

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

(1 สิงหาคม 2540 – 31 กรกฎาคม 2543)

การเสาะหาสารเคมีชนิดใหม่เพื่อการเกษตร

(Searching for New Agrochemicals)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ขวศิริ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ดร.อุดม กักพล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

(1 สิงหาคม 2540 – 31 กรกฎาคม 2543)

การเสาะหาสารเคมีชนิดใหม่เพื่อการเกษตร

(Searching for New Agrochemicals)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ขวศิริ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ดร.อุดม ถักผล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ PDF/56/2540
รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ การเสาะหาสารเคมีชนิดใหม่เพื่อการเกษตร
ชื่อหัวหน้าโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ
รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 1 สิงหาคม 2540 – 31 กรกฎาคม 2543

1. Executive Summary

การดำเนินงานวิจัยและผลงานวิจัยโดยย่อ

งานวิจัยที่ได้ศึกษาต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 3 ปี เริ่มต้นจากการคัดเลือกพันธุ์ไม้ไทยโดยการสกัดพืชตัวอย่าง 19 ชนิดและทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* Linn.) เบื้องต้น พบว่า พันธุ์ไม้ 3 ชนิดให้ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นที่น่าสนใจ จึงได้ดำเนินการศึกษาต่อเพื่อค้นหาสารออกฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ พันธุ์ไม้ที่แสดงฤทธิ์ทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ผลตะบูนขาว *Xylocarpus granatum* Koen., เหง้าไพล *Zingiber cassumunar* Roxb. และรากโศดทะนงแดง *Trigonostemon reidiodes* (Kurz) Craib.

ได้สกัดผลตะบูนขาวด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้แก่ ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล และได้แยกองค์ประกอบของผลตะบูนขาวในส่วนที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ คือ สกัดไดคลอโรมีเทนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้สารทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ ของผสมของเอสเทอร์โซ่ตรง, ของผสมแอลกอฮอล์โซ่ตรง (C_{25} , C_{27-30}), ของผสมสเตียรอยด์ (β -sitosterol, stigmasterol และ campesterol), ของผสมกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง (C_{17-25} , C_{27}), ของผสมสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ และสารลิโมนอยด์สองชนิด ชนิดหนึ่งพิสูจน์ทราบสูตรโครงสร้างว่าเป็น 7-oxo-7-deacetoxy gedunin อีกชนิดหนึ่งพบว่าเป็นสารลิโมนอยด์ชนิดใหม่ จากการยืนยันสูตรโครงสร้างด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีต่างๆ รวมทั้งข้อมูลจาก X-ray crystallography ให้ชื่อลิโมนอยด์ใหม่นี้ว่า xylococcensin K ลิโมนอยด์ทั้งสองชนิดแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับที่น่าสนใจ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่จากเหง้าไพล พบว่า สามารถแยกสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้สองชนิดคือ veratraldehyde และ curcumin นอกจากนี้ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ veratraldehyde และสารที่เกี่ยวข้อง พบว่า นำไปสู่การค้นพบสารที่แสดงฤทธิ์ดีกว่าสารต้นแบบ คือ piperonal และ 3,4-dihydroxybenzaldehyde

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและค้นหาสารออกฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่จากสิ่งสกัดจากรากโศดทะนงแดง พบว่า สารออกฤทธิ์ได้แก่ acetyl alueritolic acid และของผสมสเตียรอยด์

การศึกษาครั้งนี้ ทำให้ค้นพบสารออกฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝักรุ่นขนาดใหญ่หลายชนิด ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำไปประยุกต์เป็นสารด้านการกินของแมลงที่เป็นปัญหาคอพิษเศรษฐกิจของไทยต่อไปในอนาคตได้

2. ผลงานวิจัย

2.1 บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่ของประเทศเป็นเกษตรกร วิธีการที่จะทำให้กระบวนการผลิตทางการเกษตรมีประสิทธิภาพสูงขึ้นวิธีการหนึ่งเกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีเพื่อการเกษตรในการป้องกันแมลง จุลชีพ และวัชพืช ซึ่งเป็นศัตรูต่อพืชปลูกหรือสัตว์เลี้ยง สารเคมีเพื่อการเกษตรที่ใช้อยู่ในประเทศไทยร้อยละ 99 เป็นสารเคมีนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ประเทศไทยเสียเงินตราออกจากประเทศปีละมากกว่า แปดพันเจ็ดร้อยล้านบาท (ข้อมูลปี 2001)

นอกเหนือจากการสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศ การใช้สารเคมีเพื่อฆ่าแมลงและจุลชีพซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ที่มีอยู่ในท้องตลาดเป็นเวลานาน จะทำให้เกิดผลเสียต่อระบบนิเวศทั้งทางกายภาพและชีวภาพแล้ว และอาจทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีที่ตกค้างได้ นอกจากนี้เป็นที่ยอมรับว่าแมลงหรือจุลชีพหลายชนิดมีการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อต้านสารเคมีที่ใช้ ซึ่งทำให้สารเคมีสังเคราะห์ดังกล่าวไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกต่อไป ดังนั้นการเสาะหาสารเคมีเพื่อการเกษตรชนิดใหม่โดยมีพื้นฐานจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร จะเป็นแนวทางที่มีศักยภาพที่จะนำไปสู่การค้นพบสารเคมีเพื่อการเกษตรชนิดใหม่เพื่อการพัฒนาประเทศที่ยั่งยืนต่อไป ทั้งนี้เนื่องจากสารเคมีที่มีที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มักแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างจำเพาะเจาะจง และย่อยสลายได้เองตามกระบวนการทางธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดจากพันธุ์ไม้และวัชพืชของไทยบางชนิดเบื้องต้น
2. เพื่อเสาะหาสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากพันธุ์ไม้และวัชพืชดังกล่าว เพื่อใช้เป็นสารเคมีเพื่อการเกษตร
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของสูตร โครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ทางการเกษตร
4. เป็นการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ โดยการผนวกความรู้เคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและเคมีสังเคราะห์เพื่อนำไปสู่ความเข้าใจถึงโครงสร้างที่สำคัญของสารออกฤทธิ์ทางการเกษตร

2.2 การรวบรวมพันธุ์ไม้และการสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น

