รายงานการวิจัย (ฉบับสมบูรณ์)

เรื่อง

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเก และรากต้นจำปาดะ

Bioactive compounds from the roots of *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg and *Artocarpus integer (Thumb.) Merr.*

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์พรหมมา

รองศาสตราจารย์ ดร. ฉัตรชนก กะราลัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

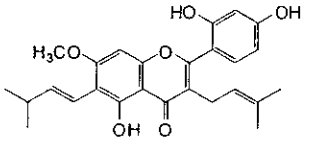
ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประเภททั่วไป ปี พ.ศ. 2549

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

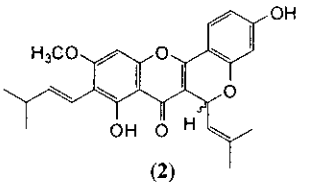
บทคัดย่อ

ทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 และ acetone จากรากต้นสาเก (*Artocarpus altilis*) ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารประกอบประเภท flavonoid ได้ 2 สาร คือ Artocarpin (AD1) และ Cycloartocarpin (AD2) และสารประกอบประเภท triterpene 2 สาร คือ Friedelin (AD3) และ 3β-Friedelenol (AD4) โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีในการวิเคราะห์โครงสร้าง และสารประกอบ Artocarpin (AD1) และ cocrystal ของ Friedelin (AD3) และ 3β-Friedelenol (AD4) สามารถยืนยันได้ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว นอกจากนี้ได้ทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบ dichloromethane จากรากต้นจำปาดะ (*Artocarpus integer* (Thumb.) Merr.) ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารประกอบประเภท flavonoid ได้จำนวน 5 สาร คือ Artoindonesianin Q (AI1), Artoindonesianin W (AI2), Artoindonesianin S (AI3), Artoflavanone (AI4), และ Cyrylifolin (AI5) โดยสาร Artoindonesianin W (AI2) เป็นสารชนิดใหม่ที่ยังไม่มีการรายงานมาก่อน และทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้จากรากต้นสาเก (สารประกอบ AD1-AD4) รากต้นจำปาดะ (สารประกอบ AI1-AI5) และหัวกระชายดำ (สารประกอบ 7-12)

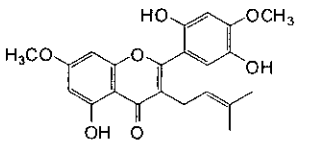
คำหลัก Natural Products, *Artocarpus altilis* (สาเก), *Artocarpus communis* (สาเก), *Artocarpus incise* (สาเก), *Artocarpus integer* (จำปาดะ), Flavonoid, Triterpene, X-ray structure และ Bioactivity.



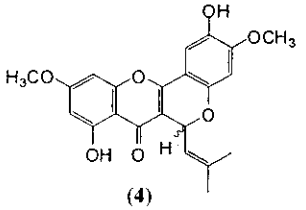
(1)
AD1



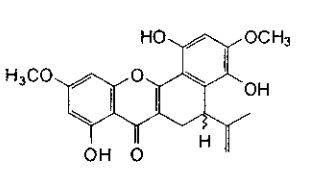
(2)
AD2



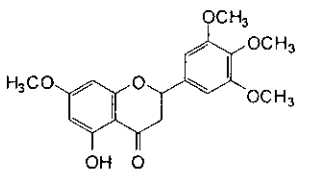
(3)
AI1



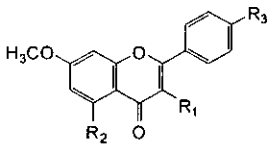
(4)
AI2



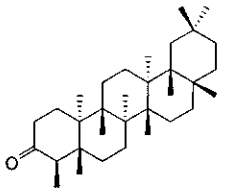
(5)
AI3



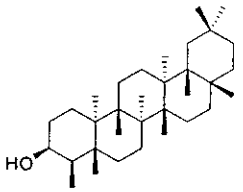
(6)
AI4



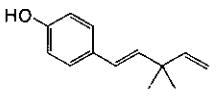
	R_1	R_2	R_3
(7)	$-OCH_3$	-OH	-H
(8)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	-H
(9)	$-OCH_3$	-OH	$-OCH_3$
(10)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	$-OCH_3$
(11)	-H	$-OCH_3$	-H
(12)	-H	$-OCH_3$	$-OCH_3$



(13)
AD3



(14)
AD4



(15)
AI5

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทคัดย่อ	2
1. โครงการวิจัย การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเกและรากจำปาดะ	4
2. บทนำ	4
3. โครงการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
4. วัตถุประสงค์	12
5. ขั้นตอนการวิจัย	12
6. วัสดุและเครื่องมือ	13
7. การสกัดรากสาเกด้วยตัวทำละลาย	13
8. การแยกสารจากรากสาเกให้บริสุทธิ์	14
9. ผลการทดลอง	17
10. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากรากจำปาดะ	27
11. ฤทธิ์ทางชีวภาพ	38
12. สรุป	43
13. ผลงานตีพิมพ์จากงานวิจัย	46
เอกสารอ้างอิง	47

1. **ชื่อโครงการวิจัย** การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะ

(ภาษาอังกฤษ) Bioactive compounds from the roots of ***Artocarpus altilis*** (Parkinson) Fosberg and *Artocarpus integer* (Thumb.) Merr.

2. บทนำ

วงศ์ MORACEAE หรือวงศ์ไม้ขนุน มีพืชทั้งหมด 55 สกุล ประมาณ 2,300 ชนิดพันธุ์ พืชในวงศ์ MORACEAE นี้เป็นไม้ยืนต้นหรือไม้พุ่มขนาดใหญ่ ทุกส่วนของพืชมีน้ำยางขาวข้น (latex) บางชนิดพันธุ์มีการผลัดใบ ลักษณะใบ เป็นใบเดี่ยวผิวใบด้านล่างค่อนข้างหยาบ ขอบใบเรียบ บางชนิดอาจเป็นคลื่นหรือเป็นจักแฉก เว้าลึก ติดเรียงแบบสลับ มีแผ่นเยื่อก้านใบ 2 แผ่น ติดประกบก้านใบหรือหุ้มตาไว้เห็นชัดเจนเมื่อหลุดร่วงจะเห็นเป็นรอยวงรอบก้าน ช่อดอก มีลักษณะเป็นช่อแน่นแบบ cymose บางชนิดเป็น hypanthodium ออกที่ซอกใบ ปลายกิ่ง ลำต้นหรือรากที่โผล่พ้นผิวดิน ดอกย่อยมีเพศเดียว ช่อดอกตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าช่อดอกตัวผู้ กลีบรวมมีลักษณะเป็นกลีบรองจำนวน 4 กลีบ ติดเป็น 2 วง เกสรตัวผู้มี 4 อัน ติดตรงกันข้ามกับกลีบรอง ก้านเกสรยาว ส่วนเกสรตัวเมียมีรังไข่แบบ superior ภายในมี 2 ช่อง แต่มักรวมเป็นห้องเดียว มีเม็ดไข่ 1 เม็ด การติดของไข่เป็นแบบ parietal placentation ผลเป็นได้หลายแบบตามชนิดพันธุ์ เช่น achene drupe syconium และ เป็นผลรวม เมล็ดเป็นเมล็ดฉ่ำน้ำมีอาหารสะสม ต้นอ่อนภายในเมล็ดมีรูปโค้ง ฤดูของการออกดอกและผลของพืชในวงศ์ขนุนนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ของพืช

พืชในสกุล Artocarpus สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย ซึ่งมีอยู่ 14 ชนิด ได้แก่

1. *Artocarpus altilis* Fosberg ขนุนสำปะลอ, สาเก
2. *Artocarpus altissimus* J.J.Sm. ไสน
3. *Artocarpus chaplasha* Roxb. หาดส้าน
4. *Artocarpus dadah* Miq. หาดรุม
5. *Artocarpus elasticus* Rienw. Ex Blume กะออก
6. *Artocarpus gomezianus* Wall. Ex Trecul หาดหนุน
7. *Artocarpus heterophyllus* Lam. ขนุน
8. *Artocarpus integer* (Thumb.) Merr. จำปาดะ
9. *Artocarpus kemando* Miq. ขนุนป่า, ยาตู
10. *Artocarpus lacucha* Roxb. หาด
11. *Artocarpus lanceifolius* Roxb. ขนุนป่า, หนังกาปิโต
12. *Artocarpus nitidus* subsp. *lingnanensis* Jarrett มะหาดข่อย
13. *Artocarpus rigidus* Blume. subsp. *rigidus* ขนุนป่า
14. *Artocarpus rigidus* Blume. subsp. *Asperulus* Jarrett ขนุนปาน

พืชบางชนิดในสกุลนี้มีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร เช่น

Artocarpus lacucha Roxb. (หาด) และ *Artocarpus chaplasha* Roxb. (หาดส้าน) ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิตัวตืด

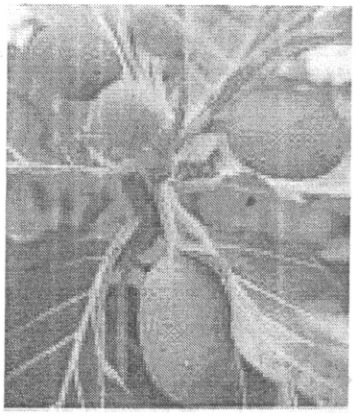
Artocarpus heterophyllus Lam. ขนุน

-ใบ: ใช้บดโรยแผลมีหนองเรื้อรัง (1)

- แก่น, ราก, : แก้กามโรค ขับพยาธิ ระงับประสาท แก้โรคลมชัก ต้มดื่ม แก้ท้องเสีย ทาแก้โรคผิวหนัง

-ยาง: แก้อักเสบบวม แผลมีหนองเรื้อรัง แก้ต่อมน้ำเหลืองอักเสบ

สาเก



ชื่อวิทยาศาสตร์ *Artocarpus altilis* (Parkison) Fosb.
หรือ *Artocarpus communis* หรือ
Artocarpus incissus

วงศ์ MORACEAE

ชื่อสามัญ Breadfruit Tree, Breadnut Tree

ชื่ออื่น ๆ ขนุนสำปะลอ

สาเกเป็นไม้ผลที่อยู่ในสกุลเดียวกับขนุน คือ Moraceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ชอบขึ้นในที่แจ้ง ออกดอกตลอดทั้งปี ขยายพันธุ์โดยใช้หน่อและเมล็ด นิยมนำผลมาเชื่อมรับประทาน และมีการนำส่วนของพืชมาใช้เป็นสมุนไพรในการรักษามะเร็งต่อมลูกหมาก

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสาเก

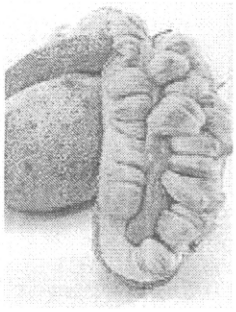
สาเกเป็นไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบ สูงประมาณ 15 – 20 เมตร ใบเดียวออกสลับ รูปไข่ มีแฉกลึกเกือบถึงเส้นกลางใบ สีเขียวเข้มและหนา ดอกสีเหลือง ออกเป็นช่อตามซอกใบใกล้ปลายยอด ช่อดอกตัวผู้ยาว 30 เซนติเมตร รูปคล้ายกระบองและห้อยลง ช่อดอกตัวเมียรูปกลม ผลเกือบกลม สีเขียวอมเหลือง กว้าง 15 – 20 เซนติเมตร ภายในมีเนื้อและไม่มีเมล็ด สายพันธุ์หนึ่งมีแต่เมล็ดไม่มีเนื้อมีชื่อว่า ขนุนสำปะลอ

จำปาดะ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Artocarpus integer* (Thunb.) Merr.

วงศ์ MORACEAE

ชื่อสามัญ Champeak, Champedak



จำปาดะ มีชื่อสามัญว่า Champeak ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus integer* (Thunb.) Merr. พม่าเรียกว่า sonekadat อินโดนีเซียเรียกว่า chempedak มาเลเซียเรียกว่า bankong ถิ่นกำเนิดของจำปาดะอยู่ในคาบสมุทรมลายูแถบประเทศ มาเลเซีย บรูไน และอินโดนีเซีย จำปาดะอยู่ในวงศ์ Moraceae เช่นเดียวกับขนุนและ สาเก ใบสีเขียว หน้าใบเป็นมัน ตามกิ่งอ่อนมีขนอ่อนขึ้นคลุมรอบ ผลคล้ายกับขนุน แต่มีขนาดเล็กกว่า ผลกลมยาวคล้ายผลฟัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผล 12-15 ซม. ยาว 25-30 ซม. เปลือกบาง ผลดิบเปลือกแข็ง มียางสีขาวขุ่นแทรกซึมอยู่ตามเปลือก ผลสุกเปลือกนิ่ม และมียางน้อยลง เนื้อยวงเหลว รสหวานแหลม มีกลิ่นหอมมากกว่าขนุนในแต่ยวงมีเมล็ด 1 เมล็ด

ช่วงที่จำปาดะสุกอยู่ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม ปลูกมากแถบภาคใต้ เป็นผลไม้ขึ้นชื่อของอำเภอเกาะยอ จังหวัดสงขลา และจังหวัดสตูล ยวงเนื้อของจำปาดะพร้อมเมล็ดนำมาชุบแป้งทอด คล้ายกล้วยแขก เนื้อแป้งกรอบ หอมเนื้อจำปาดะ และมันด้วยเมล็ดที่สุก เนื้อล่อน จำปาดะกินยวงเนื้อสด ๆ รสหวานจัด เนื้อเละเหนียว กลิ่นหอมแรง ส่วนเมล็ดนำไปต้มกิน หรือเอามาแกงไตปลาก็ได้

