol (12)	✓	-	-	-	-	-	-	-
taraxerone (13)	-	-	✓	-	-	✓	-	-
2,7-dihydroxyxanthone (14)	-	-	-	-	-	-	✓	-
stigmast-4-en-3-one (15)	-	-	-	-	-	✓	✓	-
5(6)-gluten-3 α -ol (20)	✓	-	-	-	-	-	-	-
3-acetyl ursolic acid (21)	✓ (acetylation)	-	-	-	-	-	-	-
α -amyrenonol (22)	-	✓	-	-	-	-	-	-
β -amyrenonol (23)	-	✓	-	-	-	-	-	-
isolariciresinol (24)	-	✓	-	-	-	-	-	-
epicatechin (25)	-	-	-	✓	✓	-	-	✓
3-acetyl oleanolic acid (26)	-	-	-	-	-	✓	-	-



รูป 38 โครงสร้างของสารองค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดของสะเกลอม

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดของประทัดดอย และ สะเกลอม พบสาร lupeol (3) และ β-sitosterol (9) ในปริมาณมาก ดังนั้น จึงทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ ที่เป็นเอสเทอร์ของสารทั้งสอง โดยทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับ benzoic acid และ cinnamic acid ได้สาร 4 ชนิด คือ lupeol benzoate (16), lupeol cinnamate (17) β-sitosterol benzoate (18) และ β-sitosterol cinnamate (19) คิดเป็น %yield เท่ากับ 31%, 37%, 30% และ 51% ตามลำดับ สารทั้ง 4 ชนิดนี้ เป็นสารใหม่ 2 ชนิด คือ β-sitosterol benzoate (18) และ β-sitosterol cinnamate (19) ส่วน lupeol benzoate (16) และ lupeol cinnamate (17) มีรายงานการพบในพืชหลายชนิด และจากปฏิกิริยาเคมี โครงสร้างของเอสเทอร์แสดงในรูป 39



รูป 39 โครงสร้างเอสเทอร์ของ lupeol และ β -sitosterol จากการสังเคราะห์

จากผลการศึกษาองค์ประกอบในสารสกัดของประทัดดอยและสะเทาะลม รวมถึงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารองค์ประกอบ วิเคราะห์สารได้ทั้งหมด 26 ชนิด นำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity) ฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค (anti-TB) เชื้อไวรัสเริม (anti-HSV-1) และ เชื้อมาลาเรีย (anti-malaria) ผลที่ได้พบว่า สาร phenolic compounds ได้แก่ *trans*-octadecyl ferulate (11), 2,7-dihydroxyxanthone (14) และ epicatechin (25) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดีมาก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.33, 0.68 และ 4.55 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับ วิตามินซี และ BHT พบว่า 2,7-dihydroxyxanthone (14) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับ วิตามินซี และสูงกว่า BHT เล็กน้อย สำหรับ isolaricresinol (24) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้เกือบดีมาก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.49 $\mu\text{g/ml}$ และ *O*-acetyl-*trans*-octadecyl ferulate (10) มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ปานกลาง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 14.77 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) มะเร็งช่องปาก (KB) เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187, NCI-H1299, A549) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7, MDA-MB-231) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) พบว่า สาร lupeol (3) ออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A-549) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 39.49 $\mu\text{g/ml}$ สาร β -sitosterol (9) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 6.73 $\mu\text{g/ml}$ (16.26 μM) สาร β -sitosterol benzoate (18) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 30.46 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ (anti-proliferation) มะเร็งปอด 2 ชนิด (NCI-H1299 และ A549) เซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด (MCF-7 และ MDA-MB-231) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) เทียบกับ ยา cisplatin และ etoposide พบว่าสาร β -sitosterol (9) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ดีมาก ซึ่งดีกว่ายา etoposide และ cisplatin ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.77 $\mu\text{g/ml}$ (1.86 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม

(MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.15 และ 6.15 $\mu\text{g/ml}$ (12.44 และ 14.85 μM) แต่มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 24.90 $\mu\text{g/ml}$ สาร β -sitosterol benzoate (18) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก และดีกว่ายา cisplatin ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.20 $\mu\text{g/ml}$ (2.32 μM) และมีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ดีมากเช่นกัน ซึ่งดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.88 $\mu\text{g/ml}$ (7.49 μM) สาร β -sitosterol cinnamate (19) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 7.90 $\mu\text{g/ml}$ (14.52 μM) สาร lupeol (3) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.56 $\mu\text{g/ml}$ (10.70 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้ปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.39 $\mu\text{g/ml}$ (12.65 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง แต่ดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 12.30 $\mu\text{g/ml}$ (28.87 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H1299) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 40.90 $\mu\text{g/ml}$ สาร lupeol benzoate (16) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีปานกลาง ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.33 $\mu\text{g/ml}$ (10.06 μM) สาร lupeol cinnamate (17) มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้ปานกลาง และดีกว่ายา etoposide ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 12.30 $\mu\text{g/ml}$ (22.12 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 45.43 $\mu\text{g/ml}$ สาร O-acetyl-trans-octadecyl ferulate (10) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.90 $\mu\text{g/ml}$ (7.99 μM) มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) และเซลล์มะเร็งปอด (A549) ได้เล็กน้อยด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 21.69 และ 40.4 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สาร epicatechin (25) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ดีมากด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.18 $\mu\text{g/ml}$ (4.07 μM) ในขณะที่สาร isolariciresinol (24) สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ได้เล็กน้อย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 37.37 และ 48.61 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

1. Pooma, R. *Encyclopedia of Plants in Thailand*, Office of the Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department.
2. Pooma, R.; Suddee, S.; Chamchumroon, V.; Koonkhunthod, N.; Phattarahirankanok, K.; Sirimongkol, S.; Poopath, M. *A preliminary Check- list of Threatened Plants in Thailand*. Forest Herbarium, Thailand, **2005**, P 193.
3. Santisuk, T.; Chayamarit, K.; Pooma, R.; Suddee, S. *Thailand Red Data: Plants*. Office of Natural Resources and environmental Policy and Planning, Bangkok, **2006**, P 219
4. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และ พันธุ์พืช [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา www.dnp.go.th/.../html/Agapetes%20megacarpa.htm [30 มีนาคม 2552]
5. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.rspg.org/rare_plants/scien_name_a4.htm [30 มีนาคม 2552]
6. บ้านนกตะวัน [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา <http://noktawan.multiply.com/journal> [10 กุมภาพันธ์ 2554]
7. Deng, J. and Chen, Y. *Peop. Rep. China. Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao* (Journal written in Chinese). 1991, 12(6), 757-60
8. Chen, Y.; Meng, Y. and Cheng, X. *China journal of Chinese materia medica*, 1990, 15 (9), 549-51
9. Lee, H.; Lee, K.; Jung, J.K.; Cho, J.; Theodorakis, E.A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 15, 2745-2748.
10. Balantyne, B; Gad Shayne, C. *General and applied toxicology*. USA, Grove's dictonari's Inc. **1999**, p.178.
11. Kongkathip, N; Luangkamin, S.; Kongkathip, B.; Sangma, C.; Grigg, R.; Kongsearee, P.; Prabpai, S.; Pradidphol, N.; Piyaviriyagul, S.; Siripong, P. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (18): 4427-4438.
12. Mutai, C.; Abatis, D.; vagias, C.; Moreau, D.; Roussakis, C.; Roussis, V. *Phytochemistry*. **2004**, 65, 1159-1164.
13. Jamel, A. K.; Yaacob, W. A.; Din, L. B. *Euro. J. Sci. Res.* **2009**, 28(1): 76-81.
14. Ono, M.; Koto, M.; Komatsu, H.; Igoshi, K.; Kobayashi, H.; Ito, Y.; Nohara, T. *Food Sci. Technol. Res.* **2004**, 10(1), 56-59.
15. Fotie, J.; Bohle, D.S.; Leimanis, M.L.; Geoffrey, E.; Rukunga, G.; Nkengfack, A.E. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 62-67.