ได้รวบรวมพันธุ์ไม้และวัชพืชที่มีประวัติที่น่าสนใจ 19 ชนิด ได้แก่ ประยงค์ *Aglaia odorata* Lour. ส่วนใบ, น้อยหน่า *Annona squamosa* Linn. ส่วนใบ, สะเดาไทย *Azadirachta indica* var *Siamensis* Valetton ส่วนลำต้น, ตรีโครีหอม *Cymbopogon nardus* Rendel. ทั้งต้น, เถาวัลย์เปรียง *Derris scandens* Benth. ส่วนลำต้น, กานพลู *Eugenia caryophyllus* Bullock & Harrison ส่วนดอก, สาบเสือ *Epatorium odoratum* Linn. ทั้งต้น, หญ้าหาง *Euphorbia hirta* Linn. ทั้งต้น, น้านมราชสีห์ *Euphorbia hypericifolia* Linn. ทั้งต้น, หญ้าคา *Imperata cylindrica* Beauv. ส่วนรากและลำต้น, กำแพงเจ็ดชั้น *Litosanthes biflora* Blume. ส่วนเนื้อไม้, จันทน์ชะมด *Mansonia gagei* Drumm. ส่วนเนื้อไม้, แก้ว *Murraya paniculata* Jack. ส่วนใบ, ทองพันชั่ง *Rhinacanthus communis* Nees ทั้งต้น, หญ้าค้อนกลอง *Sphaeranthus africanus* Linn. ทั้งต้น, โลดทะนงแดง *Trigonostemon reidioides* (Kurz) Craib ส่วนราก, ตะบูนขาว *Xylocarpus granatum* Koen. ส่วนใบและผล, ตะบูนดำ *Xylocarpus mulluccensis* Roem. ส่วนเนื้อไม้ และไพล *Zingiber cassumunar* Roxb. ส่วนเหง้า นำมาตากแห้ง แยกส่วนและบดละเอียด สกัดเบื้องต้นโดยการแช่เอทานอลที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 7 วัน ทำซ้ำๆ กัน 2-3 ครั้ง กรองและระเหยตัวทำละลายออก จะได้สิ่งสกัดเอทานอล นำสิ่งสกัดเอทานอลที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่

2.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่เบื้องต้น

ดำเนินการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพตามวิธีการที่ได้รายงานไว้ ผลการทดลองเบื้องต้นแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่ของสิ่งสกัดเอทานอลจากพันธุ์ไม้และวัชพืชไทย

Family	Plant	Plant part	Antifeedant activity
Acanthaceae	<i>Rhinacanthus communis</i> Nees	Whole plant	++
Anonaceae	<i>Annona squamosa</i> Linn.	Leaves	++
Compositae	<i>Eupatorium odoratum</i> Linn.	Whole plant	++
	<i>Sphaeranthus africanus</i> Linn.	Whole plant	+++
Euphorbiaeae	<i>Euphorbia hirta</i> Linn.	Whole plant	++
	<i>Euphorbia hypericifolia</i> Linn.	Whole plant	++
	<i>Trigonostemon reidioides</i> (Kurz) Craib	Root	+++
Gramineae	<i>Cymbopogon nardus</i> Rendel	Whole plant	++
	<i>Imperata cylindrica</i> Beauv	Root	+
		Stem	+++
Leguminosae	<i>Derris scandens</i> Benth	Stem	-
Meliaceae	<i>Aglaia odorata</i> Lour	Leaves	++
	<i>Azadirachta indica</i>	Branch	+
		Stem	++
	<i>Xylocarpus granatum</i> Koen.	Leaves	++
		Fruits	+++
	<i>Xylocarpus mulluccensis</i> Roem.	Heartwoods	+++
Myrtaceae	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Flower	+++
Rubiaceae	<i>Litodanthes biflora</i> Blume	Whole plant	-
Rutaceae	<i>Murraya paniculata</i> Jack	Leaves	+
Sterculiaceae	<i>Mansonia gagei</i> Drumm.	Heartwoods	-
Zingiberaceae	<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.	Rhizomes	+++

หมายเหตุ +++ high activity (71-100%) ++ medium activity (41-70%)
 + low activity (11-40%) - no activity (0-10%)

จากผลการทดสอบเบื้องต้น จึงมุ่งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลตะบูนขาว เหง้าไพลและราก โคลงหนงแดง เพื่อเสาะหาสารด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่

ส่วนที่ 1 การเสาะหาสารด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่จากผลตะบูนขาว

เก็บผลตะบูนขาว จากอำเภอคลองตง จังหวัดสมุทรสงคราม ตากแห้งและบดละเอียด จำนวน 9 กิโลกรัม สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและเอทานอล ตามลำดับ นำสิ่งสกัดเอทานอลที่ได้มาสกัดด้วยบิวทานอล จะได้สิ่งสกัดรวมทั้งสิ้นสี่ส่วน คือ สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (I) สิ่งสกัดบิวทานอล (II) ชั้นของแข็ง (III) และสิ่งสกัดเอทานอลที่เหลือ (IV) นำสิ่งสกัดแต่ละส่วนไปทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนฯ อีกครั้ง เพื่อตามฤทธิ์ทางชีวภาพ น้ำหนักของสิ่งสกัดในแต่ละส่วนและผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนฯ แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 น้ำหนักของของสิ่งสกัดที่ได้, เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับพืชเริ่มต้น และผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกิน

สิ่งสกัด	น้ำหนัก (กรัม), % yield เทียบกับพืชเริ่มต้น	Antifeedant activity
ไดคลอโรมีเทน (I)	158, 1.76%	+++
บิวทานอล (II)	85, 0.94%	++
ส่วนของแข็ง (III)	397, 4.41%	+
เอทานอลที่เหลือ (IV)	53, 0.60%	+

หมายเหตุ +++ high activity (71-100%) ++ medium activity (41-70%)
 + low activity (11-40%) - no activity (0-10%)

จากการทดสอบพบว่า สิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนแสดงฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ ที่น่าสนใจที่สุด จึงดำเนินการแยกและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนเพื่อเสาะหาสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าว

จากการแยกสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน (I) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกหรือทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ หรือใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีอื่นๆ เช่น โครมาโทกราฟี หรือ medium pressure liquid chromatography สามารถแยกสารได้ 7 ชนิด และได้ดำเนินการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารทั้งเจ็ดโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี และการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าเป็นของผสมของเอสเทอร์ไฮโดรเจน (1), ของผสมแอลกอฮอล์ไฮโดรเจน (C_{25} , C_{27-30}) (2), ของผสมสเตียรอยด์ (β -sitosterol, stigmasterol และ campesterol) (3), ของผสมกรดคาร์บอกซิลิกไฮโดรเจน (C_{17-25} , C_{27}) (4), ของผสมสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ (5), และลิโมนอยด์สองชนิด (6 และ 7) โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับการพิสูจน์สูตรโครงสร้างเพิ่มเติมดังนี้

สาร (6) แยกได้จากสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน โดยการชะคอลัมน์ด้วย 80% ไดคลอโรมีเทน-เฮกเซน เมื่อตกผลึกด้วยเมทานอลหลายครั้งจะได้ของแข็งสีขาวแวววาวจำนวน 50 มิลลิกรัม จุดหลอมเหลว 258-260 °C ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีแสดงไว้ข้างล่างนี้

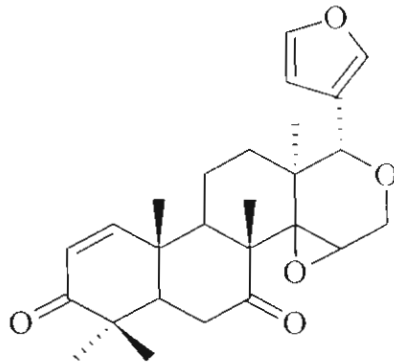
UV-Vis λ_{max} (CH_2Cl_2): 232 nm ($\log \epsilon = 4.61$)