คุณค่าอาหารและสรรพคุณของจำปาดะ

จำปาดะ มีเส้นใยแบบละลายน้ำ ซึ่งเป็นเส้นใยที่สามารถขับไขมันและสารพิษออกจากร่างกาย นอกจากนี้ยังมีเบต้าแคโรทีนและน้ำตาลสูง เนื้อผลอ่อน ช่วยฝาดสมาน แก้ท้องเสีย เนื้อผลสุก บำรุงกำลัง เป็นยาระบายอ่อน ๆ เมล็ด ช่วยขับน้ำนมในสตรีหลังคลอด และบำรุงร่างกาย

จากการค้นข้อมูลการวิจัยเบื้องต้นเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากพืชสกุล Artocarpus นี้ มีรายงานการออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น antibacterial activity (Basile et al., 1999; Yin et al., 2004) antiplasmodial (Yenesew et al., 2004; Wenger et al., 2004) antimycobacterial antifungal และ cytotoxicity (Yenjai et al., 2004) เป็นต้น อย่างไรก็ดีผลการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ขององค์ประกอบทางเคมีอีกหลายชนิดที่พบ อีกทั้งยังไม่มีรายงานการหาโครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว (single crystal X-ray structure determinations) ของสารบางชนิดที่แยกได้ ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ให้ข้อมูลโครงสร้างแบบ 3 มิติ ซึ่งมีความถูกต้องแน่นอน โดยสามารถให้ข้อมูลการจัดเรียงตัวของอะตอม

ภายในโมเลกุลอย่างละเอียด ซึ่งนับเป็นฐานข้อมูลที่สำคัญของการศึกษาด้าน drug design และ molecular modeling

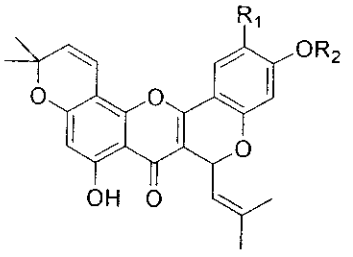
จากฐานข้อมูลรายงานการวิจัยพบว่ายังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์บางชนิดที่มีฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subsitilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococus faecalis*, *Salmonella typhi* และ *Pseudomonas aeruginosa* และการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Breast cancer (MCF-7), Cervical cancer (Hela), Colon cancer (HT-29) และ Oral cavity cancer (KB) และ ฤทธิ์ antioxidant ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการวิจัยเพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเก และคาดว่าจะสามารถแยกสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ อีกทั้งคาดว่าสารจากรากต้นสาเกนี้จะเป็นกลุ่มสารที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กับสารที่กลุ่มผู้วิจัยเคยศึกษาจากพืชชนิดอื่นมาแล้ว ซึ่งนอกจากจะพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเกแล้ว หากข้อมูลที่ได้มีแนวโน้มและเป็นไปตามผลการศึกษาและเป้าหมายที่วางไว้ก็จะสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Structure Activity-Relationship, SAR) ของสารกลุ่มนี้ได้ อีกทั้งข้อมูลจากการศึกษาที่ได้และข้อมูลทางโครงสร้างผลึกจะสามารถนำไปเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาด้าน molecular modeling และ drug design เพื่อพัฒนาและหาแนวทางให้ได้สารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากขึ้นต่อไป

3. โครงการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากรายงานการวิจัยของพืชสกุล (genus) Artocarpus ซึ่งอยู่ในวงศ์ (family) Moraceae พบว่าพืชในสกุลนี้มีทั้งหมด 14 species (Smitinand, 2001) และจากการค้นคว้าข้อมูลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล Artocarpus ที่เคยรายงานพบว่า ในปี ค.ศ. 1991 Lin และ Shieh ทำการศึกษาในส่วนเปลือกรากของ *Artocarpus communis* พบสารในกลุ่มของ prenylflavonoids (1-4 แผนภาพที่ 1) และในปี ค.ศ. 1992 Shieh และ Lin ทำการศึกษาในส่วนเปลือกรากของ *Artocarpus communis* พบสารในกลุ่มของ quinonoid pyranobenzoxanthones (5-6 แผนภาพที่ 1) pyranodihydrobenzo-xanthone (7-9 แผนภาพที่ 1) prenylflavonoid (10 แผนภาพที่ 1) และ triterpenoid (11 แผนภาพที่ 1) ในปี ค.ศ. 1993 Chen และคณะ ทำการศึกษาในส่วนลำต้นและรากของ *Artocarpus altilis* พบสารในกลุ่มของ prenylflavonones (12-13 แผนภาพที่ 1) และ ในปี ค.ศ. 1997 Shimizu และคณะ ทำการศึกษาในส่วนของเนื้อไม้ของ *Artocarpus incisus* พบสารในกลุ่มของ stilbene (14 แผนภาพที่ 1) ในปี ค.ศ. 2000 Shimizu และคณะ ทำการศึกษาในส่วนใบของ *Artocarpus incisus* พบสารในกลุ่มของ geranylated chalcone (15 แผนภาพที่ 1) ในปี ค.ศ. 2003 Chan และคณะ ทำการศึกษาในส่วนรากของ *Artocarpus communis* พบสารในกลุ่มของ prenylflavonoids (16-19 แผนภาพที่ 1) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบสารกลุ่ม pyranodihydrobenzoxanthone epoxide จาก *Artocarpus communis* ในปี ค.ศ.1992 โดย Lin และคณะ (20-21 แผนภาพที่ 1) ในปี ค.ศ.2002 Patil และคณะ สามารถแยกสาร

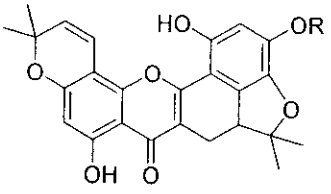
dimeric dihydrochalcone และ prenylated flavone ได้จากส่วนของ bud cover ของ *Artocarpus altilis* (22-24 แผนภาพที่ 1) และ ในปี ค.ศ.2006 Han และคณะ ได้รายงานการแยกสารกลุ่ม prenylflavonoids จากส่วนของเปลือกของ *Artocarpus communis* (25-32 แผนภาพที่ 1)

จากรายงานข้างต้นเห็นได้ว่าสารที่แยกได้จากพืชสกุล Artocarpus ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม flavonoids ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีการรายงานการออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น antibacterial activity (Basile et al., 1999; Yin et al., 2004) antiplasmodial (Yenesew et al., 2004; Weniger et al., 2004) antimycobacterial antifungal และ cytotoxicity (Yenjai et al., 2004) เป็นต้น



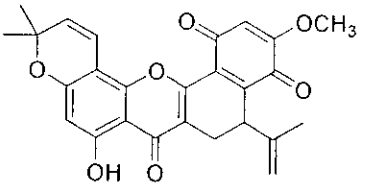
1 R_1 = H, R_2 = H

2 R_1 = OH, R_2 = CH_3

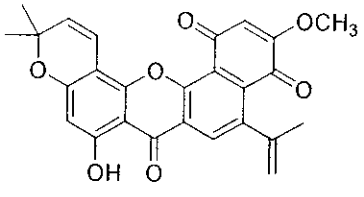


3 R = CH_3

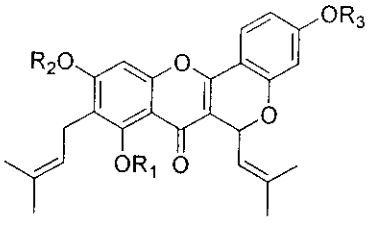
4 R = H



5



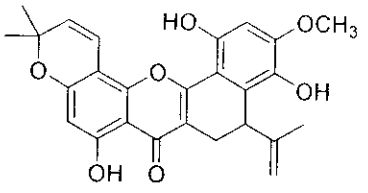
6



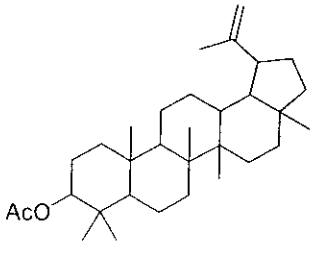
7 R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H

8 R_1 = H, R_2 = Ac, R_3 = Ac

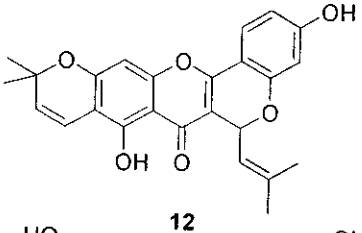
9 R_1 = Ac, R_2 = Ac, R_3 = Ac



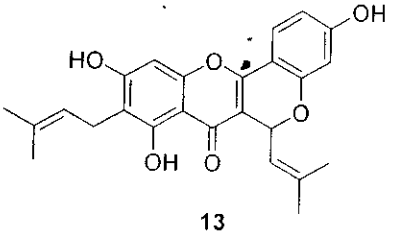
10



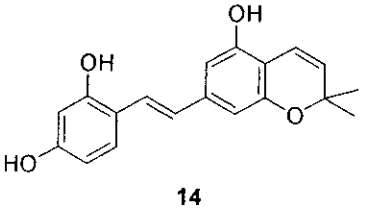
11



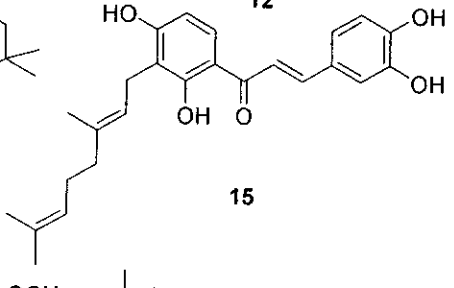
12



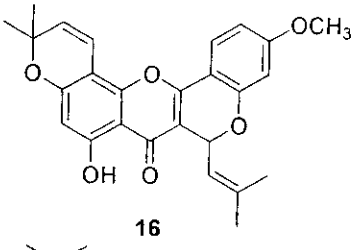
13



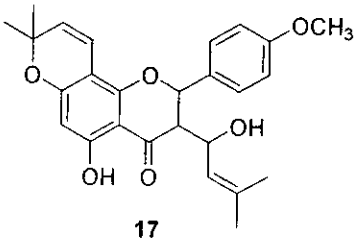
14



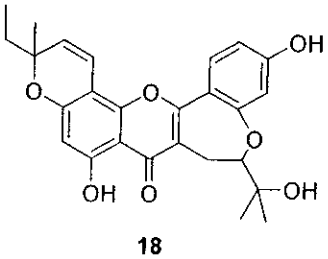
15



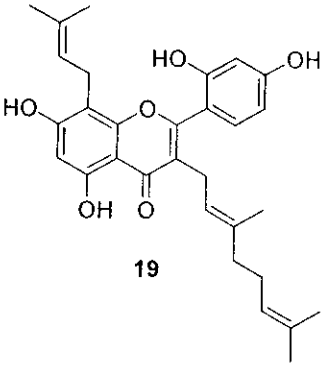
16



17

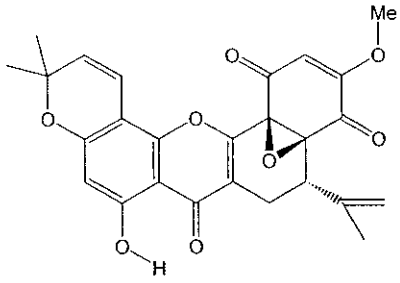


18

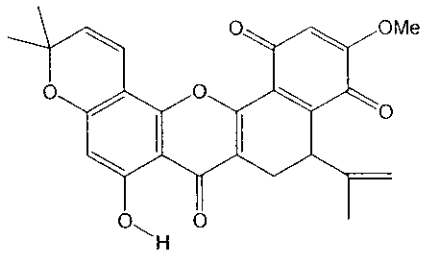


19

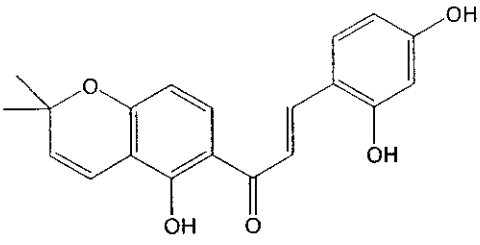
แผนภาพที่ 1



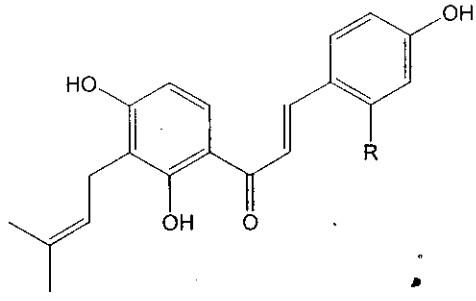
20



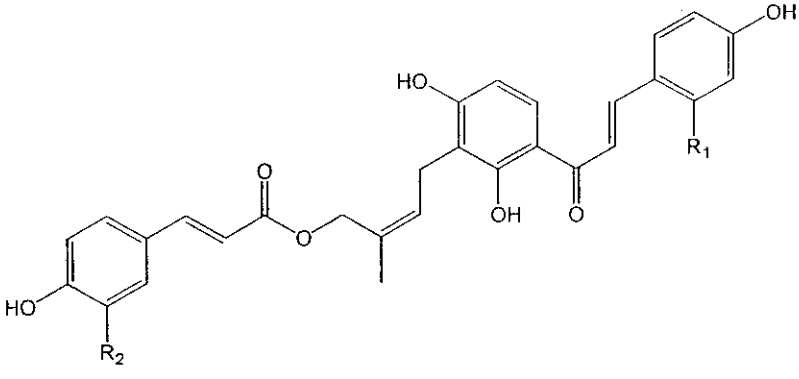
21



22

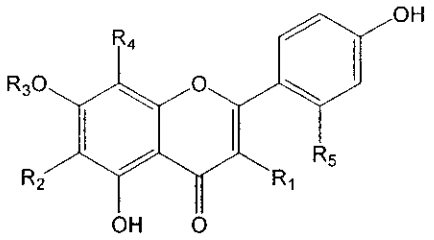


23 R = H
24 R = OH



25 R_1 = H R_2 = H
26 R_1 = OH R_2 = OCH_3

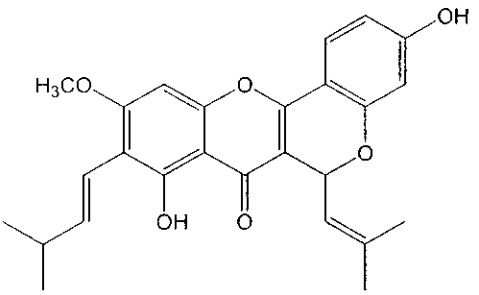
แผนภาพที่ 1 (ต่อ)