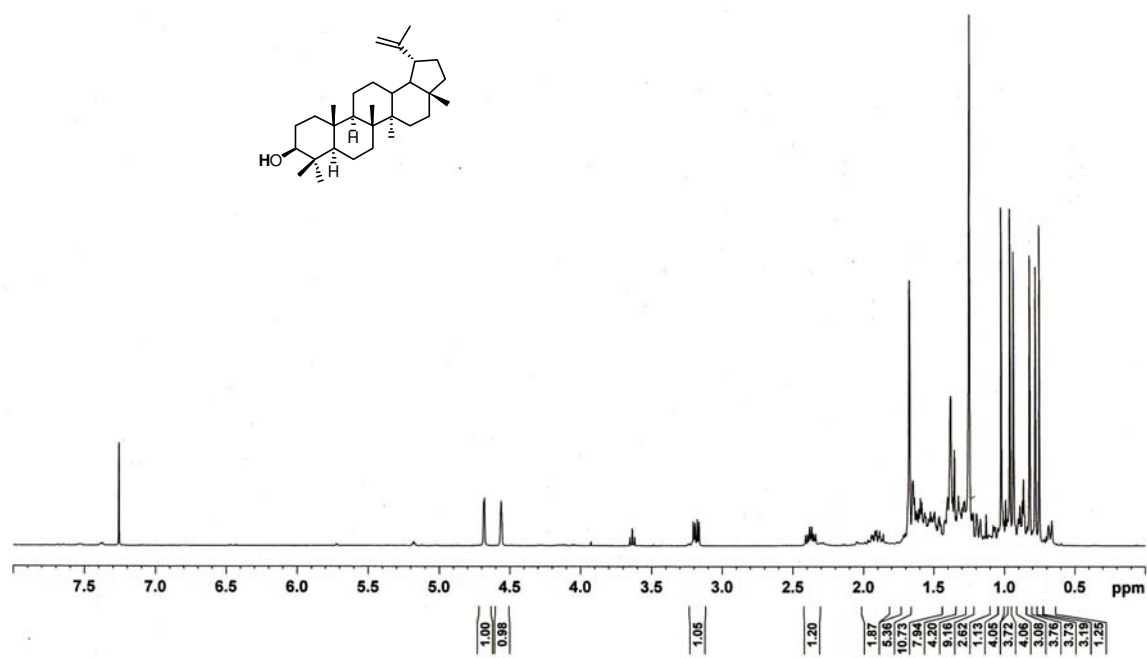
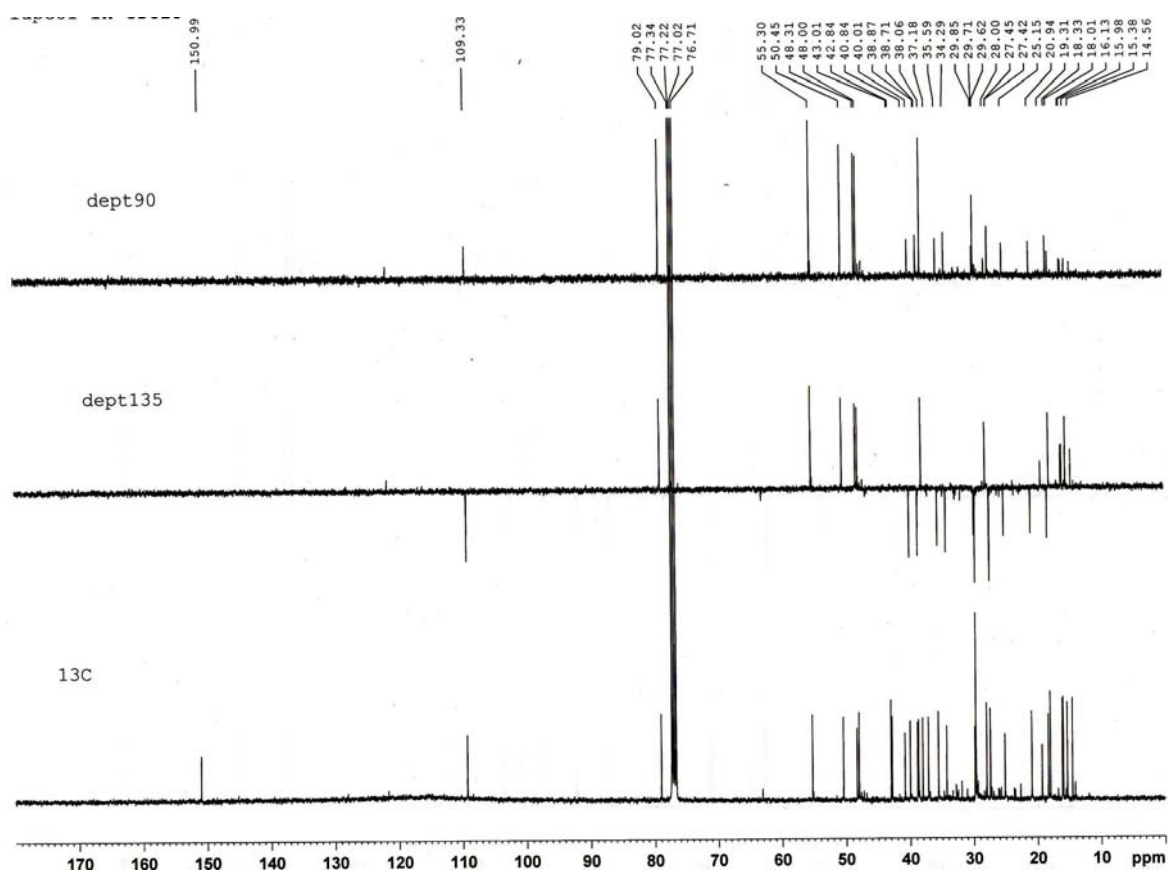
16. Imam, S.; Azhar, I.; Hasan, M. M.; Ali, M. S.; Ahmed, S.W. *J. Pharm. Sci.*, **2007**, 20(2), 125-127.
17. Setzer, W. N.; Shhen, X.; bates, R. B.; Burns, J. R.; McClure, K. J.; Zhang, P.; Moriarity, D. M.; Lawton, R. O. *Fitoterapia*. **2000**, 71, 195-198.
18. Kong, C. H.; Chen, L. C.; Xu, X. H.; Wang, P.; Wang, S. L. *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, 56, 11734-11739.
19. Krishnaveni, K. S.; Rao, J. V. S. *Fitoterapia*, **2000**, 71, 10-13.
20. Kiem, P. V.; Minh, C. V.; Huong, H. T.; Nam, N. H.; Lee, J. J. *Arch. Pharm. Res.*, **2004**, 27(1), 1109-1113.
21. Susidarti, R.A.; Rahmanri, M.; Ismail, H.B.M.; Sukari, M.A.; Hin, T.; Lian, G.E.C.; Ali, A.M.; Kulip, J.; Waterman, P.G. *Nat. Prod. Res.*, **2006**, 20, 145-151.
22. Huang, X. Z.; Liu, Y.; Yu, S. S.; Hu, Y. C.; Qu, J. *J. Integrative plant Biol.*, **2007**, 49(11), 1615-1618.
23. Jin, W. Y.; Cai, X. F.; Na, M.; Lee, J. J.; Bae, K. *Arch. Pharm. Res.*, **2007**, 30(4), 412-418.
24. Kolak, U.; Topcu, G.; Birtoksoz, S.; Otuk, G.; Ulubelen, A. *Turk. J. Chem.*, **2005**, 29, 177-186.
25. Januario, A.H.; Vieira, P.C.; Fatima, M.; Fernandes, G.; Fernandes, J.B. *Quim. Nova.*, **2009**, 32 (8), 2034-2038.
26. Matsunaga, S.; Tanaka, R.; Akagi, M. *Phytochemistry*. **1988**, 27(2), 535-537.
27. Herath, H. M. T. B.; Athukoralage, P. S. *Nat. Prod. Sci.* **1998**, 4(4), 253-256.
28. Vega, M. R. G.; Carvalho, M. G.; Vieira, I. J. C.; Raimundo, B. F. *J. Nat. Med*, **2008**, 62, 122-123.
29. Silva, J.R.A.; Pinto, C.M.R.C.; Pinheiro, M.L.B.; Timborini, M.C.C.E.; Young, C.M.; Bolzani, V.S. *Quim. Nova.* **1998**, 21(6), 702-704.
30. Gnoatto, S.C.B.; Dassonville-Klimpt, A.; Nascimento, S.D.; Galera, P.; Boumediene, K.; Gosmann, G.; Sonnet, P.; Moslemi, S. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 1865-1877.
31. Hichri, F.; Jannet, H.B.; Cheriaa, J.; Jegham, S.; Mighri, Z. *C.R. Chimie.*, **2003**, 6, 473-483.
32. Ueda, K.; Herz, W.; Pachter, I. J. *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 271-272.
33. Wood, C.A.; Lee, K.; Vaisberg, A. J.; Kingston, D. G. I.; Neto, C.C.; Hammond, G. B. A. *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49(11), 1477-1478.

