



Chemical Constituents from *Cratoxylum  
cochinchinense* and their  
Cytotoxic Activity

By  
Thanesuan Nuanyai

Granted By  
Rajamangala University of Technology Rattanakosin  
Fiscal year 2014

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง “สารสกัดจากตัวเกลี้ยงที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง” สำเร็จ ล่วงลงได้ด้วยความร่วมมือของบุคคลากรหลายฝ่าย ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย ดร.เบญจมาศ ไชยลาภ แห่งมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล สำหรับการทุ่มเทในการ สกัดและการแยก คุณทรงจันทร์ ภูทอง และคุณอนุมาศ บัวเขียว แห่งสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและ วิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยในการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง คุณบุญส่ง ดิษมั่งคล้อ คุณณรงค์ศักดิ์ ชุนรักษา สำหรับความช่วยเหลือ เจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยและ พัฒนาทุกๆ ท่าน เจ้าหน้าที่สำนักงานศิลปะศาสตร์ เจ้าหน้าที่การเงิน สำนักงานวิทยาเขตวังไกล กังวล ที่คอยให้คำปรึกษาชี้แนะ สุดท้ายขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ที่ให้ทุน สนับสนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557

ธเนศวร นวลไย และคณะ  
พฤศจิกายน 2557

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : A84/2557  
ชื่อโครงการ : สารสกัดจากตัวเกลี้ยงที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง  
ชื่อนักวิจัย : ดร.ธเนศวร นวลใย, ดร.เบญจมาศ ไชยลาภ, ทรงจันทร์ ภูทอง, และ อนุมาศ บัวเขียว

จากการสกัดและแยกสารจากส่วนผลของตัวเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*) ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 6 ชนิดคือ Vismiaquinone A (CF1),  $\gamma$ -tocotrienol (CF2),  $\delta$ -tocotrienol (CF3), 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4), Cochinchinone G (CF5), Cochinchinone A (CF6) จากการแยกสารบริสุทธิ์จากกิ่งของตัวเกลี้ยง ส่วนสกัดเฮกเซนสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 6 ชนิดคือ Cochinchinone A (CT1), Dulcisxanthone F (CT2),  $\beta$ -mahostin (CT3), 7-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4), 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT5) และ Dulcisxanthone B (CT6) สารบริสุทธิ์ทั้งหมดพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, HMBC) และเปรียบเทียบข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมา สารทั้งหมดได้ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งพบว่าสารกลุ่มแซนโทนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าสารกลุ่มอื่นและควมมีชีวสังผลต่อการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง สาร 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT5) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดคือ มะเร็งเต้านม (BT-474), มะเร็งปอด (CHARGO), มะเร็งตับ (HEP-G2), มะเร็งกระเพาะอาหาร (KATO-3) และ มะเร็งลำไส้ (SW-620) มากที่สุดที่ระดับ 1.05, 0.46, 0.46, 0.63 และ 3.11 g/mL ตามลำดับผล

คำสำคัญ : ตัวเกลี้ยง, เซลล์มะเร็ง

Email Address : Thanesuan.Nua@rmutr.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 ตุลาคม 2556 – 31 มีนาคม 2558

## Abstract

**Code of project** : A84/2557  
**Project name** : Chemical Constituents from *Cratoxylum cochinchinense* and their Cytotoxic Activity  
**Researcher name** : Thanesuan Nuanyai (Ph.D.), Benjamat Chailap (Ph.D.), Songchan Puthong, and Anumart Buakeaw