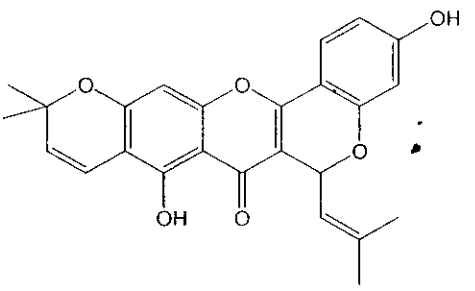
27 R_1 = , R_2 = , $R_3 = CH_3$, $R_4 = H$, $R_5 = OH$

28 R_1 = , R_2 = , $R_3 = H$, $R_4 = H$, $R_5 = OH$

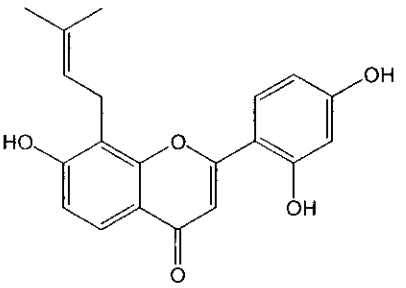
29 $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = H$, R_4 = , $R_5 = H$



30



31



32

แผนภาพที่ 1 (ต่อ)

4. **วัตถุประสงค์**

4.1 เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะ

4.2 เพื่อหาโครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะ

4.3 เพื่อหาโครงสร้างผลึกของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติบริสุทธิ์ที่สามารถแยกและตกผลึกได้จากรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะ เพื่อเป็นฐานข้อมูลของโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาด้าน molecular modeling และ drug design ต่อไป

4.4 เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการทำวิจัยและนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการวิจัยในสาขาที่เกี่ยวข้อง เช่น การแพทย์ เภสัชวิทยา และ เทคโนโลยีชีวภาพ ต่อไป

4.5 เพื่อผลิตผลงานวิจัยลงตีพิมพ์ในวารสาร SCI Journals และสร้างผลงานวิจัยเพื่อนำเสนอในที่ประชุมวิชาการทั้งในระดับประเทศและต่างประเทศ

4.6 เพื่อพัฒนาบุคลากรทางด้านวิจัยและสร้างนักวิจัยใหม่สู่วงการวิจัย

5. **ขั้นตอนการวิจัย**

5.1 รวบรวมข้อมูลการวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากการศึกษาพืช *A. atlilis, A. communis* และ *A. incissus*

5.2 เก็บตัวอย่างรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะ พิสูจน์เอกลักษณ์พืช และจัดทำ herbarium specimens

5.3 ทำการสกัดส่วนสกัดหยาบ โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่าง ๆ กัน ได้แก่ CH_2Cl_2 และ acetone

5.4 ทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 และ acetone ได้แก่ antibacterial activity และ cytotoxicity

5.5 สกัดแยกองค์ประกอบบริสุทธิ์ทางเคมีจากรากต้นสาเกและรากต้นจำปาดะด้วยเทคนิคการแยกด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี

5.6 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ด้วยเทคนิคทางสเปกโตสโกปี

5.7 ทำการตกผลึกสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ เพื่อหาโครงสร้างผลึก เพื่อเป็นข้อมูลในฐานข้อมูลในการศึกษาด้าน molecular modeling และ drug design

5.8 ทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยทดสอบการออกฤทธิ์ดังนี้

ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity)

ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Bacillus subsitilis, Staphylococcus aureus Streptococus faecalis Salmonella typhi* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxic activity)

ทำการทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด คือ Breast cancer (MCF-7), Cervical

cancer (Hela), Colon cancer (HT-29) และ Oral cavity cancer (KB)

5.9 รวบรวมผลการศึกษาที่ได้ของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ใน กลุ่ม Flavonoids และหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ (SAR)

5.10 วิเคราะห์ สรุปผล เขียนรายงาน และ manuscripts

6. วัสดุและเครื่องมือ

รากต้นสาเก เก็บจาก ตำบล พุมเรียง อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี

รากต้นจำปาดะ เก็บจาก อำเภอ ควนกาหลง จังหวัด สตูล

เครื่องมือ

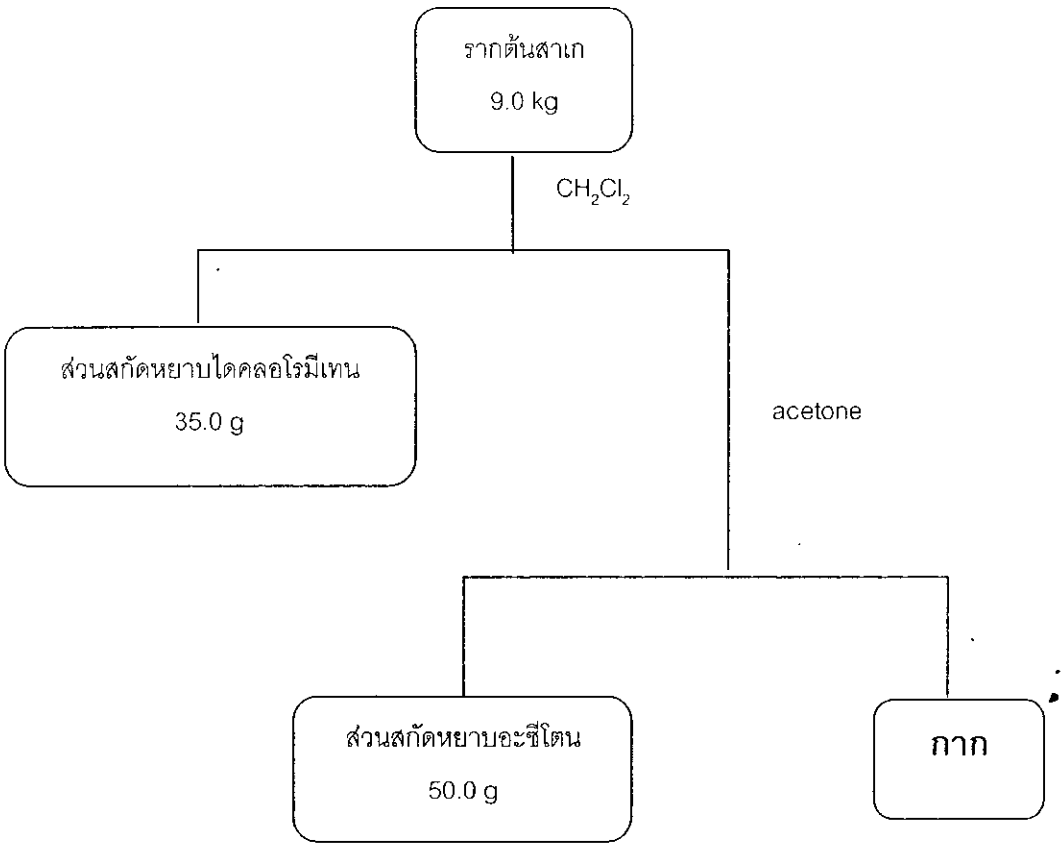
- Quick Column Chromatography (QCC)
- Column Chromatography (CC)
- Nuclear Magnetic Resonance spectrum (NMR) 300 MHz Bruker
- BUCHI Rotavapor R-114
- FT-IR spectrum GX (PERKIN ELMER)
- UV SPECCORD S100
- Bruker Apex2 CCD diffractormeter with a graphite monochromated MoK_α radiation

สารเคมี

- hexane, dichloromethane, ethylacetate, acetone, methanol และ chloroform
- Siliga gel 60 (Merck) สำหรับคอลัมน์โครมาโตกราฟี และ TLC
- Siliga gel 100 (Merck)

7. การสกัดรากต้นสาเกด้วยตัวทำละลาย

นำรากต้นสาเกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ผึ่งลมให้แห้ง ได้น้ำหนักแห้ง 9.0 กิโลกรัม สกัดด้วย dichloromethane (CH_2Cl_2) 2 ครั้ง นานครั้งละ 1 สัปดาห์ กากที่เหลือนำมาสกัดด้วย acetone 2 ครั้ง นานครั้งละ 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำส่วนที่ได้จากการสกัดด้วย dichloromethane และ acetone นี้มาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ซึ่งจะได้ของหนืดสีน้ำตาลปนดำของส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 และ acetone ดังแสดงในแผนภาพที่ 2



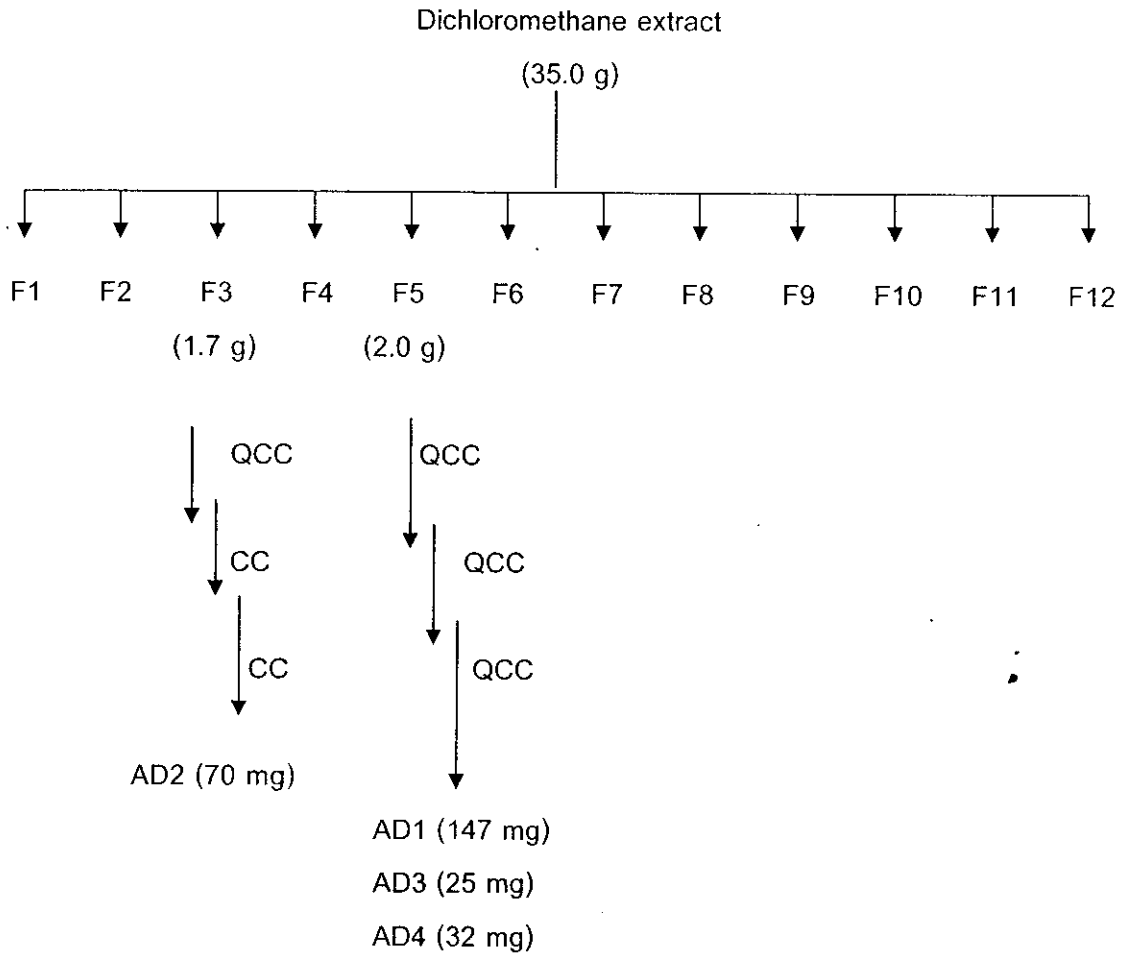
แผนภาพที่ 2 แสดงการสกัดส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 และ ส่วนสกัดหยาบ acetone

8. การแยกสารจากรากต้นสาเกให้บริสุทธิ์

8.1 ส่วนสกัดหยาบ dichloromethane

นำส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 35.0 กรัม ลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ มาทำการแยกโดยใช้ Quick Column Chromatography (QCC) โดยใช้ silica gel 60 เป็นตัวดูดซับ และชะด้วย Hexane จากนั้นเพิ่มความมีขั้วขึ้นด้วย acetone เก็บส่วนย่อยละ 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นรวมส่วนย่อยโดยอาศัยผลของ Thin Layer Chromatography (TLC) ได้ทั้งหมด 12 fractions (F1 –F12)