IR (KBr) 3120-3020, 1740, 1710, 1670 และ 1290-1000 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1.13 (3H, s, CH_3), 1.14 (3H, s, CH_3), 1.16 (3H, s, CH_3), 1.27 (3H, s, CH_3), 1.40 (3H, s, CH_3), 1.48 (1H, m, H-12), 1.84 (1H, m, H-11, H-12), 2.01 (1H, m, H-9), 2.20 (2H, m, H-5, H-11), 2.41 (1H, dd, $J = 13.7$ and 3.1 Hz, H-6), 2.93 (1H, dd, $J = 14.6$ and 4.8 Hz, H-6), 3.88 (1H, s, H-15), 5.47 (1H, s, H-17), 5.92 (1H, d, $J = 10.10$ Hz, H-2), 6.37 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-22), 7.14 (1H, d, $J = 10.07$ Hz, H-1), 7.39 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-21) และ 7.42 (1H, s, H-23)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 17.1 (1C, C-11), 17.3 (1C, C-18), 19.8 (1C, C-25), 20.6 (1C, C-19), 20.8 (1C, C-26), 26.9 (1C, C-24), 32.1 (1C, C-12), 36.7 (1C, C-6), 37.7 (1C, C-13), 39.5 (1C, C-10), 45.6 (1C, C-4), 47.5 (1C, C-5), 53.3 (1C, C-8), 53.6 (1C, C-15), 54.6 (1C, C-9), 65.6 (1C, C-14), 77.9 (1C, C-17), 109.7 (1C, C-22), 120.1 (1C, C-20), 126.3 (1C, C-2), 140.9 (1C, C-23), 143.1 (1C, C-21), 155.9 (1C, C-1), 166.8 (1C, C-16), 203.2 (1C, C-3) และ 208.2 (1C, C-7)

จากสมบัติทางกายภาพ, ข้อมูลสเปกโทรสโกปีและการค้นคว้าจากเอกสารอ้างอิงพบว่า ลิโมนอยด์ (6) คือ 7-Oxo-7-deacetoxy gedunin^{2,3}



อย่างไรก็ดี จากการพิจารณาข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีอย่างละเอียดพบว่าการรายงานค่า chemical shift ของสาร (6) ในเอกสารอ้างอิง³ มีบางตำแหน่งไม่ถูกต้อง จึงได้เสนอค่า chemical shift ณ ตำแหน่งดังกล่าวใหม่ โดยอาศัยข้อมูลยืนยันจาก two dimension NMR spectrum (COSY, NOESY) ดังแสดงในตารางที่

ตารางที่ 3 ข้อมูล ^1H และ ^{13}C -NMR ของ 7-oxo-7-deacetoxy gedunin และ สาร 6³

Position	7-oxo-7-deacetoxy gedunin			6
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} (<i>J</i> in Hz)
1	156.0	7.09	155.9	7.14, <i>d</i> , 1H (10.1)
2	126.3	5.88	126.3	5.92, <i>d</i> , 1H (10.1)
3	203.2	-	203.2	-
4	45.2	-	45.6	-
5	47.6	*	47.5	2.20, <i>m</i> , 1H
6	36.7	*	36.7	2.93, <i>dd</i> , 1H (14.6, 4.8)
				2.41, <i>dd</i> , 1H (13.7, 3.1)
7	202.3	-	208.2	-
8	53.4	-	53.3	-
9	53.7	*	54.5	2.18, <i>dd</i> , 1H (14.7, 3.4)
10	40.0	-	39.5	-
11	17.1	*	17.1	2.01, 1.80 (1H each, <i>m</i>)
12	32.1	*	32.1	1.85, 1.50 (1 H each, <i>m</i>)
13	37.7	-	37.7	-
14	65.7	-	65.6	-
15	54.5	3.85	53.6	3.88, <i>s</i>
16	166.9	-	166.8	-
17	78.0	5.44	77.9	5.47, <i>s</i>
20	120.3	-	120.1	-
21	143.1	7.37	143.1	7.39, <i>d</i> , 1H (1.5)
22	109.8	6.34	109.7	6.37, <i>d</i> , 1H (1.2)
23	141.0	7.37	140.9	7.42, <i>d</i> , 1H (1.5)
CH ₃	17.4	1.22	17.3	1.27 (C-18)
	20.7	1.14	20.6	1.16 (C-19)
	27.0	1.14	26.9	1.14 (C-24)
	19.7	1.35	19.8	1.40 (C-25)
	20.9	1.14	20.8	1.13 (C-26)

* not reported

สาร (7) แยกได้จากสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน โดยการชะคอลัมน์ด้วย 2% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน เมื่อตกผลึกของแข็งที่ได้ด้วยเมทานอลหลายครั้ง จะได้ของแข็งรูปลูกบาศก์สีขาวแวววาวจำนวน 6.5 กรัม จุดหลอมเหลว 235-237 °C สมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีแสดงไว้ข้างล่างนี้

$$[\alpha]_D^{20} +10.74^\circ \text{ (c 7.35\%, CH}_2\text{Cl}_2\text{)}$$

$$\text{UV-Vis } \lambda_{\text{max}} \text{ (CH}_2\text{Cl}_2\text{): 232 nm (log } \epsilon = 3.21\text{)}$$

IR (KBr) 3570, 3120, 1735, 1500, 1300-1100 และ 880 cm^{-1}

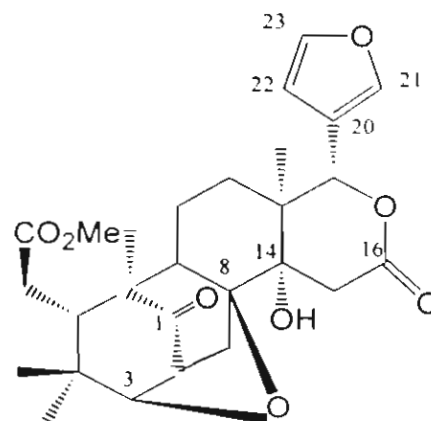
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 0.66 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, s, H-19), 1.11 (3H, s, H-24), 1.46 (1H, m, H-11), 1.50 (1H, ddd, $J = 14.0, 1.5, 1.5$ Hz, H-12), 1.70 (1H, ddd, $J = 14.0, 14.0, 4.0$ Hz, H-12), 1.77 (1H, s, H-O), 1.97 (1H, dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, H-9), 2.04 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-26), 2.10 (1H, m,