Six isolated compounds; Vismiaquinone A (CF1),  $\gamma$ -tocotrienol (CF2),  $\delta$ -tocotrienol (CF3), 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4), Cochinchinone G (CF5), Cochinchinone A (CF6) were isolated from ethylacetate extracts of *Cratoxylum cochinchinense*. The isolation of hexanes extract of twigs of *C. cochinchinense* to afforded six known compounds; Cochinchinone A (CT1), Dulcisxanthone F (CT2),  $\beta$ -mahostin (CT3), 7-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4), 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT5) และ Dulcisxanthone B (CT6). The structure of isolated compounds were elucidated by basic NMR spectroscopy ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, HMBC) and compared with previous literature reviews. All isolated compounds were tested for in vitro cytotoxic activity against five human cancer cell lines. The xanthone showed cytotoxicity more than other compounds and the polarity of compounds played important role in cytotoxic activity. Furthermore, 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT5) showed the most cytotoxic activity against five human cancer cell lines; breast (BT474), lung (CHAGO), liver (Hep-G2), gastric (KATO-3), and colon (SW-620) as 1.05, 0.46, 0.46, 0.63 and 3.11  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively.

**Keywords:** *Cratoxylum cochinchinense*, Cytotoxic

---

**Email Address** : Thanesuan.Nua@rmutr.ac.th

**Period of project** : 1 October 2013 – 31 March 2015

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 นิยามศัพท์	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	14
3.2 เครื่องมือและสารเคมี	14
3.3 วิธีการทดลอง	15
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	19
<b>บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล</b>	
4.1 การทดสอบตัวอย่างเบื้องต้น	20
4.2 การแยกสารบริสุทธิ์จากผลของตัวเกลี้ยง ( <i>C. cochinchinense</i> )	20
4.3 การแยกสารบริสุทธิ์จากกิ่งของตัวเกลี้ยง ( <i>C. cochinchinense</i> ) ส่วนสกัดเฮกเซน	33
4.4 การแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตัวเกลี้ยง	46

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5   สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	47
5.2 อภิปรายผล	48
5.3 ข้อเสนอแนะ	48
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก	51
ประวัติผู้วิจัย	119

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF1 และ Vismiaquinone A	22
2	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF2 และ $\gamma$ -tocotrienol	24
3	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF3 และ $\delta$ -tocotrienol	26
4	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF4 และ 7-geranyloxy-1,3-dihydroxy xanthone	28
5	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF5 และ Cochinchinone G	30
6	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CF6 และ Fuscaxanthone E	32
7	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT1 และ Cochinchinone A	35
8	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT2 และ Dulcisxanthone F	37
9	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT3 และ $\beta$ -mangostin	39
10	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT1 และ 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone	41
11	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT5 และ 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenyl xanthone	43
12	แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของ CT6 และ Dulcisxanthone B	45
13	แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตัวเกลี้ยง	46



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 1-8	11
2	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 9-11	11
3	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 12-13	12
4	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 14-16	12
5	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 17-18	12
6	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 19-21	13
7	การแยกสารบริสุทธิ์ส่วนสกัด EtOAc ของผลสดของตัวเกลี้ยง ( <i>C. cochinchinense</i> )	16
8	การแยกสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเฮกเซนส่วนกิ่งของตัวเกลี้ยง ( <i>C. cochinchinense</i> )	18
9	โครงสร้างสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเอทิลอะซีเตตจากผลของตัวเกลี้ยง	20
10	โครงสร้างทางเคมีของ CF1	21
11	โครงสร้างทางเคมีของ CF2	23
12	โครงสร้างทางเคมีของ CF3	25
13	โครงสร้างทางเคมีของ CF4	27
14	โครงสร้างทางเคมีของ CF5	29
15	โครงสร้างทางเคมีของ CF6	31
16	โครงสร้างสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเฮกเซนจากกิ่งของตัวเกลี้ยง ( <i>C. cochinchinense</i> )	33
17	โครงสร้างทางเคมีของ CT1	34
18	โครงสร้างทางเคมีของ CT2	36
19	โครงสร้างทางเคมีของ CT3	37
20	โครงสร้างทางเคมีของ CT4	40
21	โครงสร้างทางเคมีของ CT5	42
22	โครงสร้างทางเคมีของ CT6	44
23	โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลและกิ่งของตัวเกลี้ยง	47
24	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)	52
25	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)	53
26	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)	54
27	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)	55
28	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)	56
29	<sup>1</sup> H NMR spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	57
30	<sup>1</sup> H NMR spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	58
31	<sup>1</sup> H NMR spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	59
32	<sup>13</sup> C NMR spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	60