ในการแยกสารให้บริสุทธิ์นำ F3 และ F5 มาทำการแยก fraction ต่อ แสดงดัง แผนภาพที่ 3

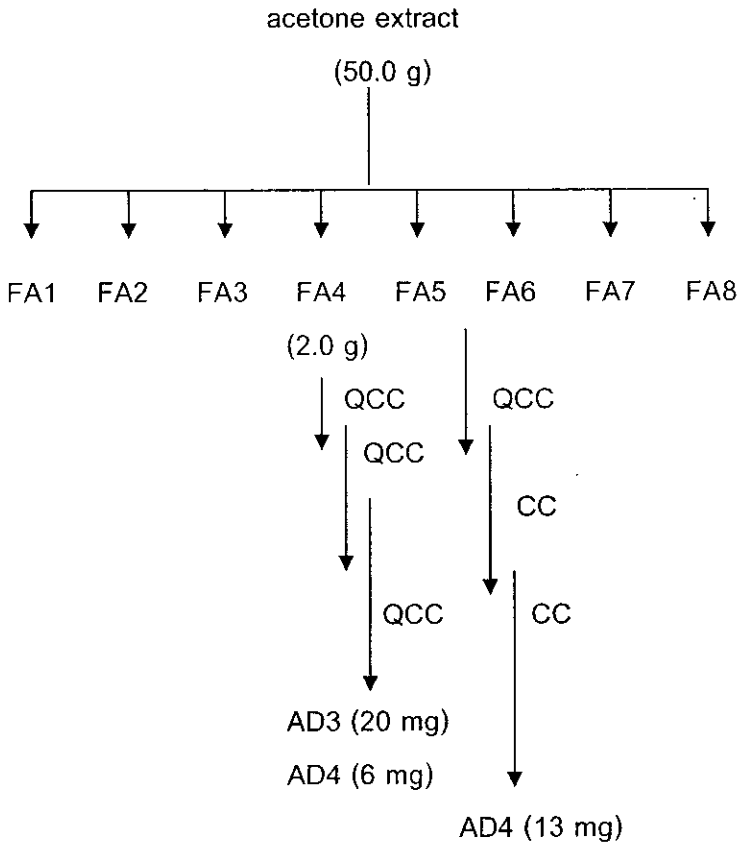


แผนภาพที่ 3 แสดง fraction ต่าง ๆ ที่ได้จาก dichloromethane crude

8.2 ส่วนสกัดหยาบ acetone

นำส่วนสกัดหยาบ acetone 50.0 กรัม ลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ มาทำการแยกโดยใช้ Quick Column Chromatography (QCC) โดยใช้ silica gel 60 เป็นตัวดูดซับ และชะด้วย Hexane จากนั้นเพิ่มความมีขั้วขึ้นด้วย acetone และ EtOAc เก็บส่วนย่อยละ 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นรวมส่วนย่อยโดยอาศัยผลของ Thin Layer Chromatography (TLC) ได้ทั้งหมด 8 fractions (FA1 –FA8)

ในการแยกสารให้บริสุทธิ์นำ FA4, FA5 และ FA6 มาทำการแยก fraction ต่อ แสดงดังแผนภาพที่ 4

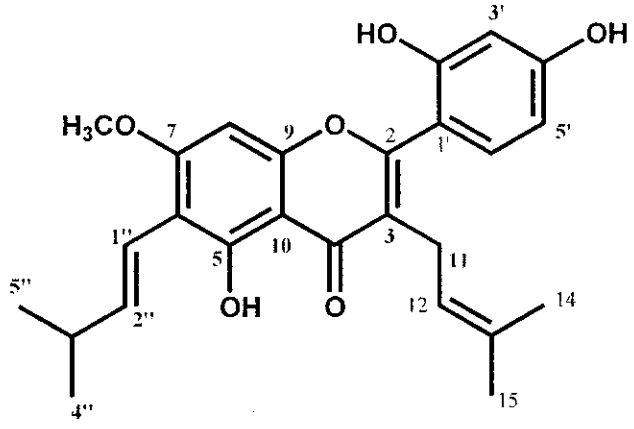


แผนภาพที่ 4 แสดง fractions ต่าง ๆ ที่ได้จาก acetone crude

9. ผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของต้นสาเกที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 และส่วนสกัดหยาบ acetone ได้สารบริสุทธิ์ทั้งสิ้น 4 สาร และหลังจากทำการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีพบว่าสารในกลุ่มของ flavonoid 2 สาร คือ Artocarpin (สารประกอบ AD1) และ Cycloartocarpin (สารประกอบ AD2) และสารในกลุ่มของ triterpenoid 2 สาร คือ Friedelin (สารประกอบ AD3) และของผสม ระหว่าง Friedelin (สารประกอบ AD3) กับ 3β-friedelenol (สารประกอบ AD4)

9.1 การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร Artocarpin (สารประกอบ AD1)



รูปที่ 9.1.1 แสดงโครงสร้างของ Artocarpin (สารประกอบ AD1)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 1**) ของสารประกอบ **AD1** ปรากฏสัญญาณของ chelated-protone ที่ 13.50 (*s*) aromatic protons บน ring A ปรากฏสัญญาณที่ 6.32 (s, H-8) 2 aromatic protons บน ring C ปรากฏสัญญาณที่ 6.52 (*br s*, H-3′), 6.52 (*d*, 9.6, H-5′) และ 7.15 (*d*, 8.1, H-6′) ตามลำดับ methoxy protons 1 ชุดที่ 3.84 (s, 3H-7) จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ของสารประกอบ **AD1** ยังปรากฏสัญญาณของหมู่ isoprenyl 1 ชุด ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ 5.11 (*br t*, 6.3, 2H-11), 3.11 (*d*, 6.3, H-12), 1.59 (s, H-14) และ 1.40 (s, H-15) ตามลำดับ นอกจากนั้นยังปรากฏสัญญาณของหมู่ trans-isoprenyl อีก 1 ชุด ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ 6.48 (*d*, 16.5, H-1′′), 6.65 (*dd*, J = 6.6, 16.5, H-2′′), 2.44 (m, H-3′′) และ 1.08 (*d*, 6.6, 6H-4′′, 5′′) จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 1**) ของสารประกอบ **AD1** สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่างๆ เข้าด้วยกัน ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ **AD1** ดังแสดงใน **รูปที่ 9.1.1** เพราะฉนั้นสารประกอบ **AD1** คือ Artocarpin

สารประกอบบริสุทธิ์ AD1 มีลักษณะทางกายภาพเป็นของหนืดสีเหลือง

FT-IR (neat) ν_{max} (cm^{-1}) ; 3353 (O-H stretching)

1615 (C=O stretching)

UV (MeOH) λ_{max} (nm) ; 260, 278 and 320

^{1}H NMR ($CDCl_3$) (δ ppm) ;13.50 (*s*), 7.15 (*d*, J = 8.1 Hz), 6.65 (*dd*, J = 6.6, 16.5 Hz), 6.52 (*br s*), 6.52 (*d*, J = 9.6 Hz), 6.48 (*d*, J = 16.5 Hz), 6.32 (*s*), 5.11 (*br t*, J = 6.3 Hz), 3.84 (*s*), 3.11 (*d*, J = 6.3 Hz), 2.44 (*m*), 1.59 (*s*), 1.40 (*s*), 1.40 (*s*), 1.08 (*d*, J = 6.6 Hz)

^{13}C NMR($CDCl_3$) (δ ppm) ; ปรากฏสัญญาณคาร์บอน 26 คาร์บอน ดังนี้ 182.29, 162.93, 159.52, 159.14, 158.64, 156.14, 155.16, 142.63, 133.24, 131.59, 121.53, 120.89, 115.60, 112.46, 109.77, 108.35, 105.03, 103.82, 89.47, 55.96, 33.09, 25.67, 24.37, 22.66, 22.66, 17.70

DEPT 135^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ CH_2 1 คาร์บอน ดังนี้ 24.37

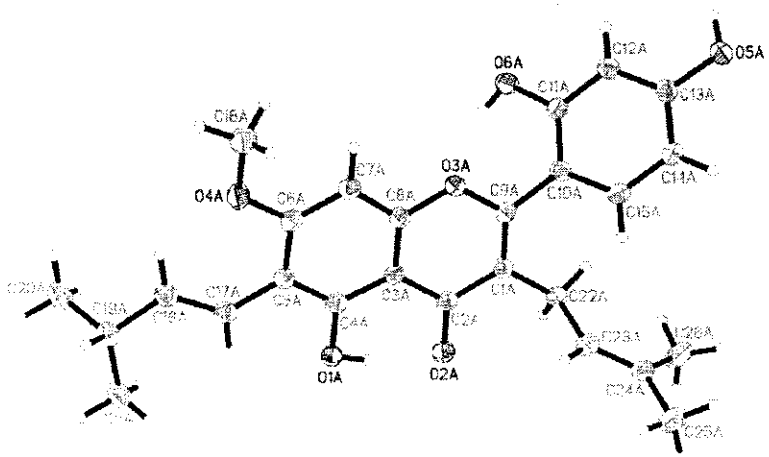
ปรากฏสัญญาณของ CH_3 5 คาร์บอน ดังนี้ 55.96, 25.67, 22.66, 22.66, 17.70

DEPT 90^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ CH 8 คาร์บอน ดังนี้ 142.63, 131.59, 120.89, 115.60, 108.35, 103.82, 89.47, 33.09

จากข้อมูลของ ^{13}C NMR , DEPT 135^0, DEPT 90^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ C 12 คาร์บอน ดังนี้ 182.29, 162.93, 159.52, 159.14, 158.64, 156.14, 155.16, 133.24, 121.53, 112.49, 109.77, 105.03

ตารางที่ 1 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของ สารประกอบ AD1

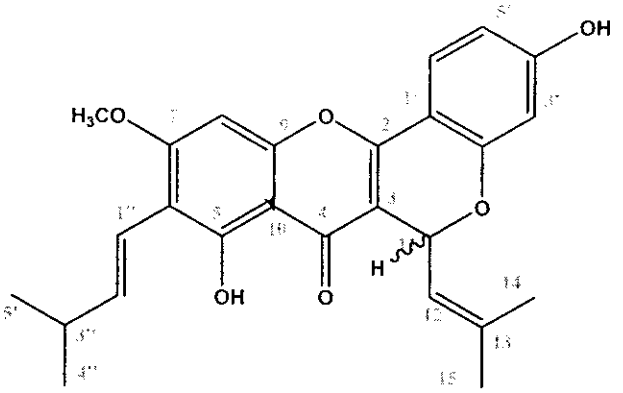
ตำแหน่ง	^{13}C NMR (δ ppm)	ชนิด	^{1}H NMR (δ ppm) Mult , J(Hz)	HMBC (^{1}H⟶^{13}C)
2	159.52	C	-	-
3	121.53	C	-	-
4	182.29	C	-	-
5	158.64	C	-	-
6	109.77	C	-	-
7	162.93	C	-	-
8	89.47	CH	6.32 (*s*)	C-4,C-6,C-7,C-9,C-10
9	156.14	C	-	-
10	105.03	C	-	-
11	24.37	CH_2	3.11 (*d*, J = 6.3 Hz)	C-2,C-3,C-4,C-12,C-13
12	120.89	CH	5.11 (*br t*, J = 6.3 Hz)	C-14,C-15
13	133.24	C	-	-
14	25.67	CH_3	1.59 (*s*)	C-12,C-13
15	17.70	CH_3	1.40 (*s*)	C-12,C-13
1′	112.46	C	-	-
2′	155.16	C	-	-
3′	103.82	CH	6.52 (*br s*)	C-1′,C-2′,C-5′
4′	159.14	C	-	-
5′	108.35	CH	6.52 (*d*, J = 9.6 Hz)	C-1′,C-3′
6′	131.59	CH	7.15 (*d*, J = 8.1 Hz)	C-2
1″	115.60	CH	6.48 (*d*, J = 16.5 Hz)	C-5,C-7,C-2″,C-3″
2″	142.63	CH	6.65 (*dd*, J = 6.6, 16.5 Hz)	C-6,C-1″,C-3″,C-5″
3″	33.09	CH	2.44 (*m*)	C-1″,C-2″,C-4″,C-5″
4″	22.66	CH_3	1.08 (*d*, J = 6.6 Hz)	C-2″,C-3″
5″	22.66	CH_3	1.08 (*d*, J = 6.6 Hz)	C-2″,C-3″
OMe	55.96	CH_3	3.84 (*s*)	C-7
5-OH	-	-	13.50 (*s*)	C-5,C-6,C-7,C-10



รูปที่ 9.1.2 แสดงโครงสร้างทางรังสีเอกซ์ของสารประกอบ AD1

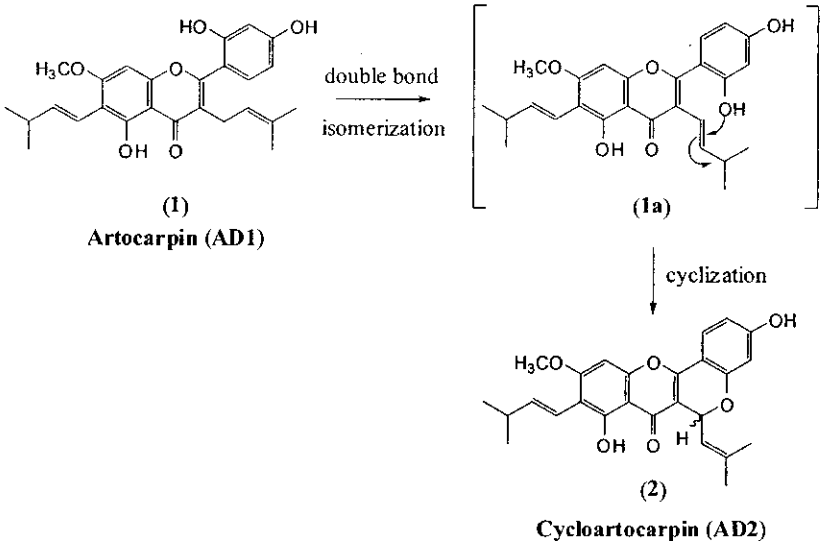
Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Hoong-Kun Fun and Chatchanok Karalai "Artocarpin dichloromethane hemisolvate" (2007). *Acta Cryst.*, E63, o1864-o1866.