H-11), 2.14 (1H, dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, H-6), 2.24 (1H, dd, $J = 17.0, 11.0$ Hz, H-6), 2.52 (1H, dd, $J = 12.0, 7.0$ Hz, H-26), 2.54 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-15), 2.96 (3H, dd, $J = 12.2, 6.0$ Hz, H-2), 3.05 (1H, dd, $J = 11.0, 2.0$ Hz, H-5), 3.13 (1H, d, $J = 17.7$ Hz, H-15), 3.70 (3H, s, H-31, H-27), 4.22 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-3), 6.28 (1H, s, H-17), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-22), 7.55 (1H, s, H-23) และ 7.45 (1H, dd, $J = 2.0, 2.0$ Hz, H-21)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 16.0 (1C, C-25), 16.9 (1C, C-19), 17.8 (1C, C-11), 19.9 (1C, C-18), 27.9 (1C, C-24), 28.6 (1C, C-12), 32.5 (1C, C-6), 36.8 (1C, C-15), 37.1 (1C, C-13), 39.9 (1C, C-4), 42.4 (1C, C-26), 42.9 (1C, C-5), 48.9 (1C, C-2), 50.9 (1C, C-10), 51.8 (1C, C-27), 51.9 (1C, C-9), 74.1 (1C, C-14), 76.7 (1C, C-17), 85.4 (1C, C-8), 91.3 (1C, C-3), 109.9 (1C, C-22), 120.6 (1C, C-20), 140.7 (1C, C-23), 142.9 (1C, C-21), 170.7 (1C, C-16), 174.2 (1C, C-7) และ 215.2 (1C, C-1).

EIMS (M^+) m/z 486 (29.0) [M^+], 348 (100.0) [$M^+ - \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$], 330 (19.4) [$M^+ - \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$] และ 121 (30.0) [$M^+ - \text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}$].

จากสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีรวมทั้งการศึกษากาอกเอกสารอ้างอิงเปรียบเทียบค่า chemical shift กับ 3 β -*n*-butyryloxy-1-oxomeliae 8(14)-enate¹ (ตารางที่ 4) ยืนยันได้ว่าสารดังกล่าวเป็นลิโมนอยด์ใหม่ ให้ชื่อว่า Xyloccensin K



7: Xyloccensin K

ตารางที่ 4 ข้อมูล ^1H และ ^{13}C -NMR ของ 3 β -*n*-butyryloxy-1-oxomeliac-8(14)-enate และ 7³

Position	3 β - <i>n</i> -butyryloxy-1-oxomeliac-8(14)-enate		7	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
1	218.1	-	215.2	-
2	48.0	3.13	48.9	2.96, <i>dd</i> , 1H (6,6)
3	78.1	4.95	91.3	4.22, <i>d</i> , 1H (6)
4	38.2	-	39.9	-
5	40.8	3.18	42.9	3.08, <i>dd</i> , 1H (2,11)
6	33.4	2.38	32.5	2.14, <i>dd</i> , 1H (2, 17), 2.24, <i>dd</i> , 1H (11, 17)
7	174.1	-	174.2	-
8	127.7	-	85.4	-
9	52.1	2.03	51.9	1.97, <i>dd</i> , 1H (5,12.5)
10	52.9	-	50.9	-
11	18.7	1.67	17.8	2.10, <i>m</i> , 1H; 1.46, <i>m</i> , 1H
12	29.0	1.05, 1.75	28.6	1.50, <i>ddd</i> , 1H (1.5, 1.5, 14); 1.70, <i>ddd</i> , 1H (4, 14, 14)
13	38.1	-	37.1	-
14	131.7	-	74.1	-
15	23.3	3.45, 3.70	36.8	2.54, <i>d</i> , 1H (17); 3.13, <i>d</i> , 1H (17)
16	169.9	-	170.7	-
17	80.7	5.65	76.7	6.28, <i>br s</i> , 1H
18	17.7	1.08	19.9	0.67, <i>s</i> , 3H
19	16.7	1.15	16.9	0.94, <i>s</i> , 3H
20	120.6	-	120.6	-
21	141.7	7.52	142.9	7.45, <i>dd</i> , 1H (2, 2)
22	109.9	6.45	109.9	6.49, <i>br d</i> , 1H (2)
23	142.8	7.38	140.7	7.56, <i>br s</i> , 1H
24		-	-	-
25		2.38	-	-
26		1.66	-	-
27		0.95	-	-
28		0.78	27.9	1.03, <i>s</i> , 3H
29		0.68	16.0	0.98, <i>s</i> , 3H
30		2.10, 2.75	42.4	2.04, <i>dd</i> , 1H (7, 12); 2.52, <i>dd</i> , 1H (7,12)
31 (OMe)		3.66	51.8	3.70, <i>s</i> , 3H

นอกจากนั้นยังได้ยืนยันสูตรโครงสร้างด้วย X-ray crystallography ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก Professor Jim Simpson มหาวิทยาลัย Otago ประเทศนิวซีแลนด์

เมื่อนำสารที่แยกได้จากผลตะบูนขาวมาทดสอบฤทธิ์ด้านการกินต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 % antifeedant ของสารที่แยกได้จากผลตะบูนขาวต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่*

สารที่แยกได้	% Antifeedant
ของผสมของเอสเทอร์โซ่ตรง (1)	0
ของผสมของแอลกอฮอล์โซ่ตรง (2)	0
ของผสมสเตียรอยด์ (3)	0
ของผสมกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง (4)	-**
ของผสมสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ในรูปอนุพันธ์ tetraacetate (5A)	0
7-oxo-7-deacetoxy gedunin (6)	81
Xylocensin K (7)	66

* dose: 0.25% โดยน้ำหนักของสารทดสอบ/น้ำหนักของอาหาร

** ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากสารที่แยกได้มีปริมาณน้อย

ผลการทดสอบพบว่า ถึงแม้ว่าสาร 7 แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าสาร 6 แต่สาร 7 เป็นองค์ประกอบหลักของผลตะบูนขาว จึงทำให้เชื่อว่าทั้งสาร 6 และสาร 7 เป็นสารออกฤทธิ์สำหรับผลตะบูนขาว

นอกจากนี้ ได้ทดลองเทียบประสิทธิภาพของสาร 6, 7 และ azadirachtin (สารสำคัญจากสะเดา) ในการออกฤทธิ์ด้านการกินของหนอนฯ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 % antifeedant activity ของสาร 6, 7 และ azadirachtin

Limonoids	Dose (mg)	% antifeedant activity
7-oxo-7-deacetoxy geduni (6)	4.0	81
Xylocensin K (7)	4.0	66
Azadirachtin	0.5	53

ผลการทดสอบเบื้องต้น ชี้ว่า ลิโมนอยด์ที่แยกได้จากผลตะบูนขาวมีฤทธิ์ด้านการกินน้อยกว่าสารสำคัญจากสะเดา อย่างไรก็ตาม จากการทดสอบความเสถียรของสารลิโมนอยด์สองชนิดนี้เบื้องต้น พบว่ามีความเสถียรมากกว่าลิโมนอยด์จากสะเดาอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการศึกษาความสัมพันธ์ของความเสถียรต่อการออกฤทธิ์ด้านการกินของแมลงน่าจะมีการศึกษาต่อไป หากพบว่าลิโมนอยด์จากตะบูนขาวมีความเสถียรมากกว่า สารทั้งสองน่าจะมีศักยภาพในการประยุกต์เป็นสารด้านการกินของแมลงต่อไป

ส่วนที่ 2 การเสาะหาสารด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่จากเหง้าไพล