34. Kolak, U.; Topcu, G.; Birteksoz, S.; Otuk, G.; Ulubelen, A. *Turk. J. Chem.* **2005**, 29, 177-186.
35. Jamaluddin, F.; Mohamed, S.; Lajis, Md. N. *Food Chem.* **1995**, 54, 9-13.
36. Fonseca, F.N.; Ferreira, A.J.S.; Sartorelli, P.; Lopes, N.P.; Floh, E.I.S.; Handro, W.; Kato, M.J. *Phytochemistry*. **2000**, 55, 575-580.
37. Tosa, H.; Iinuma, M.; Murakami, K.; Ito, T.; Tanaka, T.; Chelladurai, V.; Riswan, S. *Phytochemistry*, **1997**, 45 (1), 133-136.
38. Erdemoglu, N.; Sener, B.; Ozcan, Y.; Ide, S. *J. Mol. Struct.*, **2003**, 655: 459-466.
39. Bonzanini, F.; Bruni, R.; Palla, G.; Serlataite, N.; Caligiani, A. *Food Chem.* **2009**, 117, 745-749.
40. Foo, L.Y.; Lu, Y.; Howell, A.B.; Vorsa, N. *Phytochemistry*. **2000**, 54, 173-181.
41. Fluka catalog of chemical substances, [Available]
http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=E1753|SIGMA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC [July, 2011]
42. Geetha, T.; Chopra, A.G.K.; Kaur, I.P. *Mutat Res.* **2004**, 556, 65-74.
43. Singh, P.P.; Chauhan, A.S.M.S. *Food Chem.* **2009**, 114, 1069-1072.
44. Anselmi, C.; Centini, M.; Granata, P.; Segal, A.; Buonocore, A.; Bernini, A.; Facino, R.M. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 6452-6432.
45. Mohamed, I. E.; Ei Nur, E. B.; Choudhary, M. I.; Khan, S. *Res. Nat. Prod.* **2009**, 3(4), 198-203.
46. Madureira, A.M.; Ascenso, J. R.; Valdfira, L.; A.; Frade, J. P.; Freitas, G.; Ferreira, M. J. *U. Nat. Prod. Res.* **2003**, 17(5), 375-380.
47. Akihisa, T.; Yasukawa, K.; Oninuma, H.; Kasahara, Y.; Yamanouchi, S.; Takido, M.; Kumaki, K.; Tamura, T. *Phytochemistry*, **1996**, 43(6), 1255-1260.
48. Nakanishi, T.; Inatomi, Y.; Murata, H.; Shigeta, K.; Iida, A.; Murata, J.; Farrera, M.A.P.; Iinuma, M.; Tanaka, T.; Tajima, S.; Oku, N. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, 53(2), 229-231.
49. Ono, M.; Koto, M.; Komatsu, H.; Igoshi, K.; Kobayashi, H.; Ito, Y.; Nohara, T. *Food Sci. Technol. Res.* **2004**, 10(1), 56-59.
50. Ramesh, N.; Viswanathan, M. B.; Saraswathy, A.; Balakrishna, K.; Brindha, P.; Lakshmanaperumalsamy, P. *Fittoterapia* **2001**, 72: 934-936.
51. Reyes-Chilpa, R.; Estrada-Muniz, E.; Apan, T.R.; Amekraz, B.; Aumelas, A.; Jankowski, C.K.; Vazquez-Torres, M. *Life Sci.* **2004**, 75, 1635-1647.
52. Kuete, V.; Komguem, J.; Penlap Beng, V.; Meli, A.L.; Tangmouo, J.G.; Etoa, F.X.; Lontsi, D. *S. Afr. J. Bot.*, **2007**, 73, 347-354.

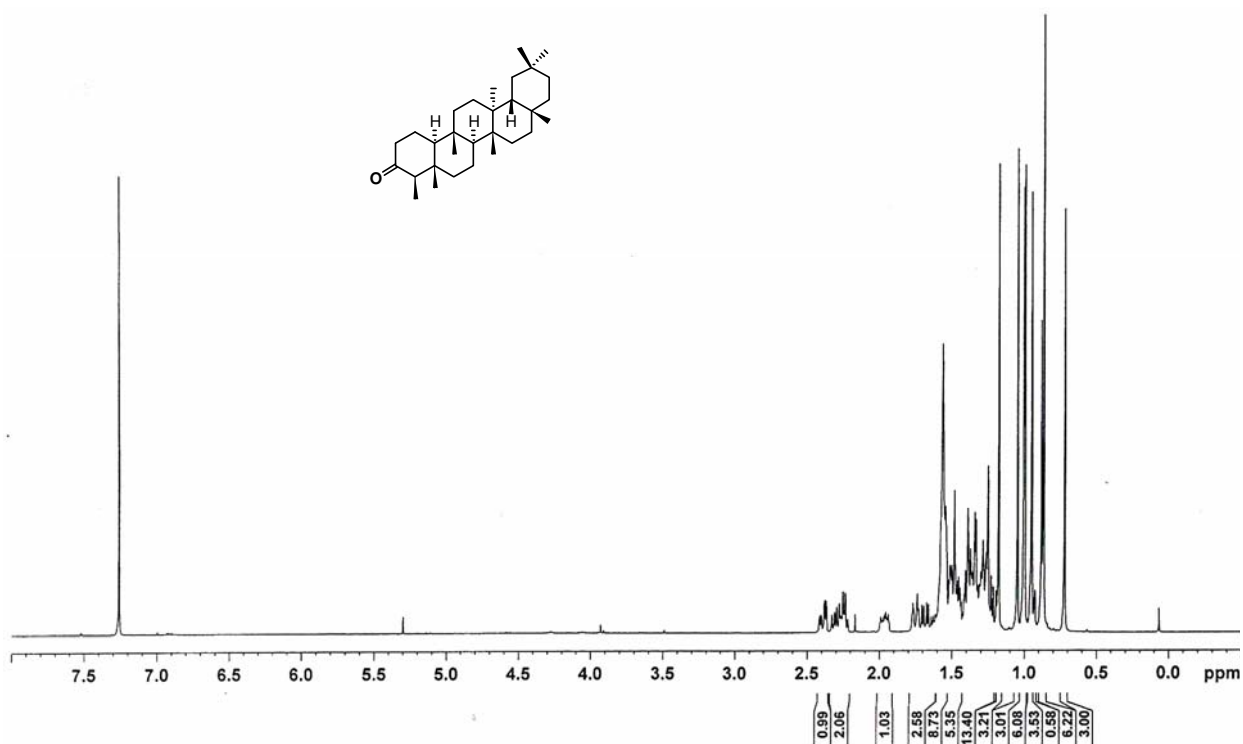
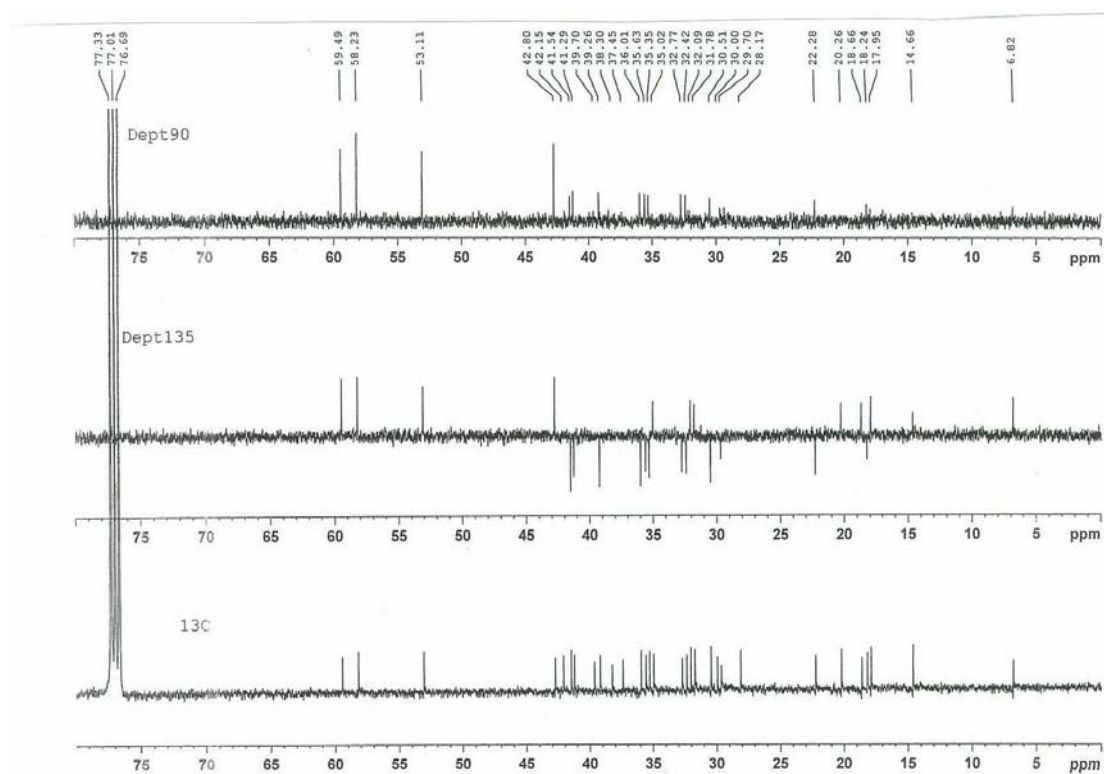
53. Gnoatto, S.C.B.; Dassonville-Klimpt, A.; Nascimento, S.D.; Galera, P.; Boumediene, K.; Gosmann, G.; Sonnet, P.; Moslemi, S. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 1865-1877.
54. Tu, H.; Huang, A.; Wei, B.; Gan, K.; Hour, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17: 7265-7274.
55. Kanokmedhakul, K.; Kanokmedhakul, S.; Phatchana, R. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, 100, 284-288.
56. Nguyen, A. T.; Malonne, H.; Duez, P.; Vanhaelen-Fastre, R.; Vanhaelen, M.; Fontaine, M. V. *Fitoterapia.* **2004**, 75, 500- 504.
57. Ding, Y.; Nguyen, H. T.; Kim, S. I.; Kim, H. W.; Kim, Y. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19, 3607-3610.
58. Malek, S. N. A.; Shin, S. K.; Wahab, N. A.; Yaacob, H. *Molecule*, **2009**, 14, 1713-1724.
59. Kupeli, E.; Erdemoglu, N.; Yesilada, E.; Sener, B. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, 89, 265-270.
60. Gurbuz, I.; Erdemoglu, N.; Yesilada, E.; Sener, B. *Z. Naturforsch.*, **2004**, 59c, 233-236.