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
33	COSY spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	61
34	COSY spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	62
35	HSQC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	63
36	HSQC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	64
37	HMBC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	65
38	HMBC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	66
39	HMBC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	67
40	HMBC spectrum of $\gamma$ -tocotrienol (CF2)	68
41	$^1\text{H}$ NMR spectrum of $\delta$ -tocotrienol (CF3)	69
42	$^1\text{H}$ NMR spectrum of $\delta$ -tocotrienol (CF3)	70
43	$^1\text{H}$ NMR spectrum of $\delta$ -tocotrienol (CF3)	71
44	$^1\text{H}$ NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)	72
45	$^1\text{H}$ NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)	73
46	$^1\text{H}$ NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)	74
47	$^1\text{H}$ NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)	75
48	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Cochinchinone G (CF5)	76
49	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Cochinchinone G (CF5)	77
50	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Cochinchinone G (CF5)	78
51	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Cochinchinone G (CF5)	79
52	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	80
53	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	81
54	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	82
55	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	83
56	$^1\text{H}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	84
57	$^{13}\text{C}$ NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	85
58	COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	86
59	COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	87
60	COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	88
61	HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	89
62	HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	90
63	HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	91

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
64	HMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	92
65	HMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	93
66	HMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	94
67	HMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	95
68	HMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)	96
69	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Cochinchinone A (CT1)	97
70	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Cochinchinone A (CT1)	98
71	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Cochinchinone A (CT1)	99
72	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone F (CT2)	100
73	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone F (CT2)	101
74	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone F (CT2)	102
75	<sup>13</sup> C NMR spectrum of Dulcisxanthone F (CT2)	103
76	<sup>1</sup> H NMR spectrum of β-magostin (CT3)	104
77	<sup>1</sup> H NMR spectrum of β-magostin (CT3)	105
78	<sup>1</sup> H NMR spectrum of β-magostin (CT3)	106
79	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)	107
80	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)	108
81	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)	109
82	<sup>13</sup> C NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)	110
83	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)	111
84	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)	112
85	<sup>1</sup> H NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)	113
86	<sup>13</sup> C NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)	114
87	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone B (CT6)	115
88	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone B (CT6)	116
89	<sup>1</sup> H NMR spectrum of Dulcisxanthone B (CT6)	117
90	<sup>13</sup> C NMR spectrum of Dulcisxanthone B (CT6)	118