ซื้อเหง้าไพลจากตลาด เขตบางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร ดากแห้งและบดละเอียด 3 กิโลกรัม สกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เมทานอล ตามลำดับ จะได้สิ่งสกัดเฮกเซน (V) ไดคลอโรมีเทน (VI) และเมทานอล (VII) นำสิ่งสกัดเมทานอลมาสกัดต่อด้วยเอทิลเอซีเทตและน้ำในอัตราส่วน 1:1 จะได้สิ่งสกัดเอทิลเอซีเทต (VIII) และน้ำ (IX) ตามลำดับ น้ำหนักของสิ่งสกัดในแต่ละส่วนและผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนฯ แสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 น้ำหนักของของสิ่งสกัดที่ได้, เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับพืชเริ่มต้น และผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกิน

สิ่งสกัด	น้ำหนัก (กรัม), % yield เทียบกับพืชเริ่มต้น	Antifeedant activity
เฮกเซน (V)	67, 2.23%	++
ไดคลอโรมีเทน (VI)	120, 4.01%	++
เมทานอล (VII)	235, 7.82%	+
เอทิลเอซีเทต (VIII)	58, 1.94%	+++
น้ำ (IX)	100, 3.34%	-

หมายเหตุ +++ high activity (71-100%) ++ medium activity (41-70%)
 + low activity (11-40%) - no activity (0-10%)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดเฮกเซนและไดคลอโรมีเทนของเหง้าไพลให้ผลดีระดับปานกลาง ส่วนสิ่งสกัดเอทิลเอซีเทตให้ผลการทดสอบที่น่าสนใจมากที่สุด จึงได้ศึกษาองค์ประกอบจากสิ่งสกัดที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพดีเพื่อเสาะหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า

เมื่อนำสิ่งสกัดเฮกเซนจำนวน 65 กรัม มาแยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว และติดตามฤทธิ์ทางชีวภาพของแต่ละส่วนย่อยที่แยกได้ พบว่าส่วนย่อยที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วย 80% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซนแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุด เมื่อนำส่วนดังกล่าวมาแยกต่อด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์

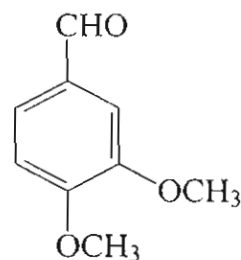
โครมาโทกราฟีพบว่าสามารถแยกสารที่เป็นสารหลักได้ 1 ชนิดเป็นของแข็ง จุดหลอมเหลว 42-44 °C ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสาร (8) มีดังนี้

IR (neat) 3080-3020, 2840, 1680 และ 1590-1510 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3.89, 3.92 (3H each, s, $-\text{OCH}_3$), 6.93 (1H, d), 7.36 (1H, s), 7.41 (1H, d) และ 9.80 (1H, $-\text{CHO}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 56.0, 56.2 (2 OCH_3), 109.0 (C-5), 110.5 (C-2), 126.8 (C-6), 130.2 (C-1), 149.7 (C-3), 154.5 (C-4) และ 190.9 ($-\text{CHO}$)

อาศัยสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี พบว่า สารดังกล่าวคือ veratradehyde (8)



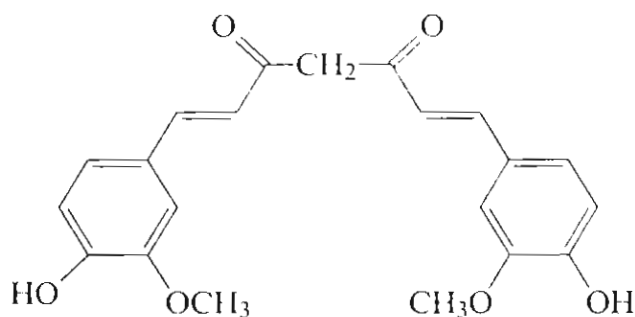
ในส่วนของสิ่งสกัดโคคลอโรมีเทน ได้ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกันกับสิ่งสกัดเฮกเซน เมื่อนำสิ่งสกัดโคคลอโรมีเทนจำนวน 60 กรัม มาแยกด้วยซิลิกา เจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว พบว่า ส่วนย่อยที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วย 20% เอทิลเอซิเทตในโคคลอโรมีเทน แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เมื่อดำเนินการแยกส่วนย่อยนั้นด้วยซิลิกา เจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่า สามารถแยกสารได้ 1 ชนิด เป็นของแข็งสีเหลืองเข้มจำนวน 42 มิลลิกรัม มีจุดหลอมเหลว 183-184 °C ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสาร (9) แสดงไว้ข้างล่างนี้

IR (neat) 3080-3020, 3550-3100, 1640 และ 1500 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3.80 (6H, s, $-\text{OCH}_3$), 6.04 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6.67 (2H, d, $J = 14.01$ Hz, $\text{HC}=\text{CH}-\text{Ar}$), 6.81 (2H, d, $J = 8.60$ Hz, ArH), 7.14 (2H, d, $J = 8.22$ Hz, ArH), 7.31 (2H, s, ArH), 7.55 (2H, s, $J = 15.48$ Hz, $\text{HC}=\text{CH}-\text{CO}$) และ 9.57 (2H, br, s, $\text{HO}-$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 56.2 (2C, $-\text{OCH}_3$), 101.1 ($-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-$), 111.5, 116.2, 121.3, 126.3, 141.1, 149.5 (1C each, aromatic carbons), 123.4 ($\text{C}=\text{C}-\text{Ar}$), 148.3 ($\text{C}=\text{C}-\text{CO}-$) และ 183.4 ($-\text{C}(\text{O})-$)

โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี พบว่า สารดังกล่าวคือ curcumin (9)



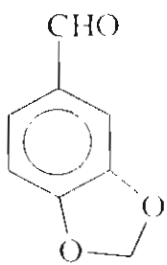
เมื่อนำสารที่แยกได้จากเหง้าไพลมาทดสอบฤทธิ์ด้านการกินต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 % antifeedant ของสารที่แยกได้จากเหง้าไพลต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝั่ขนาดใหญ่*

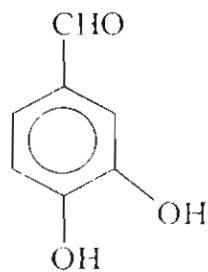
สารที่แยกได้	% Antifeedant
veratradyde (8)	53
curcumin (9)	23

* dose: 0.25% โดยน้ำหนักของสารทดสอบ/น้ำหนักของอาหาร

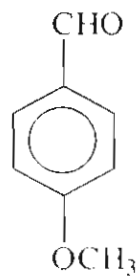
เนื่องจาก veratradyde ที่แยกได้มีสูตรโครงสร้างไม่ซับซ้อน จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับ veratradyde ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 9



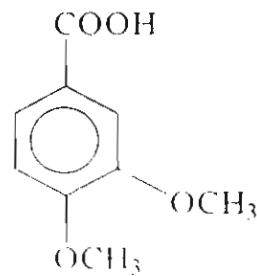
(10)