9.2 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Cycloartocarpin (สารประกอบ AD2)



รูปที่ 9.2.1 แสดงโครงสร้างของ Cycloartocarpin (สารประกอบ AD2)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 2**) ของสารประกอบ **AD2** ปรากฏสัญญาณคล้ายกับสัญญาณ proton ของสารประกอบ **AD1** ซึ่งสารประกอบ **AD2** ปรากฏสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ที่แตกต่างกับสารประกอบ **AD1** ที่ 6.23 (*d*, 9.3 , H-11), 5.42 (d, 9.3, H-12), 1.95 (*s*, 3H-14) และ 1.68 (*s*, 3H-13) เข้ามาแทนสัญญาณ proton ของหมู่ isoprenyl ของสารประกอบ **AI1** ที่ 5.11 (*br t*, 6.3, 2H-11), 3.11 (*d*, 6.3, H-12), 1.59 (s, H-14) และ 1.40 (s, H-15) ตามลำดับ จากลักษณะสัญญาณ proton ที่ปรากฏของสารประกอบ **AD2** สามารถสรุปได้ว่า hydroxyl group ที่เกาะอยู่ที่ C-2′ เกิดการปิดวงแหวนไปที่หมู่ isoprenyl ที่เกาะอยู่ที่ C-3 (ดังแสดงใน **รูปที่ 9.2.2**) จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 2**) ของสารประกอบ **AD2** สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่างๆ เข้าด้วยกัน และยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AD2 ได้ดังแสดงใน **รูปที่ 9.2.1** เพราะฉนั้นสารประกอบ **AD2** คือ Cycloartocarpin



(1)
Artocarpin (AD1)

(1a)

(2)
Cycloartocarpin (AD2)

รูปที่ 9.2.1 แสดงแนวทางการเกิดชีวสังเคราะห์ของสารประกอบ **AD2**

สารประกอบบริสุทธิ์ AD2 มีลักษณะทางกายภาพเป็นของหนืดสีเหลือง

FT-IR (neat) ν_{max} (cm^{-1}) ; 3383 (O-H stretching),
1645 (C=O stretching)

^{1}H NMR ($CDCl_3$) (δ ppm) ; 13.50 (*s*), 7.62 (*d*, J = 7.5 Hz), 6.71 (*dd*, J = 6.9, 16.2 Hz), 6.55 (*d*, J = 16.2 Hz), 6.54 (*br d*, J = 6.6 Hz), 6.44 (*s*), 6.41 (*s*), 6.23 (*d*, J = 9.3 Hz), 5.42 (*d*, J = 9.3 Hz), 3.93 (*s*), 2.48 (*m*), 1.95 (*s*), 1.68 (*s*), 1.11 (*d*, J = 6.9 Hz)

^{13}C NMR($CDCl_3$) (δ ppm) ; ปรากฏสัญญาณคาร์บอน 26 คาร์บอน ดังนี้
178.55, 162.49, 161.50, 158.98, 158.01, 155.35, 155.21, 142.69, 139.27, 125.21, 121.06, 116.65, 115.64, 109.94, 109.83, 109.80, 105.62, 104.54, 89.74, 69.79, 55.98, 33.11, 25.92, 22.72, 22.71, 18.68

DEPT 135^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ CH_3 5 คาร์บอน ดังนี้
55.98, 25.92, 22.72, 22.71, 18.68

DEPT 90^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ CH 9 คาร์บอน ดังนี้
142.69, 125.21, 121.06, 115.64, 104.54, 109.80, 89.74, 69.79, 33.11

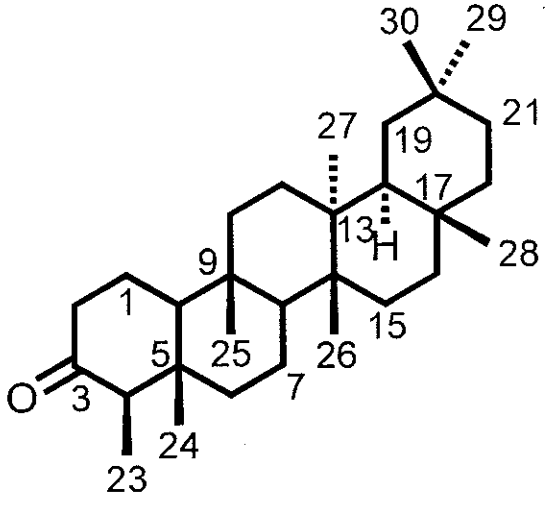
จากข้อมูลของ ^{13}C NMR , DEPT 135^0 , DEPT 90^0 ($CDCl_3$) ; ปรากฏสัญญาณของ C 12 คาร์บอน ดังนี้ 158.01, 109.94, 178.55, 158.98, 109.83, 162.49, 155.21, 105.62, 139.27, 116.65 , 155.35, 161.50

ตารางที่ 2 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ AD2

ตำแหน่ง	^{13}C NMR (δ ppm)	ชนิด	^{1}H NMR (δ ppm) Mult , J(Hz)	HMBC (^{1}H$\rightarrow$^{13}C)
2	158.01	C	-	-
3	109.94	C	-	-
4	178.55	C	-	-
5	158.98	C	-	-
6	109.83	C	-	-
7	162.49	C	-	-
8	89.74	CH	6.44 (*s*)	C-4,C-6,C-7,C-9,C-10
9	155.21	C	-	-
11	69.79	CH	6.23 (*d*, J = 9.3 Hz)	C-2,C-3,C-4,C-12,C-13,C-2′
12	121.06	CH	5.42 (*d*, J = 9.3 Hz)	-
13	139.27	C	-	-
14	18.68	CH_3	1.95 (*s*)	C-12,C-13,C-15
15	25.92	CH_3	1.68 (*s*)	C-12,C-13,C-14
1′	116.65	C	-	-
2′	155.35	C	-	-
3′	104.54	CH	6.41 (*s*)	C-2
4′	161.50	C	-	-
5′	109.80	CH	6.54 (*br d*, J = 6.6 Hz)	-
6′	125.21	CH	7.61 (*d*, J = 7.5 Hz)	C-2,C-2′,C-4′
1″	115.64	CH	6.55 (*d*, J = 16.2 Hz)	C-5,C-6,C-7,C-2″,C-3″
2″	142.69	CH	6.71 (*dd*, J = 6.9, 16.2 Hz)	C-6,C-1″,C-3″,C-4″
3″	33.11	CH	2.48 (*m*)	C-1″,C-2″,C-5″
4″	22.72	CH_3	1.11 (*d*, J = 6.9 Hz)	C-2″,C-3″
5″	22.71	CH_3	1.11 (*d*, J = 6.9 Hz)	C-2″,C-3″
OMe	55.98	CH_3	3.93 (*s*)	C-7
5-OH	-	-	13.50 (*s*)	C-5,C-6,C-7,C-10

9.3 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Friedelin (สารประกอบ AD3)

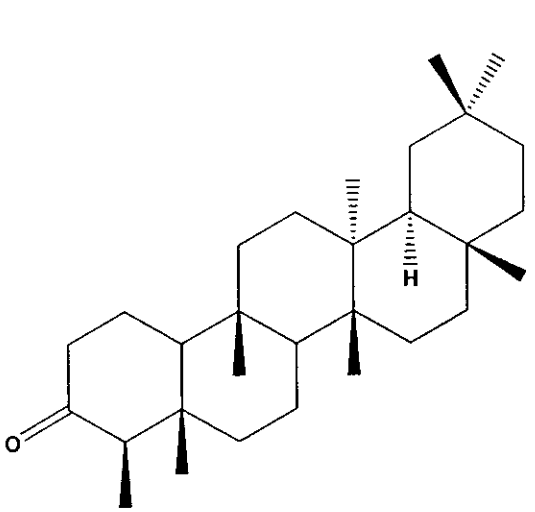
เมื่อนำ TLC ที่ใช้ทดสอบสารประกอบ AD3 มาพ่นด้วยวานิลลินในกรดซัลฟิวริกแล้วให้ความร้อน จะปรากฏเป็นจุดสีม่วงจึงคาดว่า สารประกอบ AD3 น่าจะเป็นสารในกลุ่ม triterpene และจาก ^{1}H NMR ปรากฏสัญญาณของ methyl singlet 7 สัญญาณ ที่ 1.19, 1.05, 1.02, 1.01, 0.96, 0.87, 0.72 ppm ซึ่งเป็นลักษณะสัญญาณของ Friedelan และยังปรากฏสัญญาณของ methyl doublet ที่ 0.81 ppm และจากการตรวจค้นเอกสารพบว่า สารประกอบ AD3 ปรากฏสัญญาณ ^{1}H NMR เหมือนกับสัญญาณ ^{1}H NMR ของ Friedelin ดังนั้น สารประกอบ AD3 คือ Friedelin ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดง



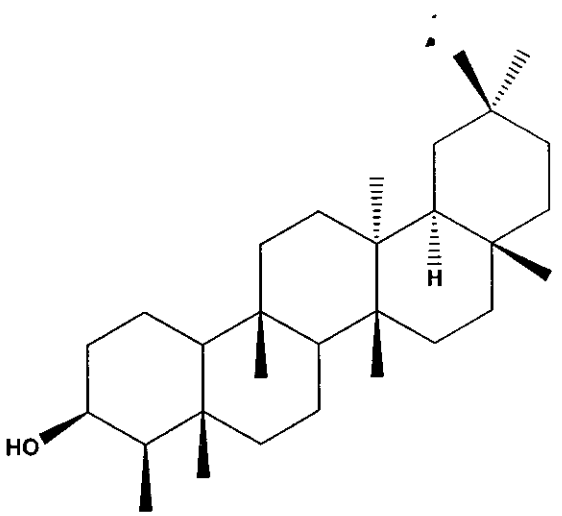
รูปที่ 9.3 แสดงโครงสร้างของ Friedelin (สารประกอบ AD3)

9.4 การวิเคราะห์โครงสร้างของผสม Friedelan (AD3) และ 3β-friedelenol (AD4) (สารประกอบ AD4)

จากการเปรียบเทียบ ^{1}H NMR Spectrum ของ สารประกอบ AD4 กับ ^{1}H NMR ของ สารประกอบ AD3 จะเห็นว่าในช่วง high field สารทั้งสองจะปรากฏสัญญาณ ^{1}H NMR เหมือนกัน ดังนั้น สารประกอบ AD4 น่าจะมีโครงสร้างหลักเป็น Friedelan และจาก ^{1}H NMR Spectrum ของ สารประกอบ AD4 จะมีจำนวนโปรตอนเป็นสองเท่าของ สารประกอบ AD3 และสารประกอบ AD4 ยังปรากฏสัญญาณของ methyl singlet ที่ 3.83 ppm แสดงว่า สารประกอบ AD4 เป็นของผสมในกลุ่มของ Friedelan ซึ่งสารประกอบ AD4 นี้ไม่สามารถแยกต่อได้อีกเนื่องจากของผสมมีค่า R_f values เท่ากัน แต่สามารถตกผลึกได้ และจากโครงสร้าง X-ray จะได้โครงสร้างหลักเป็น Friedelan ซึ่งเป็นของผสมระหว่าง Friedelin (AD3) กับ 3β-friedelenol (AD4) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดง

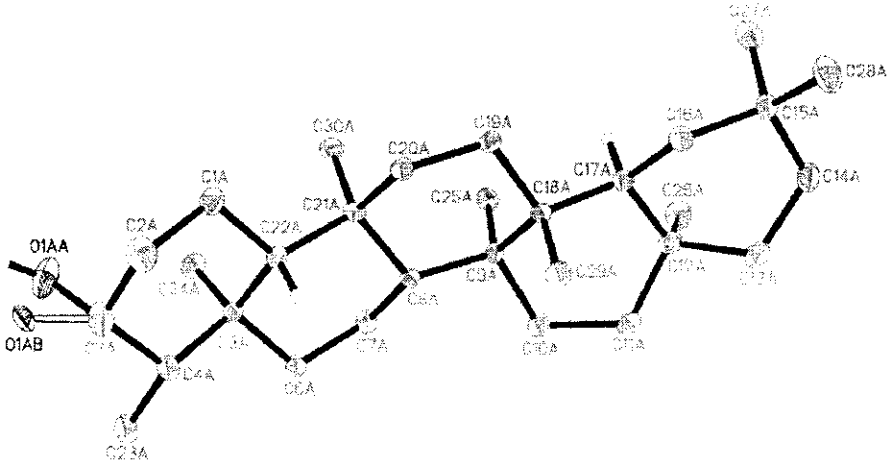


Friedelin (AD3)



3β-friedelenol (AD4)

รูปที่ 9.4.1 แสดงโครงสร้างของของผสม Friedelin (AD3) กับ 3β-friedelenol (AD4)



รูปที่ 9.4.2 แสดงโครงสร้างทางรังสีเอกซ์ของ cocrystal ของ Friedelin (AD3) กับ 3β-friedelenol (AD4)

Hoong-Kun Fun, Nawong Boonnak and Suchada Chantrapromma (2007)

"A cocrystal of friedelan-3β-ol and friedelin (0.75/0.25)

Acta Cryst., E63, o2014-o2016.

10. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากรากต้นจำปาดะ

เนื่องจากรากต้นสาเกที่เก็บมาทำการแยกนั้นมีสารอยู่จำนวนน้อยชนิดและทำการแยกได้ค่อนข้างยาก ผู้วิจัยต้องการได้สารกลุ่ม flavonoid เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสนใจที่จะหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ตามที่ได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีเพิ่มเติมจากรากต้นจำปาดะ (*Artocarpus integer* (Thunb.) Merr.) เนื่องจากเป็นพืชใน genus เดียวกับสาเก จึงคาดว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบจะเป็นสารกลุ่มเดียวกันนั่นคือ สารกลุ่ม flavonoid และได้ผลตามที่คาดไว้

ทำการแยกสารจากรากต้นจำปาดะด้วยวิธีโครมาโตกราฟี สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้จากรากต้นจำปาดะจำนวน 5 สาร และเป็นสารใหม่ 1 สาร

การสกัดรากต้นจำปาดะด้วยตัวทำละลาย

นำรากของจำปาดะที่แห้งแล้วมาสับให้ละเอียดและสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (40 ลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง และระเหยตัวทำละลายออกจะได้ส่วนสกัดหยาบที่เป็นของหนืดสีน้ำตาลปนแดง 127 กรัม นำส่วนสกัดหยาบที่ได้มาละลายด้วยเฮกเซนซึ่งจะแบ่งได้เป็นสองส่วนคือ ส่วนที่ละลายในเฮกเซน และส่วนที่ไม่ละลายในเฮกเซน

นำส่วนที่ไม่ละลายในเฮกเซนมาแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick column chromatography) โดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 4 ส่วน (A-D)

นำส่วนย่อย A มาแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวเคลื่อนที่และเพิ่มความเป็นขั้วด้วยอะซิโตน ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 10 ส่วน (A1-A10) และนำส่วนย่อย A2 มาแยกซ้ำโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วโดยใช้ตัวเคลื่อนที่เป็นของผสมระหว่างเมทานอล คลอโรฟอร์มและเฮกเซนในอัตราส่วน 5:20:75 ตามลำดับ ได้ สารบริสุทธิ์ AI5

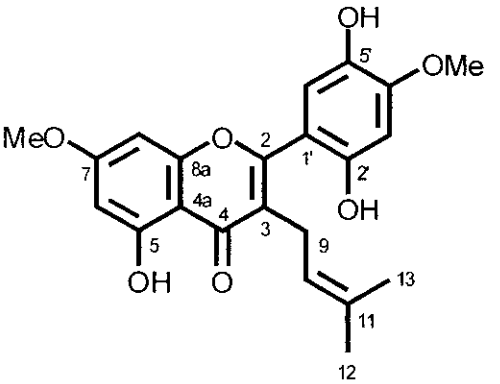
นำส่วนย่อย B มาแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วโดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 6 ส่วน (B1-B6) ตกผลึกซ้ำส่วนย่อย B1 ด้วยไดคลอโรมีเทนได้สารบริสุทธิ์ AI4

นำส่วนย่อย B2 มาแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวเคลื่อนที่และเพิ่มความเป็นขั้วด้วยไดคลอโรมีเทน ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วน (B2A-B2E) ตกผลึกซ้ำส่วนย่อย B2D ด้วยไดคลอโรมีเทนได้สารบริสุทธิ์ AI2

ตกผลึกซ้ำส่วนย่อย B3 ด้วยไดคลอโรมีเทนได้สารบริสุทธิ์ AI3

ตกผลึกซ้ำส่วนย่อย B5 ด้วยไดคลอโรมีเทนได้สารบริสุทธิ์ AI1

10.1 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Artoindonesianin Q (สารประกอบ AI1)



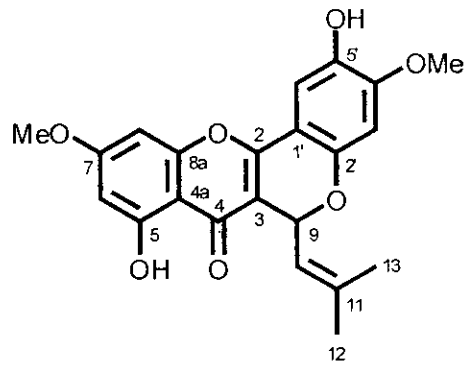
รูปที่ 10.1 โครงสร้างของสารประกอบ Artoindonesianin Q (AI1)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 3**) ของสารประกอบ AI1 ปรากฏสัญญาณของ chelated-protone ที่ 12.80 (*s*) 2 aromatic protons บน ring A ปรากฏสัญญาณที่ 6.36 (*d*, 2.4, H-6) และ 6.35 (*d*, 2.4, H-8) 2 aromatic protons บน ring C ปรากฏสัญญาณที่ 6.57 (*s*, H-3′) และ 6.89 (*d*, H-6′) ตามลำดับ นอกจากนั้นจาก จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ของสารประกอบ AI1 ยังปรากฏสัญญาณของ methoxy protons 2 ชุดที่ 3.84 (s, 3H-7) และ 3.94 (s, 3H-4′) ทั้งยังปรากฏสัญญาณ protons ของหมู่ isoprenyl ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ 5.19 (br t, 6.8, H-10), 3.15 (d, 6.8, 2H-9), 1.67 (s, 3H-13) และ 1.52 (s, 3H-12) ตามลำดับ จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 3**) ของสารประกอบ AI1 สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่าง ๆ เข้าด้วยกัน ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AI1 ดังแสดงใน **รูปที่ 10.1** เพราะฉนั้นสารประกอบ AI1 คือ Artoindonesianin Q

ตารางที่ 3 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ AI1

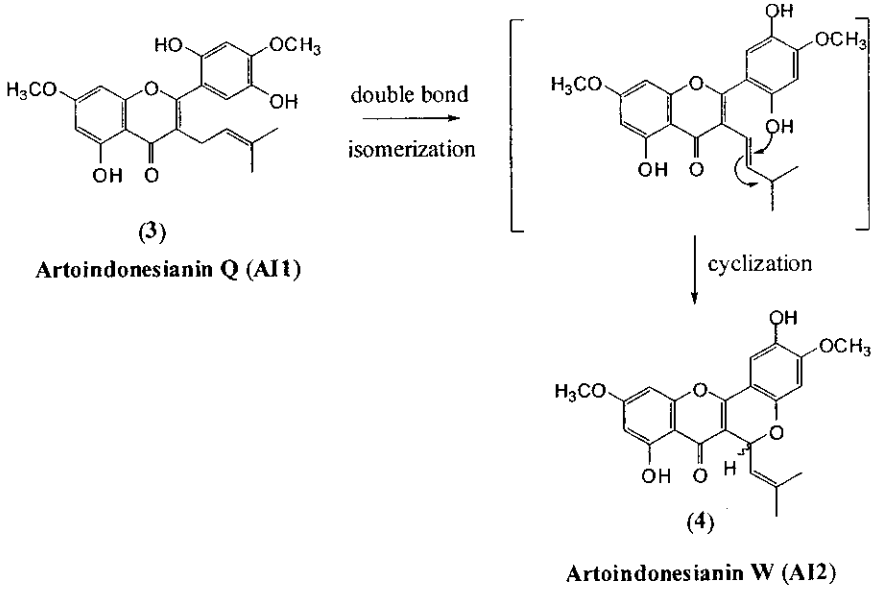
Position	δ_H (*mult.*, J_{Hz})	δ_C	*C-Type*	*HMBC*
2	-	157.8	C	-
3	-	121.4	C	-
4	-	182.1	C	-
4a	-	105.0	C	-
5	-	162.1	C	-
6	6.36 (*d*, 2.4)	98.1	CH	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	165.5	C	-
8	6.35 (*d*, 2.4)	92.0	CH	C-4a, C-6, C-7, C-8a
8a	-	157.8	C	-
9	3.15 (*d*, 6.8)	224.4	CH_2	C-2, C-3, C-4, C-10, C-11
10	5.19 (*mt*, 6.8)	120.6	CH	C-12, C-13
11	-	133.8	C	-
12	1.52 (*s*)	17.7	CH_3	C-10, C-11, C-13
13	1.67 (*s*)	25.7	CH_3	C-10, C-11, C-12
1′	-	111.3	C	-
2′	-	147.6	C	-
3′	6.57 (*s*)	100.4	CH	C-1′, C-2′, C-4′, C-5′
4′	-	149.4	C	-
5′	-	139.5	C	-
6′	6.89 (*s*)	114.8	CH	-
5-OH	12.8 (*s*)	-	-	C-4a, C-5, C-6
7-OMe	3.84 (*s*)	55.8	CH_3	C-7
2′-OH	5.32 (*s*)	-	-	C-3′
4′-OMe	3.94(*s*)	56.1	CH_3	C-4′
5′-OH	5.30(*s*)	-	-	C-4′, C-5′, C-6′

10.2 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Artoindonesianin W (สารประกอบ AI2)



รูปที่ 10.2.1 โครงสร้างของสารประกอบ Artoindonesianin W (AI2) (**สารใหม่**)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 4**) ของสารประกอบ AI2 ปรากฏสัญญาณของคล้ายกับสัญญาณ proton ของสารประกอบ AI1 ซึ่งสารประกอบ AI2 ปรากฏสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ที่แตกต่างกับสารประกอบ AI1 ที่ 6.32 (d, 2.4, H-9), 5.48 (dhept, 9.6, 1.2, H-10), 1.71 (d, 1.2, 3H-12) และ 1.52 (d, 1.2, 3H-13) เข้ามาแทนสัญญาณ proton ของหมู่ isoprenyl ของสารประกอบ AI1 ที่ 3.15 (d, 6.8, 2H-9), 5.19 (br t, 6.8, H-10), 1.67 (s, 3H-13) และ 1.52 (s, 3H-12) ตามลำดับ จากลักษณะการปรากฏสัญญาณ proton ของสารประกอบ AI2 สามารถสรุปได้ว่า hydroxyl group ที่เกาะอยู่ที่ C-2′ เกิดการปิดวงแหวนไปที่หมู่ isoprenyl ที่เกาะอยู่ที่ C-3 (ดังแสดงใน **รูปที่ 10.2.2**) จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 3**) ของสารประกอบ AI2 สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่างๆ เข้าด้วยกัน และ ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AI2 ได้ดังแสดงใน **รูปที่ 10.2.1** เพราะฉนั้นสารประกอบ AI2 คือ Artoindonesianin W ซึ่งเป็นสารใหม่

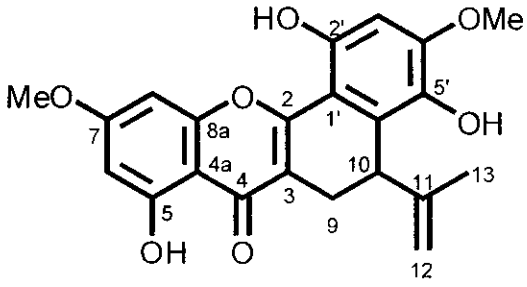


รูปที่ 10.2.2 แสดงแนวทางการเกิดชีวสังเคราะห์ของสารประกอบ AI2

ตารางที่ 4 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ AI2

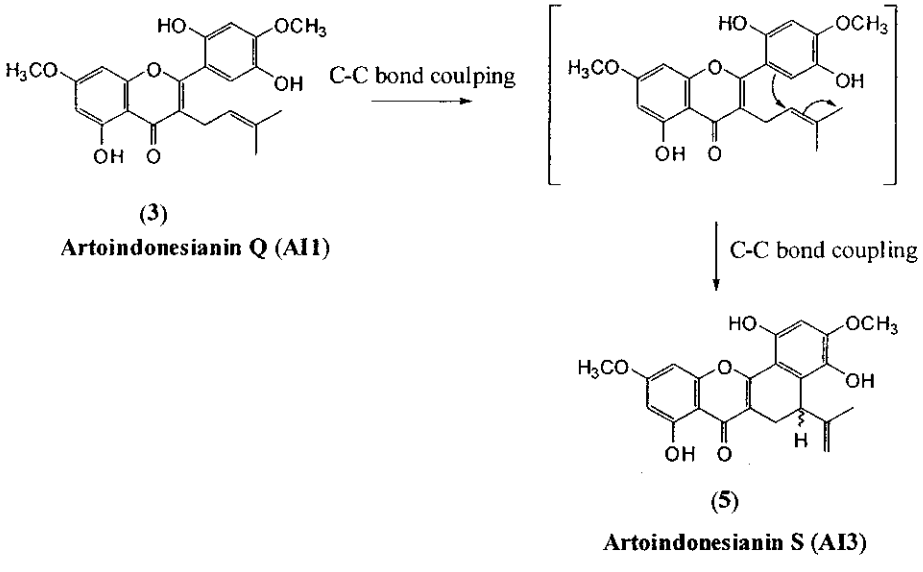
Position	δ_H (*mult.*, J_{Hz})	δ_C	*C-Type*	*HMBC*
2	-	155.6	C	-
3	-	110.2	C	-
4	-	178.5	C	-
4a	-	105.8	C	-
5	-	162.2	C	-
6	6.33 (*d*, 2.4)	98.0	CH	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	165.1	C	-
8	6.44 (*d*, 2.4)	92.7	CH	C-4a, C-6, C-7, C-8a
8a	-	157.0	C	-
9	6.23 (*d*, 9.6)	69.5	CH	C-2, C-3, C-4, C-10, C-11, C-2′
10	5.48 (*dhept*, 9.6, 1.2)	120.8	CH	C-12, C-13
11	-	139.2	C	-
12	1.71 (*d*, 1.2)	26.0	CH_3	C-10, C-11, C-13
13	1.98 (*d*, 1.2)	18.7	CH_3	C-10, C-11, C-12
1′	-	107.9	C	-
2′	-	151.1	C	-
3′	6.49 (*s*)	100.7	CH	C-1′, C-5′
4′	-	151.3	C	-
5′	-	140.5	C	-
6’	7.29 (*s*)	108.2	CH	C-2, C-2′, C-5′
5-OH	12.8 (*s*)	-	-	C-4a, C-5, C-6
7-OMe	3.87 (*s*)	55.8	CH_3	C-7
4′-OMe	3.92 (*s*)	56.2	CH_3	C-4′
5′-OH	5.38 (*s*)	-	-	C-4′, C-5′, C-6′

10.3 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Artoindonesianin S (สารประกอบ AI3)