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันปัญหาด้านสุขภาพเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจและให้ความสำคัญเป็นอันดับแรก เนื่องด้วยสาเหตุการเสียชีวิตของมนุษย์มีมากขึ้น แม้ว่าโลกมีกระบวนการพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์ การแพทย์อย่างรวดเร็ว แต่ก็ไม่สามารถพิชิตโรคทุกชนิดได้ ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงค้นคว้าวิจัยหาวิธีการหรือตัวยาใหม่ เพื่อที่จะพร้อมรับมือกับโรคร้ายที่กำลังคุกคามสุขภาพอนามัยของมนุษย์ โรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆ ของมนุษย์ จากสาเหตุการเกิดมะเร็งยังไม่เป็นที่แน่ชัด และการตรวจพบว่าเป็นมะเร็งจะสามารถตรวจพบได้ในระยะสุดท้าย ทำให้ไม่สามารถรักษาได้ทันเวลาที่ อีกทั้งมะเร็งยังสามารถเกิดได้เกือบทุกส่วนของร่างกายทำให้วิธีที่ใช้ในการรักษาแตกต่างกันไป อาทิ เช่น การผ่าตัด การฉายรังสี หรือการใช้ยา แต่ส่วนใหญ่จะใช้การรักษาที่ผสมผสานกัน ยารักษา โรคมะเร็งมีอยู่ด้วยกันหลากหลายและยาที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันส่วนมากจะมาจากธรรมชาติ ยกตัวอย่างเช่น Taxol ซึ่งสกัดได้จากเปลือกของ *Taxus brevifolia* ใช้เป็นยารักษา มะเร็งเต้านมได้ดี ที่สุด Vinblastine ซึ่งสกัดได้จากรากของต้นแพงพวยฝรั่ง (*Catharan thusroseus*) เป็นต้น จาก ข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่ายารักษาโรคมะเร็งหลายชนิดได้มาจากธรรมชาติ ซึ่งสารที่ได้จากธรรมชาติ ส่วนมากจะมีความปลอดภัยสูงและผลข้างเคียงของการใช้ยาดังกล่าว ด้วยเหตุนี้นักวิทยาศาสตร์จึงมุ่งหวังที่จะศึกษาค้นคว้าตัวยารักษาโรคมะเร็งจากธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากมะเร็งมีการพัฒนาตัวเองทำให้เกิด การดื้อต่อการใช้ยา จึงมีความจำเป็นที่จะต้องหายาชนิดใหม่อยู่เสมอเพื่อใช้รักษาโรคมะเร็ง ตั้วเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*) เป็นพรรณไม้ในวงศ์ HYPERICACEAE ซึ่งพรรณไม้ในวงศ์นี้มี สรรพคุณทางยาต่างๆ ตามตำรายาแผนโบราณใช้ตั้วเกลี้ยงต้นและราก ผสมลำต้นกำแพงเจ็ดชั้น ต้ม น้ำดื่มแก้กระษัยเส้น เป็นยาระบายยอต่ออ่อนสามารถใช้กินเป็นผักจิ้มน้ำพริกได้ นอกจากนี้จากรายงาน การวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากตั้วเกลี้ยงสามารถแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้อยู่ในระดับ ดี ด้วยเหตุนี้ทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการแสดงความเป็นพิษ ต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตั้วเกลี้ยง เนื่องจากเป็นพรรณไม้ที่สามารถพบได้ทั่วไปบริเวณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตวังไกลกังวล ซึ่งมีสภาพภูมิประเทศเฉพาะตัวทำให้ โครงสร้างของสารเคมีที่พบน่าจะมี ความแตกต่างไปด้วย ซึ่งจะทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่าง เช่นเดียวกัน และหากสารบริสุทธิ์ที่สกัดได้แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้ดีและสามารถพัฒนา เป็นยารักษาโรคมะเร็งได้ในอนาคต ก็จะช่วยลดการนำเข้ายารักษาโรคมะเร็งจากต่างประเทศ อีกทั้ง ยังเป็นการแสดงศักยภาพสมุนไพรในตลาดต่างประเทศอีกทางหนึ่ง

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อแยกสารบริสุทธิ์จากตัวเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*)
- 1.2.2 เพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารที่แยกได้
- 1.2.3 เพื่อนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ
- 1.2.4 เพื่อเพิ่มมูลค่าและอนุรักษ์พรรณไม้ในท้องถิ่น

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 สกัดและแยกสารจากตัวเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*)
- 1.3.2 พิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี
- 1.3.3 ทดสอบการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ

## 1.4 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

1.4.1 สารสกัดหยาบ (Crude) หมายถึง สารที่ได้จากการนำตัวอย่างพืชไปแช่ในตัวทำละลาย และกรองนำส่วนที่เป็นของเหลวออกมาระเหยแห้ง

1.4.2 สารบริสุทธิ์ (Pure substance) หมายถึง สารเนื้อเดียวที่ประกอบไปด้วยสารเพียงชนิดเดียวไม่มีสารอื่นเจือปน