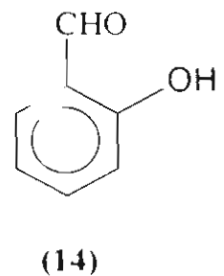
(11)



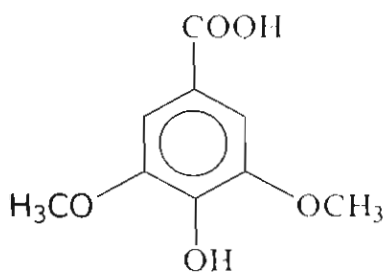
(12)



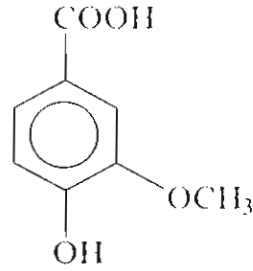
(13)



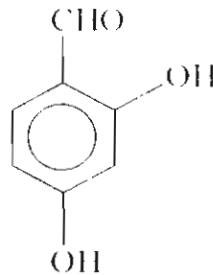
(14)



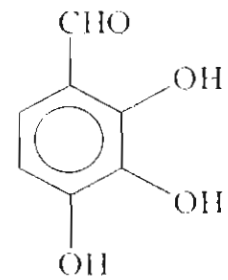
(15)



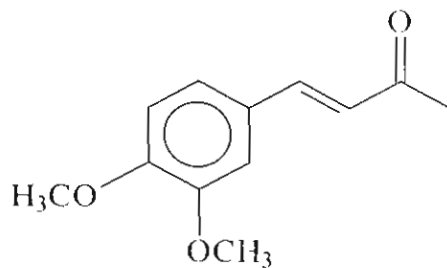
(16)



(17)



(18)



(19)

ตารางที่ 9 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและ % antifeedant ของ veratraldehyde และสารที่เกี่ยวข้อง

สาร	% Antifeedant
veratraldehyde (8)	53
Piperonal (10)	97
3,4-dihydroxybenzaldehyde (11)	74
Anisaldehyde (12)	45
Veratric acid (13)	19
Salicylaldehyde (14)	17
Syringaldehyde (15)	15
Vanillic acid (16)	6
2,4-dihydroxybenzaldehyde (17)	0
2,3,4-trihydroxybenzaldehyde (18)	0
3',4'-dimethoxyphenyl-(1E)-buten-3-one (19)**	0

* dose: 0.25% โดยน้ำหนักของสารทดสอบน้ำหนักของอาหาร

** สังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยา condensation ระหว่าง veratraldehyde กับ acetone ใน 10%NaOH

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า piperonal (10) แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีมาก สูงถึง 97% จึงน่าจะมีการศึกษาในรายละเอียดของสารดังกล่าวต่อไป นอกจากนี้ ผลการทดลองสนับสนุนและชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ เพราะจะนำไปสู่การค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในที่สุด

สำหรับสิ่งสกัดเอทิลเอซีเทดซึ่งแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจที่สุด ได้ดำเนินการแยกและติดตามฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนย่อยที่แยกได้ ทำให้มั่นใจว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไฟลอยู่ในสิ่งสกัดนี้ แม้ว่าจะดำเนินการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีหลายครั้ง ยังไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ ส่วนย่อยที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพยังคงให้จุดบน TLC หลายจุด แสดงว่า ส่วนย่อยดังกล่าวยังมีสารที่ผสมกันอยู่ ถึงแม้ส่วนย่อยที่กล่าวถึงนี้น่าสนใจ แต่เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการแยกหลายครั้ง สารที่เหลือในส่วนนี้จึงมีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อการทำให้บริสุทธิ์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จึงไม่ได้ทำการศึกษาในส่วนนี้ต่อ

ส่วนที่ 3 การเสาะหาสารด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่จากรากโศดทะนงแดง

รากโศดทะนงแดงซื้อจากร้านขายยาเวชพงศ์โอสด กรุงเทพมหานคร เมื่อสกัดรากโศดทะนงแดง 15.0 กิโลกรัม ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลเอซีเทต และเมทานอล ได้สิ่งสกัดหนัก 29.85, 32.26, 21.35 และ 240.81 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำสิ่งสกัดต่างๆ ที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ ได้ผลการทดสอบดังแสดงไว้ในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของแมลงกินไขผึ้งขนาดใหญ่ของสิ่งสกัดจากรากโศดทะนงแดง

สิ่งสกัด	% antifeedant	Level of activity
เฮกเซน	92	High
ไดคลอโรมีเทน	92	High
เอทิลเอซีเทต	57	Medium
เมทานอล	43	Medium

จากตารางที่ 10 พบว่าผลการทดสอบสิ่งสกัดของรากโศดทะนงแดง แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในสิ่งสกัดเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ให้ % antifeedant ที่สูงมาก

เมื่อแยกสิ่งสกัดเฮกเซนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกหรือทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ หรือใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีอื่นๆ เช่น โครมาโทกราฟีหรือ medium pressure liquid chromatography สามารถแยกสารได้ 6 ชนิด และได้ดำเนินการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี และการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าเป็นของผสมของสเตอรอยด์เอสเทอร์ (20) ของผสมของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง (21) ของผสมสเตอรอยด์ (β -sitosterol, stigmasterol และ campesterol) (22), acetyl alueritolic acid (23), trigonostemone (24) และ 5α -stigmastane-3,6-dione (25) โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับการพิสูจน์สูตรโครงสร้างเพิ่มเติมดังนี้

acetyl alueritolic acid (23): m.p. 298-

300°C⁴

IR (KBr) 3500-2500, 3050, 1740 และ

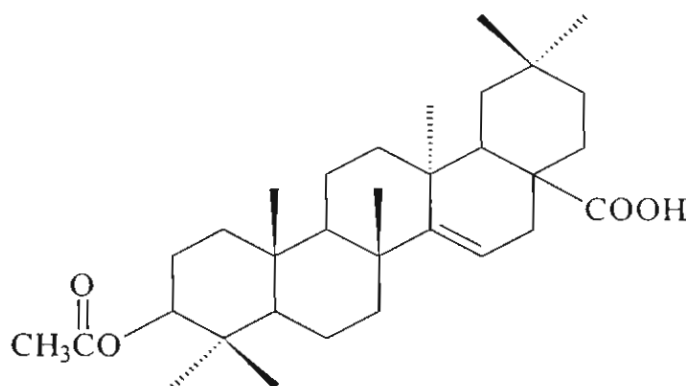
1480-1460 cm⁻¹

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0.89-0.96

(21H, m, 7CH₃), 1.14-2.03 (23H, m), 2.31 (3H, s,

COCH₃), 4.47 (1H, m, H-3) และ 5.53 (1H, m, H-

14)