รูป 2 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupenone (100 MHz) ใน CDCl_3

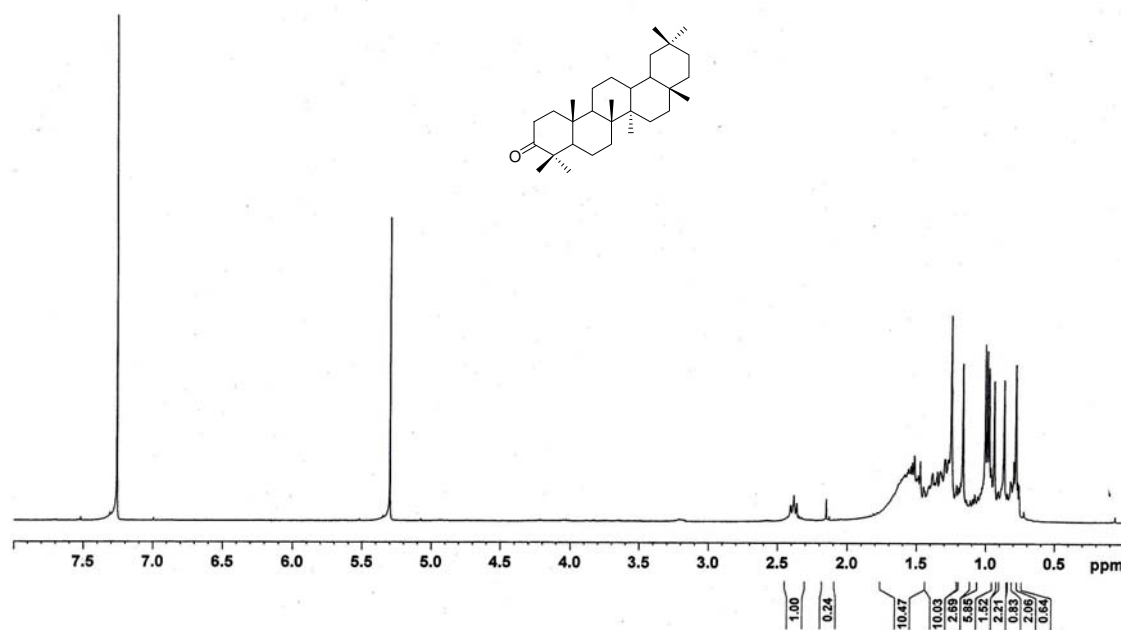
Lupeol (3)

รูป 3 ^1H -NMR สเปกตรัมของ lupeol (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 4 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol (100 MHz) ใน CDCl_3

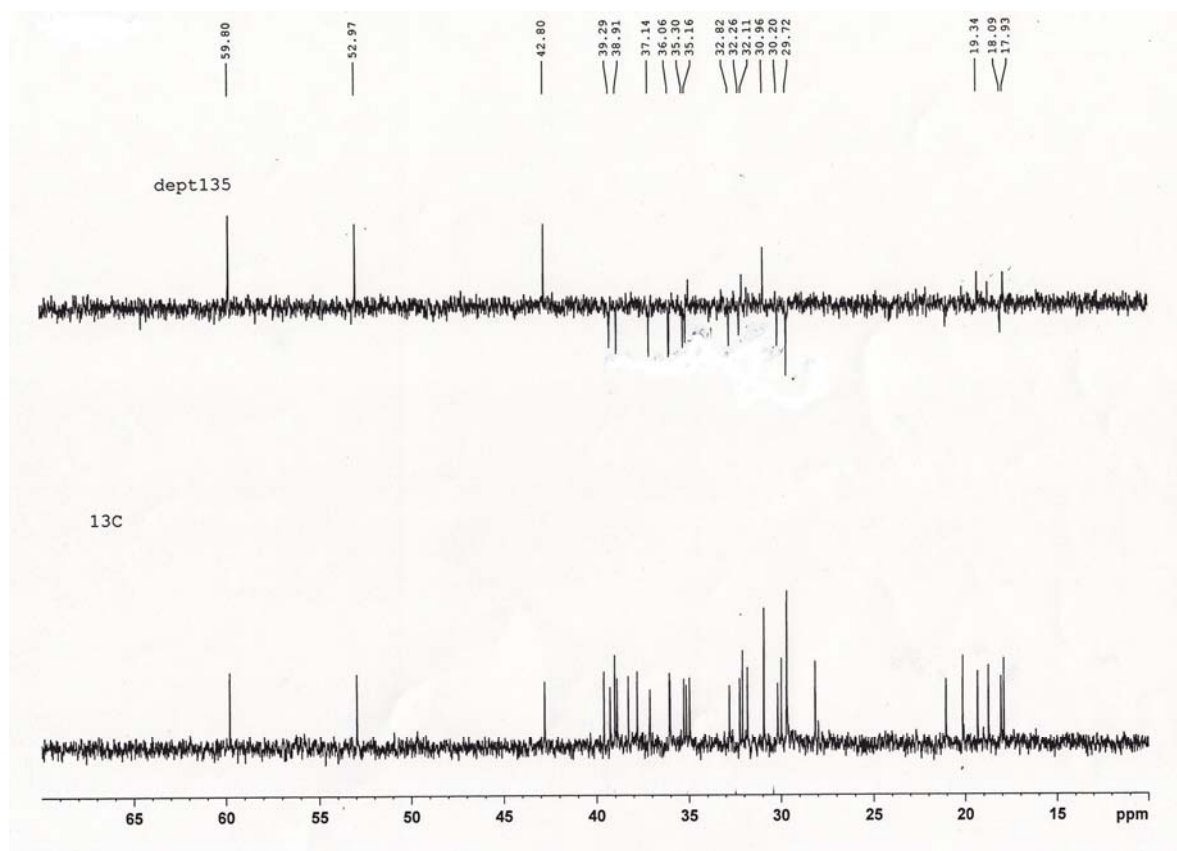
Friedelin (4)

รูป 5 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ friedelin (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 6 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ friedelin (100 MHz) ใน CDCl_3

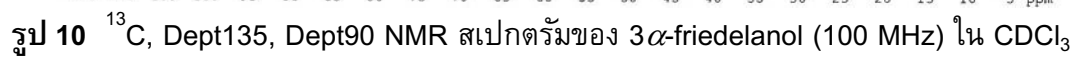
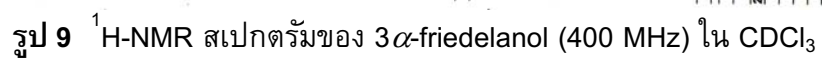
3-Ketooleanane (5)