รูปที่ 10.3.1 โครงสร้างของสารประกอบ Artoindonesianin S (AI3)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 5**) ของสารประกอบ AI3 ปรากฏสัญญาณของคล้ายกับสัญญาณ proton ของสารประกอบ AI1 ซึ่งสารประกอบ AI3 ปรากฏสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ที่แตกต่างกับสารประกอบ AI1 ที่ 2.55 (*dd*, 16.0, 6.8, Ha-9), 3.41 (*dd*, 16.0, 1.2, Hb-9), 4.00 (*br d*, 6.8, H-10), 4.30 (*br d*, 1.2, Ha-12), 4.71(*br d*, 1.2, Hb-12) และ 1.82 (*s*, 3H-13) เข้ามาแทนสัญญาณ proton ของหมู่ isoprenyl ของสารประกอบ AI1 ที่ 3.15 (*d*, 6.8, 2H-9), 5.19 (*br t*, 6.8, H-10), 1.67 (*s*, 3H-13) และ 1.52 (*s*, 3H-12) ตามลำดับ และ สัญญาณ aromatic proton หายไปเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณ proton ของสารประกอบ AI3 ที่ 6.16 (s, H-2′) จากลักษณะการปรากฏสัญญาณ proton ของสารประกอบ AI3 สามารถสรุปได้ว่าสารประกอบ AI1 เกิด C-C bond coupling ของคาร์บอนที่ตำแหน่ง C-6′ ไปปิดวงแหวนที่หมู่ isoprenyl ที่เกาะอยู่ที่คาร์บอนที่ตำแหน่ง C-3 (ดังแสดงใน **รูปที่ 10.3.2**) จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 5**) ของสารประกอบ AI3 สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่าง ๆ เข้าด้วยกัน และ ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AI3 ได้ดังแสดงใน **รูปที่ 10.3.1** เพราะฉนั้นสารประกอบ AI3 คือ Artoindonesianin S



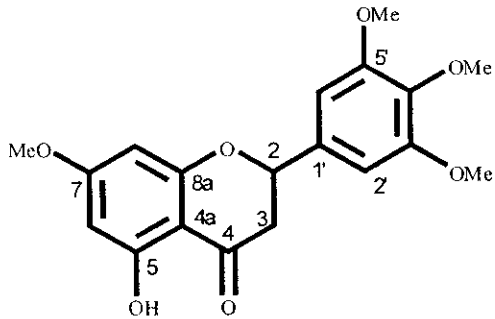
รูปที่ 10.3.2 แสดงแนวทางการเกิดชีวสังเคราะห์ของสารประกอบ **AI3**

ตารางที่ 5 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ Al3

Position	δ_H (*mult.*, J_{Hz})	δ_C	*C-Type*	*HMBC*
2	-	159.7	C	-
3	-	111.8[b]	C	-
4	-	180.2	C	-
4a	-	105.0[c]	C	-
5	-	162.3	C	-
6	6.38 (*d*, 2.4)[a]	98.2	CH	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	165.1	C	-
8	6.39 (*d*, 2.4)[a]	92.2	CH	C-4a, C-6, C-7, C-8a
8a	-	155.7	C	-
9	2.55 (*dd*, 16.0, 6.8)	21.7	CH_2	C-2, C-3, C-4, C-10, C-11, C-6′
	3.41 (*dd*, 16.0, 1.2)			
10	4.00 (*brd*, 6.8)	36.5	CH	C-3, C-9, C-11, C-12, C-13, C-1′, C-5′, C-6′
11	-	144.4	C	-
12	4.30 (*brd*, 1.2)	111.7[b]	CH_2	C-10, C-11, C-13
	4.71(*brd*, 1.2)			
13	1.82 (*s*)	21.7	CH_3	C-10, C-11, C-12
1′	-	105.1[c]	C	-
2′	-	150.0	C	-
3′	6.47 (*s*)	99.1	CH	C-1′, C-2′, C-5′
4′	-	150.8	C	-
5′	-	136.4	C	-
6′	-	126.0	C	-
5-OH	13.0 (*s*)	-	-	C-4a, C-5, C-6
7-OMe	3.87 (*s*)	55.9	CH_3	C-7
2′-OH	7.66 (*s*)	-	-	C-1′, C-2′, C-3′
4′-OMe	3.95 (*s*)	56.2	CH_3	C-4′
5′-OH	5.38 (*s*)	-	-	C-4′, C-5′, C-6′

[a, b, c] Interchangeable

10.4 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Artoflavonone (สารประกอบ AI4)



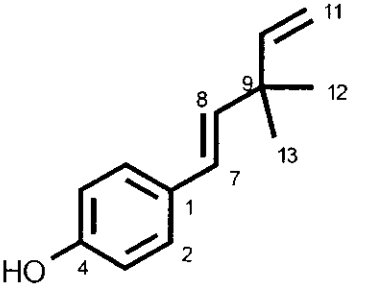
รูปที่ 10.4 โครงสร้างของสารประกอบ Artoflavanone (AI4)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่ 6**) ของสารประกอบ AI4 ปรากฏสัญญาณของ chelated-protone ที่ 12.24 (*s*) 2 aromatic protons บน ring A ปรากฏสัญญาณที่ 6.04 (*d*, 2.4, H-6) และ 6.30 (*d*, 2.4, H-8) 2 aromatic protons บน ring C ปรากฏสัญญาณที่ 6.16 (*s*, H-2′) และ 6.16 (*d*, H-6′) ตามลำดับ นอกจากนั้นจาก จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ของสารประกอบ AI4 ยังปรากฏสัญญาณของ methoxy protons 4 ชุดที่ 3.79 (s, 3H-7), 3.81 (s, 3H-3′), 3.84 (s, 3H-4′) และ 3.81 (s, 3H-5′) ทั้งยังปรากฏสัญญาณเฉพาะของ flavane typy บน ring B ที่ 5.99 (*dd*, 14.0, 3.2, H-2), 3.93 (*dd*, 17.2, 14.0, Ha-3) และ 2.51 (*dd*, 17.2, 3.2, Hb-3) จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่ 6**) ของสารประกอบ AI4 สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่างๆ เข้าด้วยกัน ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AI4 ดังแสดงใน **รูปที่ 10.4** เพราะฉนั้นสารประกอบ AI4 คือ Artoflavanone

ตารางที่ 6 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ AI4

Position	δ_H (*mult.*, J_{Hz})	δ_C	*C-Type*	*HMBC*
2	5.99 (*dd*, 14.0, 3.2)	71.6	CH	C-8a, C-1′
3	3.93 (*dd*, 17.2, 14.0)	40.1	CH_2	C-2, C-4, C-1′
	2.51 (*dd*, 17.2, 3.2)			C-4
4	-	198.4	C	-
4a	-	103.2	C	-
5	-	164.3	C	-
6	6.04 (*d*, 2.4)	94.7	CH	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	167.5	C	-
8	6.30 (*d*, 2.4)	93.8	CH	C-4a, C-6, C-7, C-8a
8a	-	164.2	C	-
1′	-	106.2	C	-
2′	6.16 (*s*)	91.1	CH	C-2, C-1′, C-3′, C-4′
3′	-	160.1	C	-
4′	-	162.1	C	-
5′	-	160.1	C	-
6′	6.16 (*s*)	91.1	CH	C-2, C-1′, C-3′, C-4′
5-OH	12.24 (*s*)	-	-	C-4a, C-5, C-6
7-OMe	3.79 (*s*)	55.4	CH_3	C-7
3′-OMe	3.81 (*s*)	55.8	CH_3	C-3′
4′-OMe	3.84 (*s*)	55.6	CH_3	C-4′
5′-OMe	3.81 (*s*)	55.8	CH_3	C-5′

10.5 การวิเคราะห์โครงสร้างของ Corylifolin (สารประกอบ AI5)



รูปที่ 10.5 โครงสร้างของสารประกอบ Corylifolin (AI5)

จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum (**ตารางที่** 7) ของสารประกอบ AI5 ปรากฏสัญญาณของ aromatic protons 2 ชุด ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ 7.25 (*d*, 8.4, H-2, H-6) และ 6.77 (*d*, 8.4, H-3, H-5) trans-double bond ปรากฏสัญญาณที่ 6.26 (*d*, 16.4, H-7) และ 6.06 (*d*, 16.4, H-8) ตามลำดับ นอกจากนั้นจาก จากลักษณะสัญญาณ ^{1}H NMR spectrum ของสารประกอบ **AI4** ยังปรากฏสัญญาณของ isoprenyl group ที่ 5.90 (*dd*, 17.6, 10.4, H-10), 4.97 (*dd*, 10.8, 1.2, Ha-11), 5.01 (*dd*, 17.6, 1.2, Hb-11), 1.20 (*s*, 3H-12) และ 1.20 (*s*, 3H-13) ตามลำดับ จากข้อมูล HMBC correlations (**ตารางที่** 7) ของสารประกอบ AI5 สามารถเชื่อมต่อหมู่แทนที่ต่างๆ เข้าด้วยกัน ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ AI5 ดังแสดงใน **รูปที่ 10.5** เพราะฉนั้นสารประกอบ AI5 คือ Corylifolin

ตารางที่ 7 ข้อมูล NMR สเปคโทรสโกปีของสารประกอบ AI5

Position	δ_H (*mult.*, J_{Hz})	δ_C	*C-Type*	*HMBC*
1	-	130.8	C	-
2	7.25 (*d*, 8.4)	127.4	CH	C-4, C-6, C-7
3	6.77 (*d*, 8.4)	115.4	CH	C-1, C-4, C-5
4	-	154.6	C	-
5	6.77 (*d*, 8.4)	115.4	CH	C-1, C-4, C-3
6	7.25 (*d*, 8.4)	127.4	CH	C-2, C-4, C-7
7	6.26 (*d*, 16.4)	125.6	CH	C-2, C-6, C-8, C-9
8	6.06 (*d*, 16.4)	136.9	CH	C-1, C-7, C-9, C-10, C-12, C-13
9	-	39.3	C	-
10	5.90 (*dd*, 17.6, 10.4)	147.1	CH	C-8, C-9, C-12, C-13
11	4.97 (*dd*, 10.8, 1.2)	110.8	CH_2	C-9, C-10
	5.01 (*dd*, 17.6, 1.2)			
12	1.20 (*s*)	27.0	CH_3	C-8, C-10, C-13
13	1.20 (*s*)	27.0	CH_3	C-8, C-10, C-12
4-OH	4.82 (*brs*)	-	-	C-3, C-4, C-5

11. ฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำสารที่แยกได้จากรากต้นสาเก รากต้นจำปาดะ และสารกลุ่ม flavanoid ที่แยกและรวบรวมได้จากหัวกระชายดำ (แสดงดัง **แผนภาพที่** 5) ส่งทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้ผลดัง **ตารางที่** 8 และ **ตารางที่** 9

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นสาเก : AD1 สารหมายเลข 1

AD2 สารหมายเลข 2

AD3 สารหมายเลข 13 และ

AD4 สารหมายเลข 14

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นจำปาดะ : AI1 สารหมายเลข 3

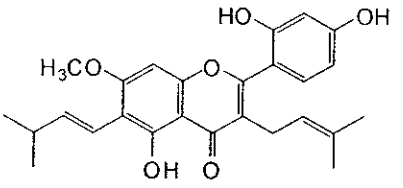
AI2 สารหมายเลข 4

AI3 สารหมายเลข 5

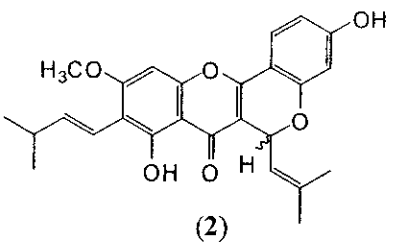
AI4 สารหมายเลข 6 และ

AI5 สารหมายเลข 15

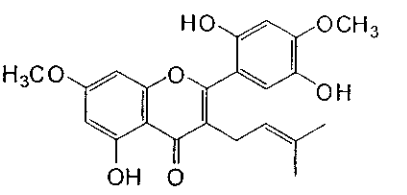
สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากหัวกระชายดำ : สารหมายเลข 7-12



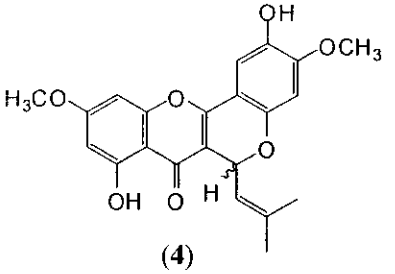
(1)
AD1



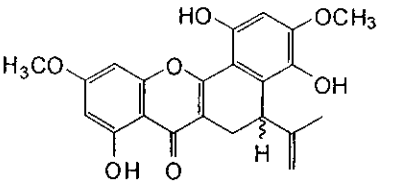
(2)
AD2



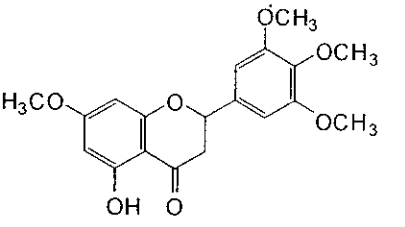
(3)
AI1



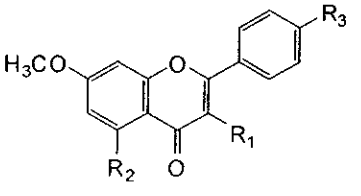
(4)
AI2



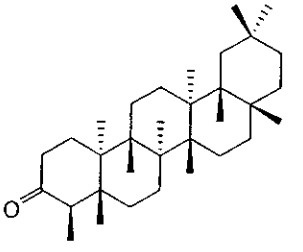
(5)
AI3



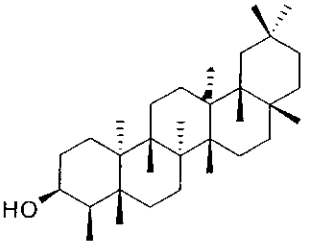
(6)
AI4



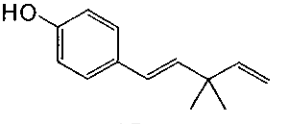
	R_1	R_2	R_3
(7)	$-OCH_3$	-OH	-H
(8)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	-H
(9)	$-OCH_3$	-OH	$-OCH_3$
(10)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	$-OCH_3$
(11)	-H	$-OCH_3$	-H
(12)	-H	$-OCH_3$	$-OCH_3$



(13)
AD3



(14)
AD4



(15)
AI5

แผนภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นสาเก รากต้นจำปาดะ และหัวกระชายดำ

ตารางที่ 8 ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity (MIC, μg/ml))

สารประกอบ	Antibacterial activity							
	Gram-positive bacteria [a]					Gram-negative bacteria [b]		
	B. substilis	*S. aureus*	*E. faecalis*	MRSA	VRE	*S. typhi*	*S. sonei*	*P. aeruginosa*
1	9.37	9.37	37.5	4.68	150	>300	>300	150
2	18.75	>150	>150	- [c]	- [c]	>150	>150	>150
3	75	75	300	4.68	75	>300	>300	300
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	37.5	300	300	75	150	>300	>300	>300
6	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
7	75	>150	>150	- [c]	- [c]	75	>150	>150
8	75	>150	>150	- [c]	- [c]	>150	>150	>150
9	9.37	75	>150	- [c]	- [c]	18.75	75	>150
10	9.37	>150	>150	- [c]	- [c]	>150	>150	>150
11	37.5	>150	>150	- [c]	- [c]	>150	>150	>150
12	>150	>150	>150	- [c]	- [c]	>150	>150	>150
15	37.5	75	>300	37.5	75	>300	>300	>300
Vancomycin	2.34	2.34	2.34	2.34	9.37	4.69	4.69	4.69

[a] *Bacillus substilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* TISTR 459, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, Vancomycin-Risistant *Enterococcus faecalis* (VRE) ATCC 51299.