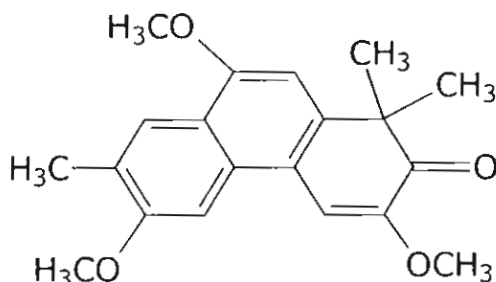
^{13}C -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 16.5 (C-25), 17.4 (C-24), 18.2 (C-11), 19.6 (C-6), 22.1 (C-30 และ -COO-CH₃), 23.3 (C-2), 24.3 (C-27), 27.0 (C-23), 28.8 (C-26), 29.6 (C-16), 30.2 (C-20), 31.6 (C-12), 32.3 (C-22), 32.8 (C-29), 34.2 (C-21), 34.6 (C-7), 35.8 (C-13), 36.2 (C-1), 38.2 (C-10), 38.6 (C-4), 39.9 (C-8), 41.7 (C-19), 42.3 (C-18), 49.9 (C-9), 52.2 (C-17), 56.4 (C-5), 81.8 (-CH-OCOCH₃, C-3), 117.7 (C=CH-, C-15), 161.3 (C=CH-, C-14), 171.9 (C-O-CO-CH₃) และ 184.2 (COOH, C-28)

trigonostemone (24), m.p. 184-185 °C⁵

IR (KBr) 1670, 1630, 1595, 1510, 1460, 1240,

1170 และ 1095 cm⁻¹

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1.56 (6H, s, 2CH₃), 2.39 (3H, s, CH₃), 3.93 (3H, s, OCH₃), 4.02 (6H, s, 2-OCH₃), 6.74 (1H, s) 7.28 (1H, s) และ 8.04 (1H, s)



^{13}C -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 16.6 (C-15), 28.3 (C-11, C-12), 49.5 (C-1), 55.1 (C-14), 55.4 (C-16), 55.5 (C-13), 99.0 (C-4), 100.6 (C-10), 110.2 (C-5), 114.3 (C-9a), 119.2 (C-10a), 127.2 (C-8), 130.7 (C-4a), 142.6 (C-5a), 147.4 (C-3), 154.9 (C-9), 157.8 (C-6) และ 199.3 (C-2)

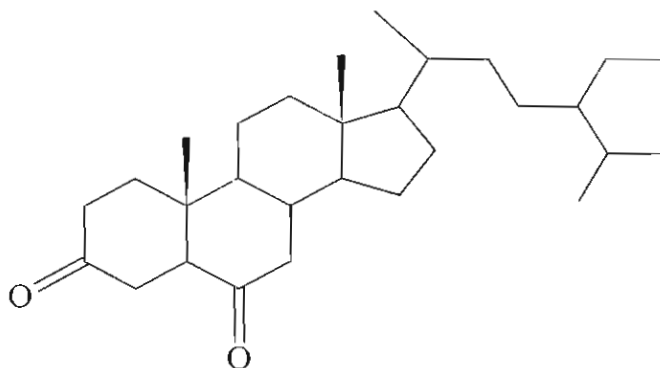
5 α -stigmastane-3,6-dione (25), m.p.

199-200 °C

IR (KBr) 1705, 1420 และ 1260, 1240

cm⁻¹

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0.69 (3H, s, CH₃), 0.85 (12H, 4CH₃), 0.96 (3H, s, CH₃), 1.19-1.56 (23H) และ 2.01-2.65 (7H)



^{13}C -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 12.0 (C-18, C-29), 12.6 (C-19), 18.7 (C-26), 19.0 (C-21), 19.8 (C-27), 21.7 (C-11), 23.0 (C-28), 24.0 (C-15), 26.0 (C-25), 28.0 (C-16), 29.1 (C-23), 33.8 (C-22), 36.0 (C-20), 37.0 (C-4), 37.4 (C-2), 38.0 (C-1, C-8), 39.3 (C-12), 41.2 (C-10), 43.0 (C-13), 45.8 (C-7), 46.6 (C-24), 53.5 (C-9), 56.0 (C-17), 56.4 (C-14), 57.5 (C-5), 209.2 (C-3) และ 211.3 (C-6)

ในทำนองเดียวกัน เมื่อแยกสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกหรือทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ หรือใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีอื่นๆ เช่น โครมาโทกราฟี หรือ medium pressure liquid chromatography สามารถแยกสารได้เพิ่มเติมอีก 3 ชนิด และได้ดำเนินการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี และการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าเป็น 5-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin (26), ของผสมของเอไมด์โซ

ตรง (27) และของผสมของสเตอรอยด์ไกลโคไซด์ (28) โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับการพิสูจน์สูตรโครงสร้างเพิ่มเติมดังนี้

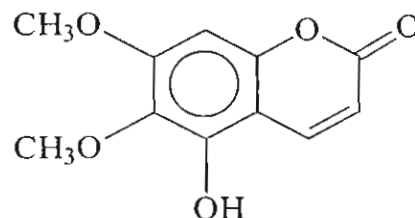
5-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin (26), m.p. 184-185 °C⁶

IR (KBr) 3200-3500 (OH), 3040 (C=C), 1710 (lactone)

และ 1620, 1565, 1500, 1470 (aromatic)

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 3.89 (3H, s, OCH₃), 3.92 (3H, s, OCH₃), 6.21 (1H, d, J = 9.8 Hz), 6.31 (1H, s), 6.44 (1H, s, OH) และ 7.95 (1H, d, J = 9.5 Hz)

¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 91.3 (C-9), 103.4 (C-10), 110.4 (C-3), 132.4 (C-6), 139.4 (C-4), 147.0 (C-5), 151.7 (C-8), 156.5 (C-9) และ 161.2 (C-2)



เมื่อนำสารที่แยกได้จากรากโศคนงแดงมาทดสอบฤทธิ์ด้านการกินต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 % antifeedant ของสารที่แยกได้จากรากโศคนงแดงต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่*

สารที่แยกได้	% Antifeedant
ของผสมของสเตอรอยด์เอสเทอร์ (20)	-34
ของผสมของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง (21)	46
ของผสมสเตอรอยด์ (β-sitosterol, stigmasterol และ campesterol) (22)	74
acetyl alueritolic acid (23)	83
Trigonostemone (24)	53
5α-stigmastane-3,6-dione (25)	54
5-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin (26)	53
ของผสมของเอไมด์โซ่ตรง (27)	50
ของผสมของสเตอรอยด์ไกลโคไซด์ (28)	48