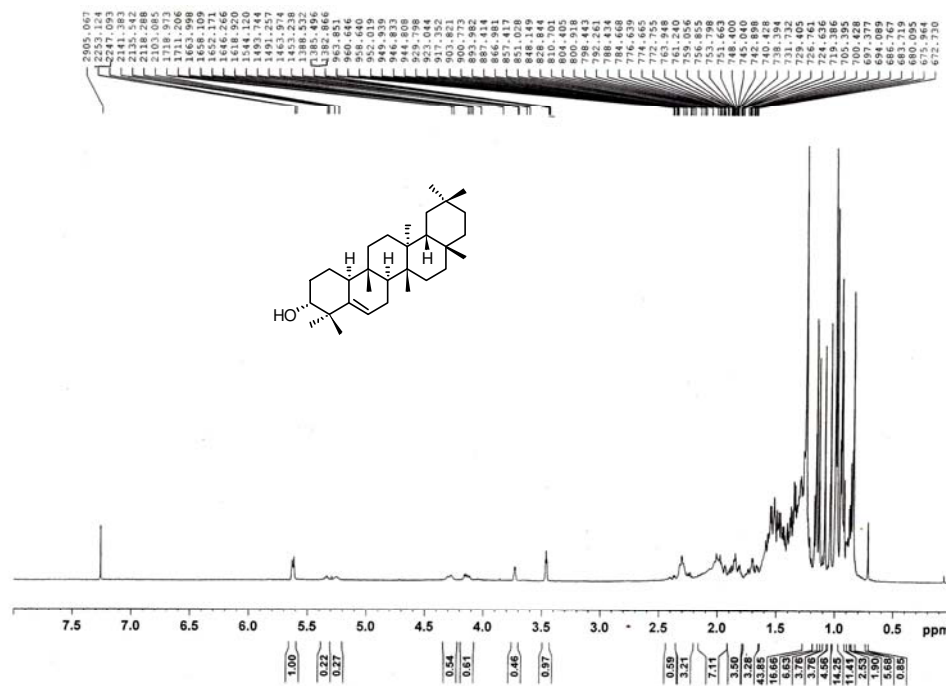
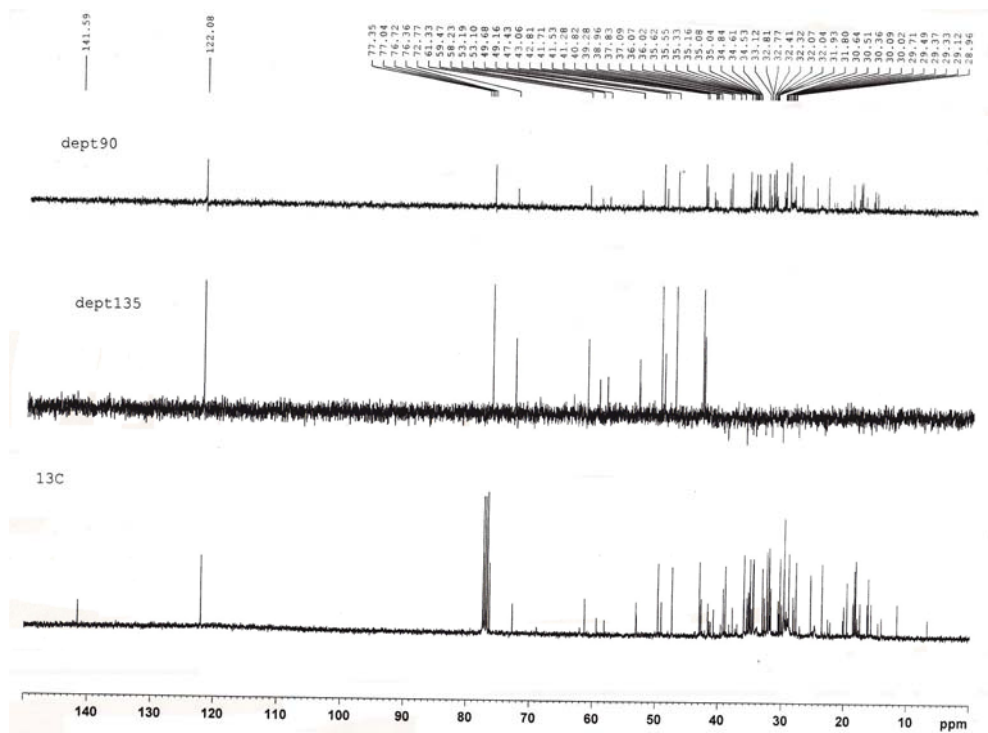


รูป 7 ^1H -NMR สเปกตรัมของ 3-ketooleanane (400 MHz) ใน CDCl_3

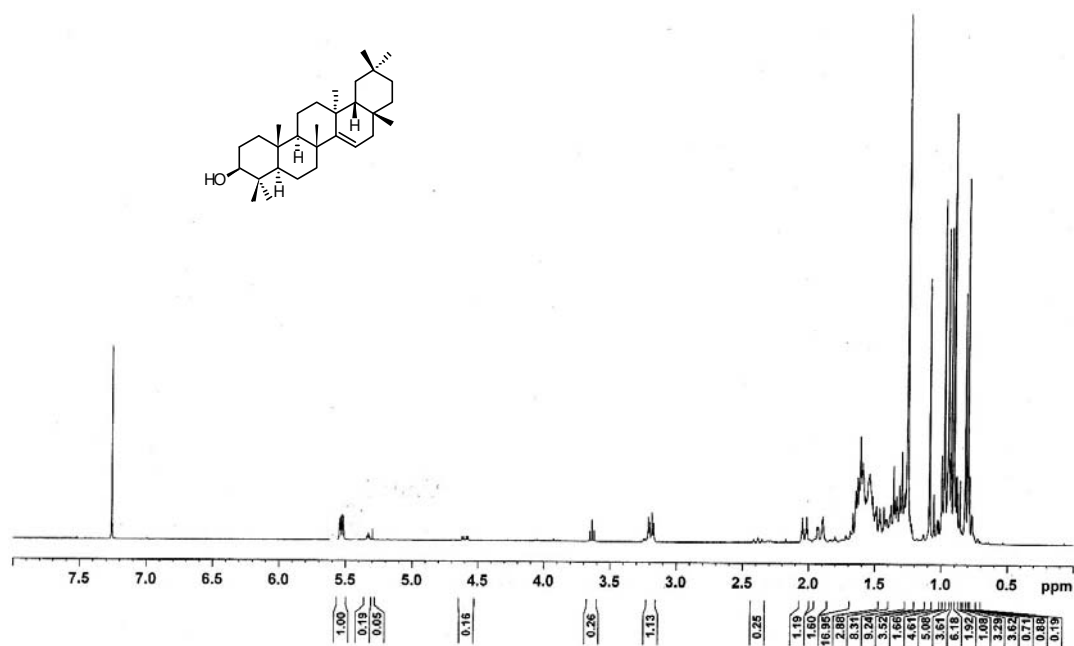
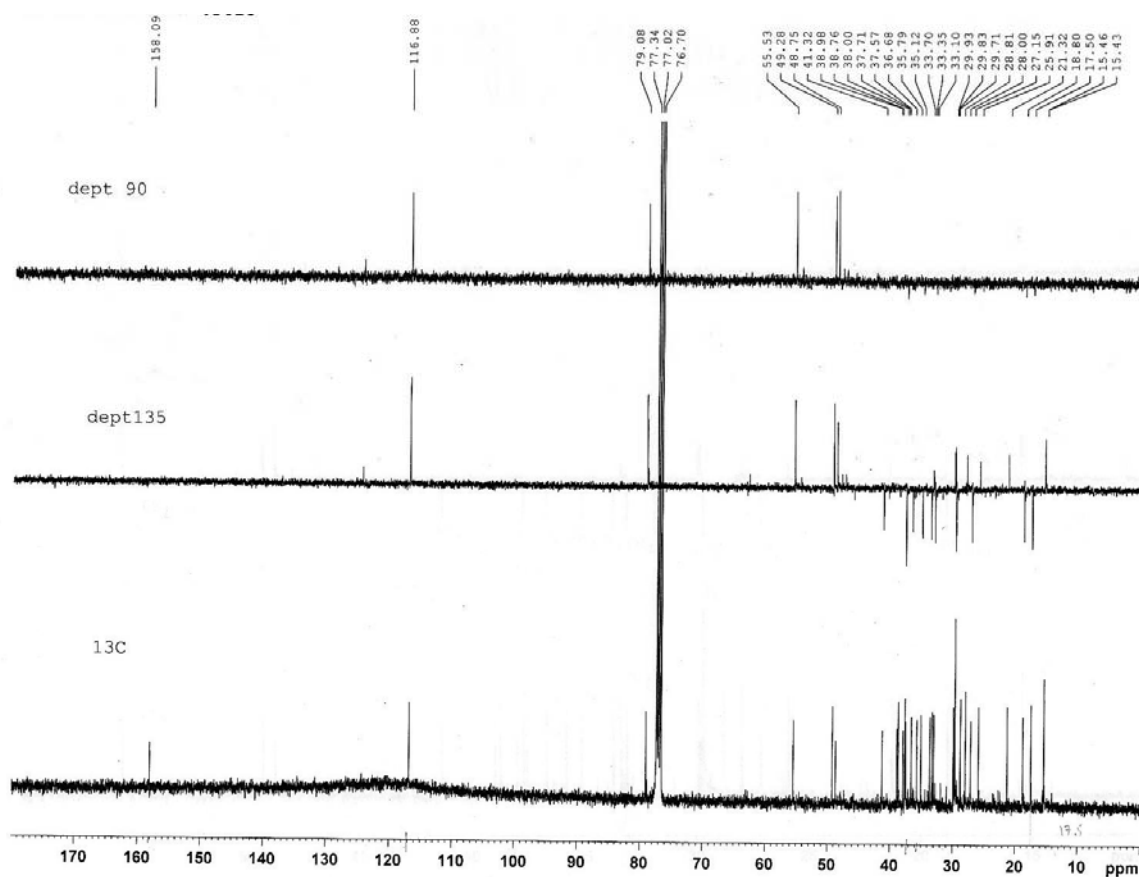