[b] *Salmonella typhi*, *Shigella sonei* and *Pseudomonas aeruginosa*.

[c] Under investigation

ตารางที่ 9 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (*In vitro* cytotoxic activity)

สารประกอบ	Cell lines			
	MCF-7	HeLa	HT-29	KB
	% inhibition			
1	99.81	99.25	101.95	100.01
2	2.47	5.61	-24.62	6.16
3	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
4	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
5	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
6	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
7	54.80	35.17	47.78	34.33
8	-44.13	-0.23	-4.13	-14.98
9	-36.25	17.86	-3.26	-35.10
10	45.93	44.25	48.89	65.78
11	20.79	28.32	17.00	-63.78
12	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
15	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]

[a] = under investigation due to cancer cells death

MCF-7 = Breast cancer

HeLa = Cervical cancer

HT-29 = Colon cancer

KB = Oral cavity cancer

จากการนำสารในกลุ่ม Flavonoid ที่แยกได้ไปทดสอบการออกฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity) ทั้งที่เป็นแกรมบวก (Gram-positive bacteria: *Bacillus substilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* TISTR 459, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, Vancomycin-Risistant *Enterococcus faecalis* (VRE) ATCC 51299) และ แกรมลบ (Gram-negative bacteria: *Salmonella typhi*, *Shigella sonei* และ *Pseudomonas aeruginosa*) ผลทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดัง **ตารางที่** 8 พบว่าสาร (1) และ (3) ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเฉพาะสายพันธุ์ MRSA ได้ดี ในส่วนของสารอื่น ๆ นั้นไม่แสดงผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดใด ๆ จากรายงานนี้เห็นได้ว่า สาร (1) นั้นเป็นสารตั้งต้นหลัก (precursor) ของสาร (2) ส่วนสาร (3) นั้นเป็นสารตั้งต้นหลักของสาร (4) และ (5) จากผลการทดสอบ

ดังกล่าวสามารถสรุปได้เบื้องต้นว่าหากสารตั้งต้นหลัก (1) และ (3) ถูกเปลี่ยนไปเป็นสาร (2) (4) และ (5) นั้นจะส่งผลทำให้การออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนั้นลดน้อยลง อาจกล่าวได้ว่าเป็นผลอันเนื่องมาจากการที่จำนวนของหมู่แอลกอฮอล์ (hydroxyl group) นั้นลดลง เพราะได้มีการรายงานบ้างแล้วว่าหมู่แอลกอฮอล์ของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีผลต่อการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่วนสาร (7) - (12) นั้นที่ไม่แสดงผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเลย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุมาจากการที่หมู่แอลกอฮอล์ของสารนั้น ๆ ได้ถูกแทนที่ด้วยหมู่เมทอกซิล (methoxyl group) จึงส่งผลให้สารดังกล่าวไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นจากการวิจัยชิ้นนี้ได้ค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความจำเพาะเจาะจงเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย MRSA ได้ดีซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะแล้วในปัจจุบัน คือสาร (1) ที่แยกได้จากรากของต้นสาเก และสาร (3) ที่แยกได้จากรากของต้นจำปาดะ ดังนั้นจากการออกฤทธิ์ยับยั้งแบบที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) ต่อเชื้อ MRSA ของสาร (1) และ (3) จึงทำให้สาร (1) และ (3) ควรได้รับการพัฒนาโครงสร้าง (modified structure) ให้ออกฤทธิ์ยับยั้งที่สูงขึ้น (enhance activity) เพื่อเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียเฉพาะสายพันธุ์ MRSA ต่อไป นอกจากนี้ทางผู้วิจัยยังค้นพบสารประกอบ Artoindonesianin W (4) ซึ่งเป็นสารประกอบใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนด้วย

นอกจากนี้ยังนำสารบริสุทธิ์ที่แยกที่ได้ไปทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity) โดยทดสอบทั้งหมด 4 เซลล์ คือ มะเร็งเต้านม (MCF-7) มะเร็งปากมดลูก (HeLa) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) และ มะเร็งช่องปาก (KB) จากผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (ดัง **ตารางที่** 9) พบว่าสาร (1) ซึ่งแยกได้จากรากของต้นสาเกสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดี ส่วนในสารประกอบอื่น ๆ ไม่แสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งใด ๆ ส่วนสาร (3-6) (12) และ (15) ไม่ได้ทดสอบเนื่องมาจากเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบตายและยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญเติบโตเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ได้

12. สรุป

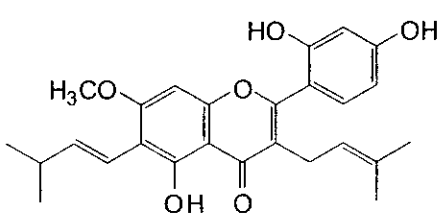
- สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากรากต้นสาเกเป็นสารประกอบประเภท Flavonoid ได้ 2 สาร คือ Artocarpin (AD1) และ Cycloartocarpin (AD2) และสารประกอบประเภท Triterpene 2 สาร คือ Friedelin (AD3) และ ของผสมระหว่าง Friedelin (AD3) กับ 3β-friedelenol (AD4) (รูปที่ 12.1)

- สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากรากต้นจำปาดะเป็นสารประกอบประเภท Flavonoid ได้จำนวน 5 สาร คือ Artoindonesianin Q (AI1), Artoindonesianin W (AI2), Artoindonesianin S (AI3), Artoflavanone (AI4), และ Cyrylifolin (AI5) (รูปที่ 12.4)

- พบสารใหม่ 1 สาร คือ Artoindonesianin W (AI2)

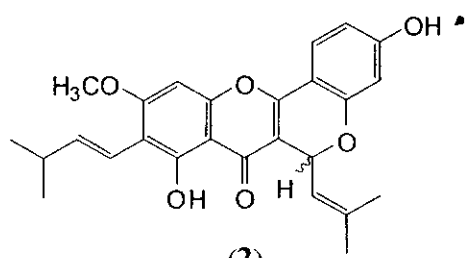
- สามารถตกผลึกและหาโครงสร้างทางรังสีเอกซ์ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นสาเก 2 สาร คือ Artocarpin (AD1) และ cocrystal ของ Friedelin (AD3) กับ 3β-friedelenol (AD4)

- ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ดัง **ตารางที่** 8 และ 9



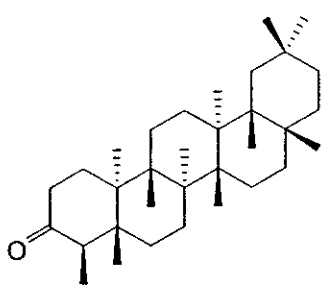
(1)

Artocarpin (AD1)



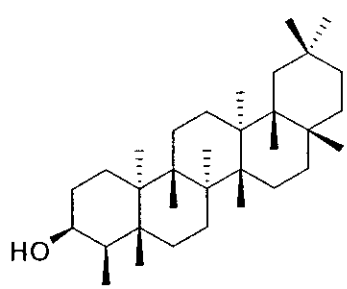
(2)

Cycloartocarpin (AD2)



(13)

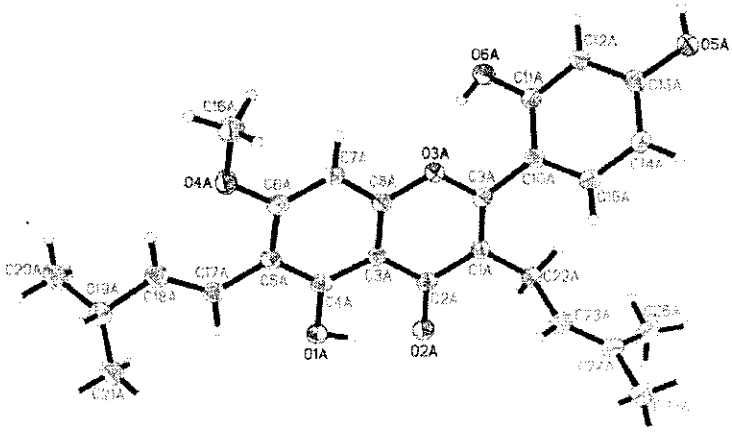
Friedelin (AD3)



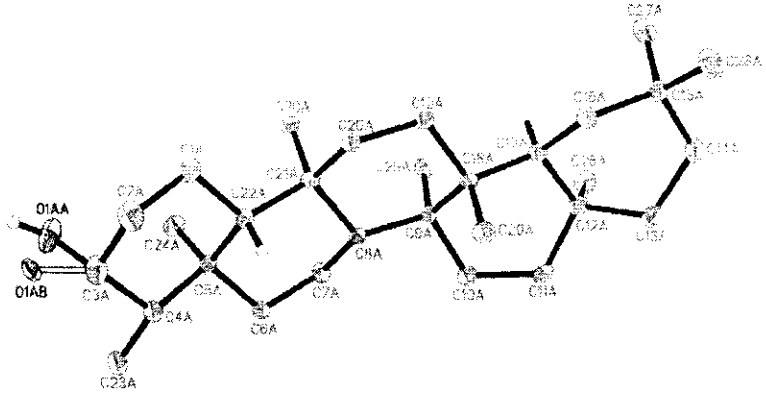
(14)

3β-friedelenol (AD4)

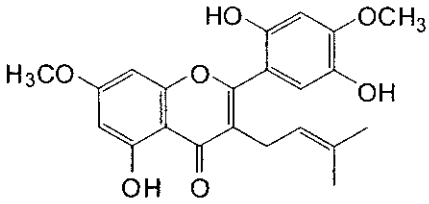
รูปที่12.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นสาเก



รูปที่ 12.2 โครงสร้างทางรังสีเอกซ์ของสารประกอบ Artocarpin (AD1)

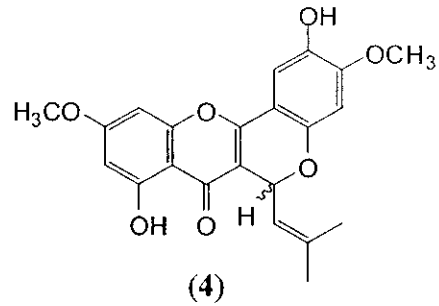


รูปที่ 12.3 โครงสร้างทางเอกรังสีเอกซ์ของ cocrystal ของ Fiedelin (AD3) และ 3β-friedelenol (AD4)



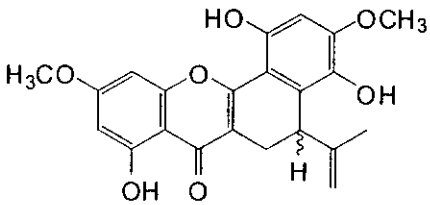
(3)

Artoindonesian Q (AI1)



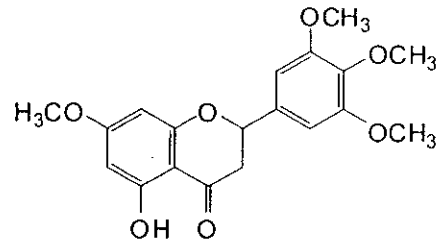
(4)

Artoindonesian W (AI2)



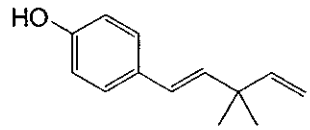
(5)

Artoindonesian S (AI3)



(6)

Artoflavonone (AI4)



(15)

Corylifolin (AI5)

รูปที่ 12.4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากต้นจำปาดะ

13. ผลงานตีพิมพ์จากงานวิจัยนี้

มีผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ (SCI journals) 2 เรื่อง และ อยู่ระหว่างการเตรียม manuscript 1 เรื่อง

1. Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Hoong-Kun Fun and Chatchanok Karalai (2007) "Artocarpin dichloromethane hemisolvate"
   Acta Cryst., E63, o1864-o1866. *(Reprint 1)*

2. Hoong-Kun Fun, Nawong Boonnak and Suchada Chantrapromma (2007)
   "A cocrystal of friedelan-3β-ol and friedelin (0.75/0.25)
   Acta Cryst., E63, o2014-o2016. *(Reprint 2)*