* dose: 0.25% โดยน้ำหนักของสารทดสอบ/น้ำหนักของอาหาร

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเบื้องต้นในการเสาะหาสารออกฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่จากพันธุ์ไม้และพืชไทย 19 ชนิด พบว่า ผลตะขุนขาว, เหง้าไพล และรากโศดทะนงแดง ให้ผลการทดสอบเบื้องต้นที่น่าพอใจ มีฤทธิ์สังกัดของพืชตัวอย่างทั้งสามในส่วนที่ออกฤทธิ์มาแยกด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี พบว่า สารออกฤทธิ์ในผลตะขุนขาวได้แก่ ลิโมนอยด์ ในเหง้าไพล เป็นสารเคอคูมินอยด์ และสารประกอบไอโซมาร์กอนอลไฮด์ และจากรากโศดทะนงแดงเป็นไทรเทอร์พีนอยด์แอซิด นอกจากนี้ ได้ศึกษากวามสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ด้านการกินของ veratraldehyde พบว่านำไปสู่การค้นพบสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงและแสดงฤทธิ์ที่คล้าย 2 ชนิด คือ piperonal และ 3,4-dihydroxybenzaldehyde งานวิจัยนี้สร้างองค์ความรู้พื้นฐานใหม่ที่สำคัญหลายประการ เช่น การศึกษาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อเสาะหาสารเคมีเพื่อการเกษตร และสนับสนุนแนวความคิดในการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการศึกษากวามสัมพันธ์ทางเคมีควบคู่ไปกับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. Bentley, M.D., Leonard, D.F., Stoddard, W.L., Zalkow, L.H. *Annals of Entomological Society of America* **1984**, 77, 393
2. Powell, J.W. *J. Chem. Soc. (C)* **1966**, 1794
3. Taylor, D.A.H. *J. Am. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1974**, 437
4. Misra, D.R., Khastgir, H.N. *Tetrahedron* **1970**, 26, 3017
5. Kokpol, U.; Thepatiphat, S.; Boonyaratavej, S.; Cherdechskulchar, A.; Chiray, E.; Chanchantipyuth, C.; Chittawong, V.; Miles, D.H. *J. Nat. Prod.* **1990**, 53, 1148
6. Hasegawa, M. *Tetrahedron* **1975**, 31, 2966

3. กิจกรรมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

3.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

ได้ส่งบทความเรื่อง "Insect Antifeedant from *Xylocarpus granatum* Koen." โดย Chavasiri, W.; Kokpol, U.; Pinjinda, S. ไปเพื่อลงพิมพ์ในวารสาร Bull. Chem. Korean Soc. (อยู่ระหว่างการพิจารณา) และกำลังอยู่ระหว่างการเตรียมบทความอีกสองบทความเรื่อง "Insect Antifeedant from the Roots of *Trigonostemon reidiodes* Craib." โดย Chavasiri, W.; Kokpol, U.; Wang-amnauyorn, I. และ "Searching for Insect Antifeedant from *Zingiber cassumunar* Roxb." โดย Chavasiri, W.; Khaiprapai, P.; Kokpol, U. สำหรับวารสารระดับนานาชาติหรือวารสารระดับชาติที่เป็นที่ยอมรับ

3.2 ผลงานวิจัยอื่นๆ

ได้เสนอบทความเพื่อนำเสนอในการประชุมทางวิชาการในประเทศ ได้แก่

1. Kokpol, U.; Pinjinda, S.; Chavasiri, W.; Sittichareonchai, D. "Insect Antifeedant from Thai Mangrove Plants" IUPAC International Conference on Biodiversity and Bioresource-Conservation and Utilization, Phuket, Thailand, November 1997.
2. Chavasiri, W.; Khaiprapai, P.; Kokpol, U. "Insect Antifeedant from the Rhizomes of *Zingiber cassumunar* Roxb." Programme and Abstracts: 24th Congress on Science and Technology of Thailand, 19-21 October 1998, Queen Sirikit National Conventional Center, Bangkok, Thailand, E-02.
3. Plubchang, S.; Chavasiri, W.; Kokpol, U.; Khaiprapai, P. "Structure and Insect Antifeedant Activity Relationship Studies of Veratraldehyde and Related Compounds" Programme and Abstracts: 25th Congress on Science and Technology of Thailand, 20-22 October 1999, Amarin Lagoon Hotel, Pitsanuloke, Thailand, i:-06.
4. Wang-amnuayporn, T.; Chavasiri, W. and Kokpol, U. "Insect Antifeedants from the Roots of *Trigonostemon reidioides* Craib." Programme and Abstracts: 25th Congress on Science and Technology of Thailand, 20-22 October 1999, Amarin Lagoon Hotel, Pitsanuloke, Thailand, A-151.

นอกจากนี้ยังได้รับเชิญเป็นวิทยากรและนำเสนอผลงานในการประชุมนานาชาติ 2 ครั้ง คือ

1. Chavasiri, W.; Khaiprapai, P.; Kokpol, U.; Tip-pyang, S.; Veerachato, G. "Searching for Insect Antifeedant from *Zingiber cassumunar* Roxb." Program-Abstracts: Recent Developments in the Discovery of Biologically Active Natural Products", 6-8 December 1999, Anteneo De Manila University, Loyola Heights, Quezon City, Philippines, Lia-4, p.7.
2. Chavasiri, W.; Kokpol, U.; Wang-amnuayporn, T. "Insect Antifeedants from *Trigonostemon reidioides* Craib." 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop protection, 4-9 August 2002, Basel, Switzerland, p 269.

3.3 การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ

มีความร่วมมือกับกองวัดภูมิพิษ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลง และฤทธิ์ยับยั้งการกินของแมลงของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้เพิ่มเติม และมีความร่วมมือกับภาควิชา Agricultural Chemistry, Kinki University, Nara, Japan เกี่ยวกับการเสาะหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมแมลง

3.4 การเชื่อมโยงกับนักวิชาการในสถาบันเดียวกัน

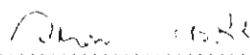
ได้มีความร่วมมือทางการวิจัยร่วมกันกับ ศ.ดร.สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และอาจารย์ ดร.ดวงแข สิริทธิเจริญชัย หน่วยงานวิจัย ฝ่าย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการทดสอบฤทธิ์ด้านการกินของหนอนผีเสื้อกินใบผัสดังกล่าว

4. ปัญหาและอุปสรรค

ไม่มีปัญหาและอุปสรรคโดยตรง แต่งานวิจัยในส่วนของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นงานที่ต้องการเวลา และในบางกรณีที่ต้องอาศัยความร่วมมือจากนักวิจัยท่านอื่น ซึ่งมีส่วนทำให้เสียเวลารอผลการทดสอบก่อนที่จะสามารถดำเนินการทดลองให้ขั้นต่อไป

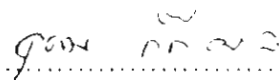
5. ความเห็นและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยที่ได้รับ ยังคงเป็นผลงานวิจัยที่เห็นแนวโน้มที่ชัดเจนในการเสาะหาสารเคมีเพื่อการเกษตรในกลุ่มของสารด้านการกินของแมลงจากพันธุ์ไม้ต่างๆ ของไทย สกว น่าจะเป็นตัวกลางในการเชื่อมโยงนักวิจัยในศาสตร์ที่เกี่ยวข้องเพื่อสร้างงานวิจัยจากองค์ความรู้พื้นฐานที่ได้รับเพื่อศึกษาในเชิงประยุกต์ต่อไป

ลงนาม 

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร์ ชวศิริ)

หัวหน้าโครงการ

ลงนาม 

(ศาสตราจารย์ ดร.อุดม กัทผล)

นักวิจัยที่ปรึกษา