รูป 8 ^{13}C และ Dept135 NMR สเปกตรัมของ 3-ketooleanane (100 MHz) ใน CDCl_3

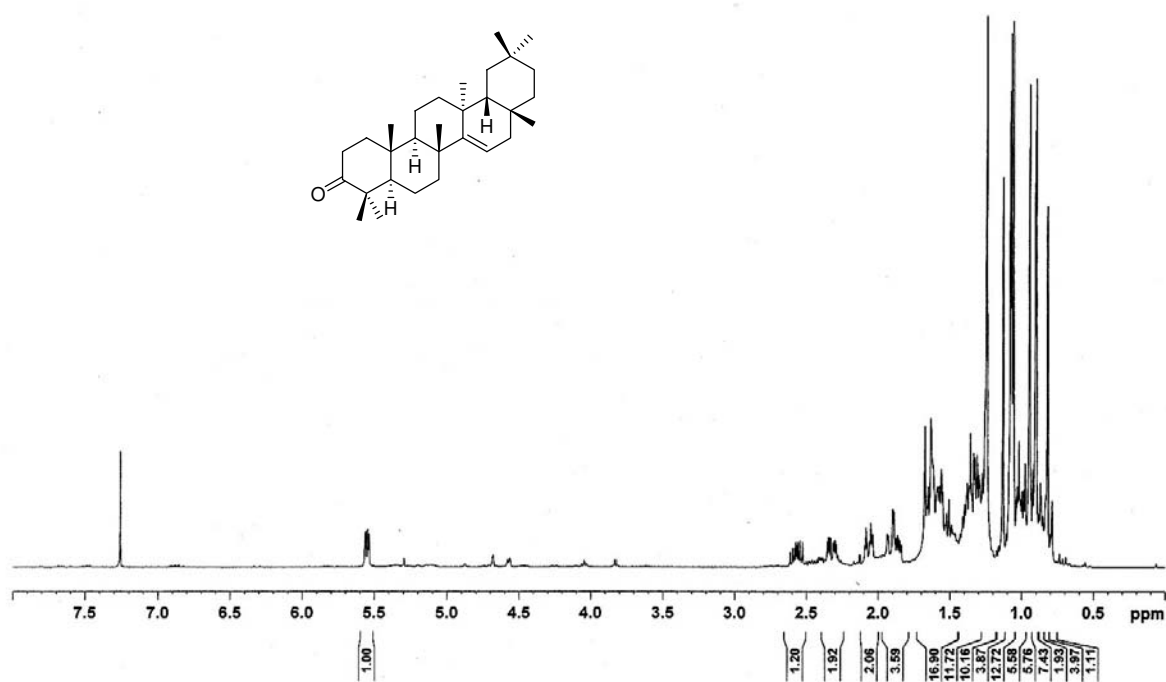
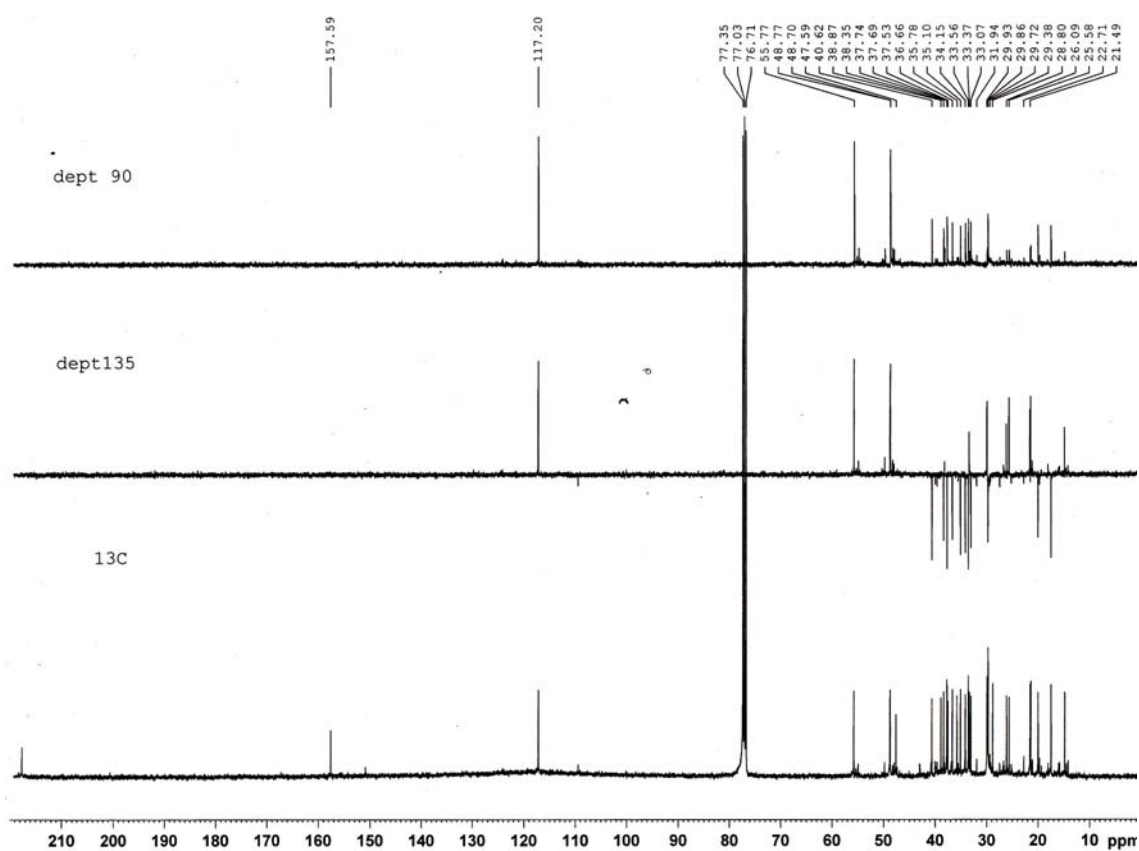


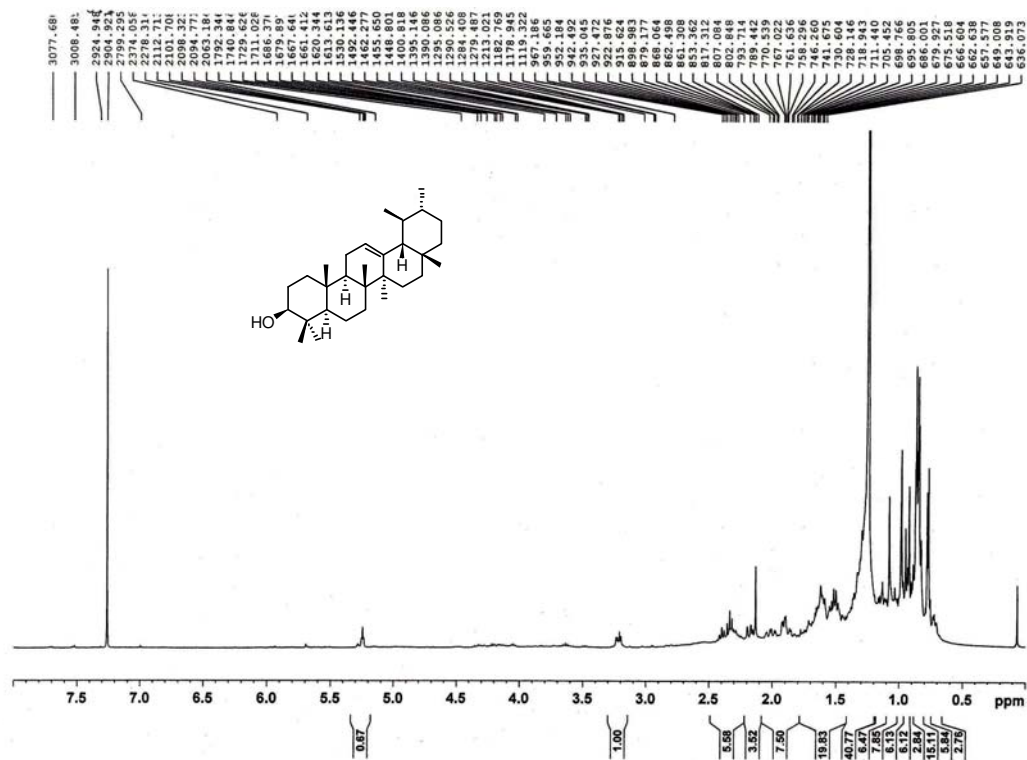
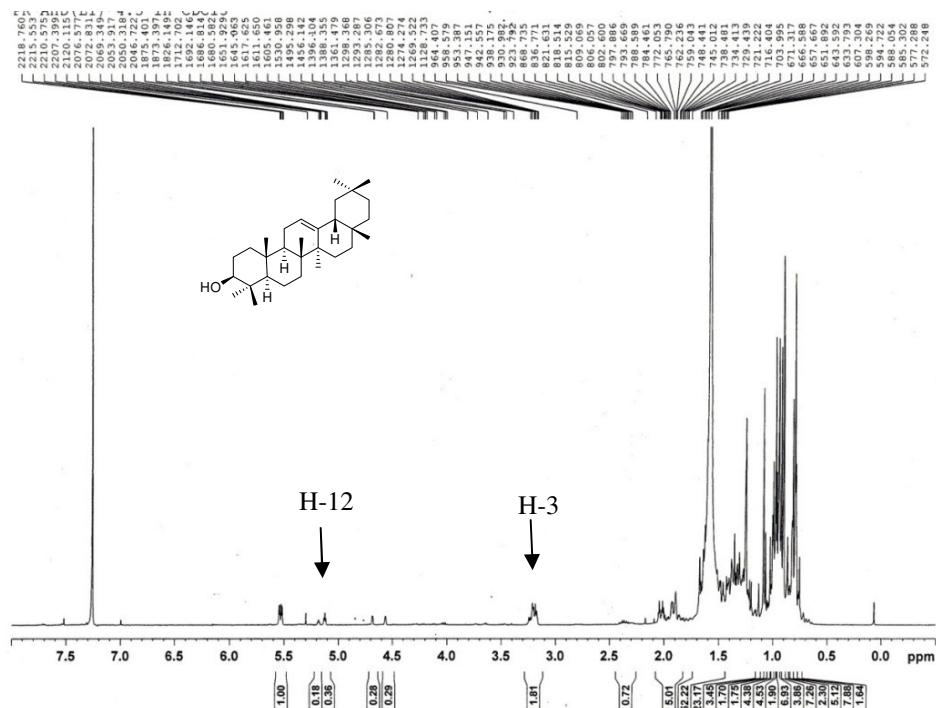
5(6)-Gluten-3 α -ol (20)รูป 11 ^1H -NMR สเปกตรัมของ 5(6)-gluten-3 α - (องค์ประกอบหลัก) (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 12 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ 35(6)-gluten-3 α - (องค์ประกอบหลัก) (100 MHz) ใน CDCl_3

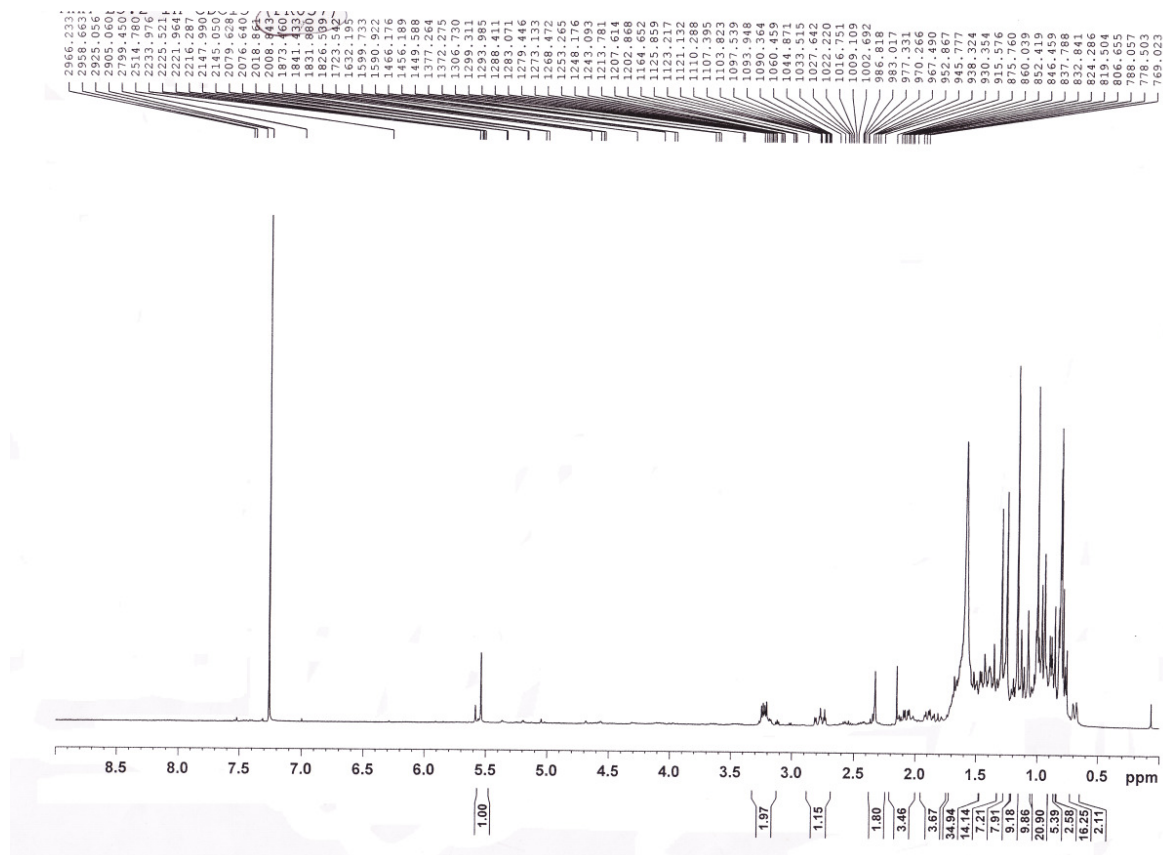
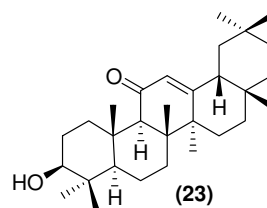
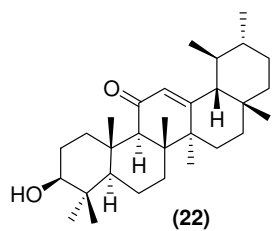
Taraxerol (6)

รูป 13 ^1H -NMR สเปกตรัมของ taraxerol (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 14 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ taraxerol (100 MHz) ใน CDCl_3

Taraxerone (13)

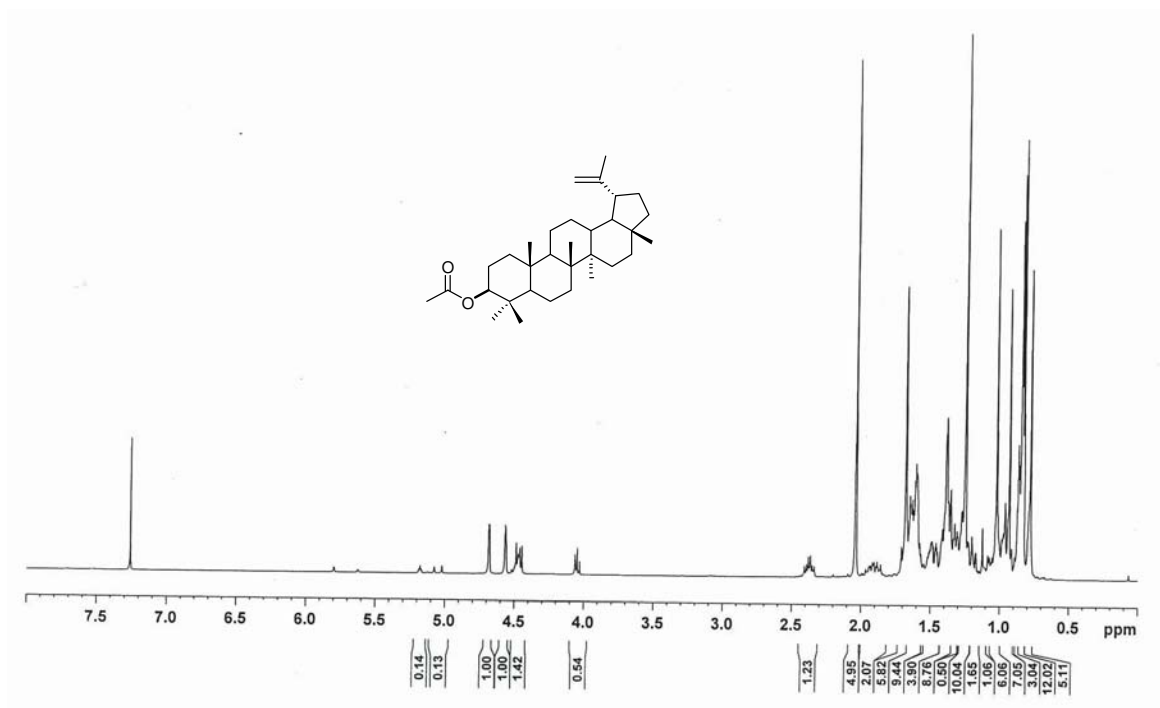
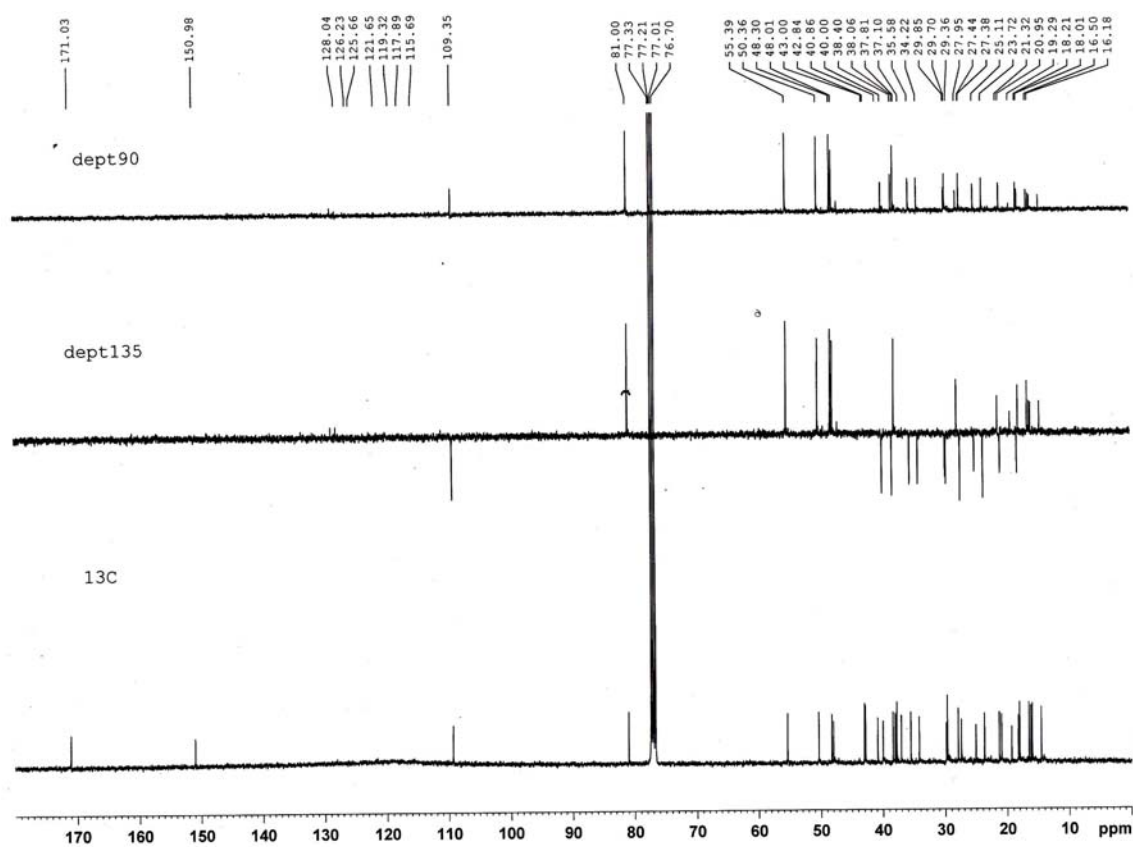
รูป 15 ^1H -NMR สเปกตรัมของ taraxerone (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 16 ^{13}C , DEPT135, DEPT90 NMR สเปกตรัมของ taraxerone (100 MHz) ใน CDCl_3

α -Amyrin (7)รูป 17 ¹H-NMR สเปกตรัมของ α -amyrin (400 MHz) ใน CDCl₃ **β -Amyrin (8)**รูป 18 ¹H-NMR สเปกตรัมของ β -amyrin (องค์ประกอบรอง) (400 MHz) ใน CDCl₃

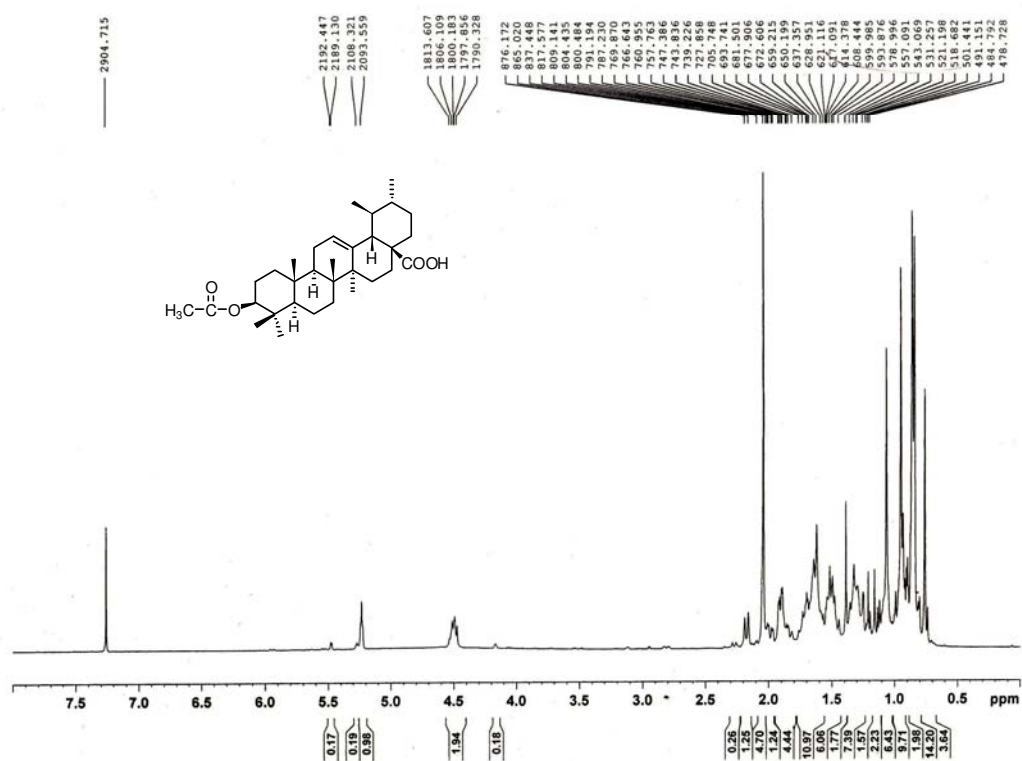
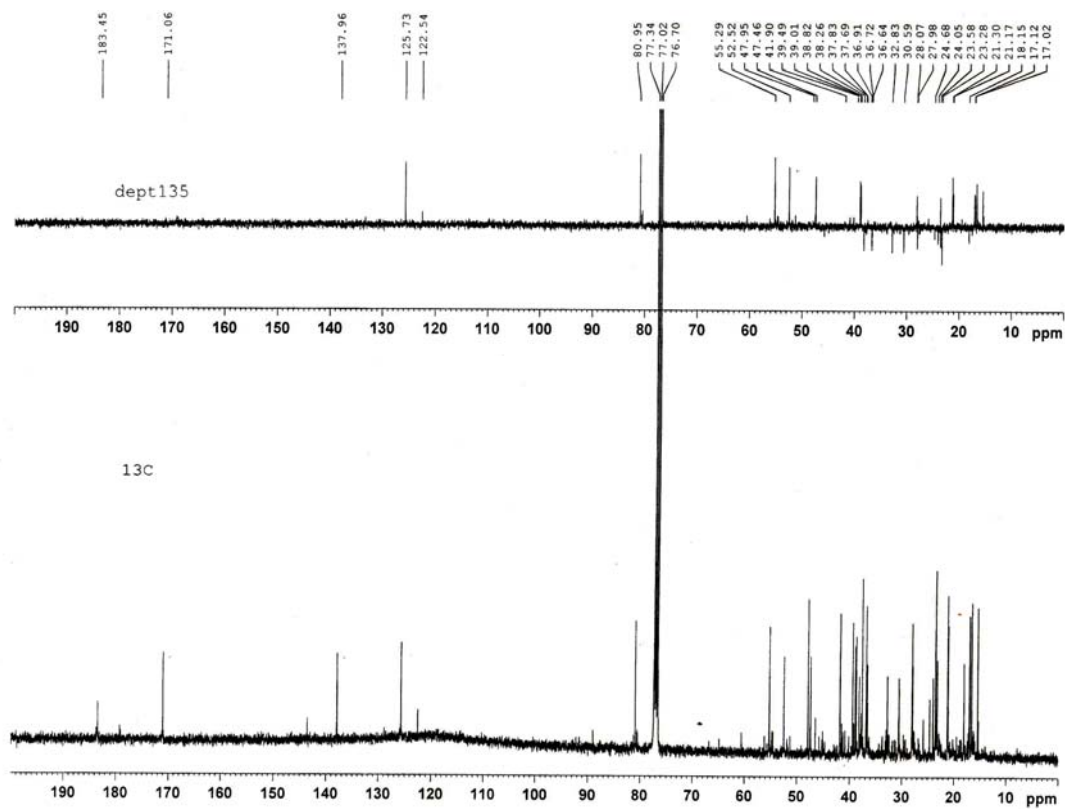
α -Amyrenol (22) และ β -Amyrenol (23)

รูป 19 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ α -Amyrenol (22) และ β -Amyrenol (23)
(อัตราส่วนประมาณ 6 : 1) (400 MHz) ใน CDCl_3

Lupeol acetate (1)

รูป 20 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ lupeol acetate (400 MHz) ใน CDCl_3 รูป 21 ^{13}C , Dept135, Dept90 NMR สเปกตรัมของ lupeol acetate (100 MHz) ใน CDCl_3

3-Acetyl ursolic acid (21)

รูป 22 ¹H-NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl ursolic acid (400 MHz) ใน CDCl₃รูป 23 ¹³C, Dept135 NMR สเปกตรัมของ 3-acetyl ursolic acid (100 MHz) ใน CDCl₃