1.4.3 การสกัด (Extraction) หมายถึง กระบวนการแยก (separation) โดยใช้ของเหลวอีกชนิดหนึ่งเป็นตัวทำละลาย สารที่ต้องการแยกโดยให้ละลายออกมาในตัวทำละลาย

1.4.4 พิสูจน์ทราบโครงสร้าง (Structure identification) หมายถึง การนำข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารเคมี มาประมวลผลและสามารถเขียนโครงสร้างทางเคมีของสารได้

1.4.5 สเปกโทรสโกปี (Spectroscopy) หมายถึง ผลจากอันตรกิริยาของแสงกับสาร สามารถให้ข้อมูลในรูปของสเปกตรัมที่สามารถนำไปใช้ในการระบุโครงสร้างของโมเลกุลได้โดยการวัดความถี่ของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ถูกสารดูดกลืน เปล่งออกมา หรือกระเจิงออกมาเทียบเคียงรูปแบบของพลังงานจากการดูดกลืนหรือการเปล่งออกมากับรายละเอียดโครงสร้างของโมเลกุล

1.4.6 การแยกสาร (Separation) กระบวนการทำสารผสมให้บริสุทธิ์ โดยอาศัยความแตกต่างของสมบัติทั้งทางกายภาพและเคมีมาใช้เป็นเกณฑ์ในการแยกสารผสม เช่น การกรอง การกลั่น การระเหย การตกตะกอน การตกผลึก การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นต้น

1.4.7 โครมาโทกราฟี (Chromatography) หมายถึง เทคนิคการแยกสารผสมโดยอาศัยหลักการละลายของสารในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ โดยสารที่ต้องการนำมาแยกโดยวิธีนี้จะมีสมบัติการละลายในตัวทำละลายได้ไม่เท่ากัน และตัวถูกดูดซับโดยตัวดูดซับได้ไม่เท่ากัน ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน

1.4.8 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin-Layer Chromatography) หมายถึง การแยกของผสมโดยอาศัยการที่ต่างกันของเฟสคงที่โดยเฟสคงที่เป็นของแข็ง เฟสคงที่ที่นิยมใช้คือ silica gel ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ) และ alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ในขณะที่เฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นของเหลวจะพาสารให้เคลื่อนที่ เนื่องจากสารที่มีโครงสร้างต่างกันจะได้รับแรงดึงดูดและแรงผลักต่างกัน ดังนั้นสารแต่ละ

ชนิดจึงเคลื่อนที่ในอัตราที่แตกต่างกัน สารที่ถูกดูดซับได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับน้อย จึงทำให้เกิดการแยกของสารขึ้นเป็นแถบๆ

1.4.9 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column Chromatography) หมายถึง เทคนิคการแยกสารผสม โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่และถูกดูดซับที่ต่างกัน อลูมินาหรือซิลิกาเจลถูกบรรจุในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลว ลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นผู้พาไป สารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้สารผสมแยกจากกันได้

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 พบสารใหม่หรือสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา และทางการแพทย์

1.5.2 เพิ่มมูลค่าพรรณไม้ในท้องถิ่นให้สามารถใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยา

1.5.3 สามารถตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 ฉบับ หรือวารสารระดับชาติอย่างน้อย 1 ฉบับ

1.5.4 ได้ผลงานวิจัยที่สามารถนำไปเสนอในที่ประชุมวิชาการทั้งระดับชาติ/นานาชาติ

## บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันวิทยาการทางการแพทย์ได้มีพัฒนาอย่างรวดเร็วเพื่อที่จะให้พร้อมรับกับภาวะการณ์การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศของโลกที่ส่งผลให้โรคมะเร็งมีการพัฒนาที่มีความรุนแรงมากขึ้น หนึ่งในโรคที่ทำให้พลเมืองเสียชีวิตมากที่สุดคือโรคมะเร็ง ปัจจุบันมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับ 1 ของโลก ในปี 2551 องค์การอนามัยโลกรายงานทั่วโลกมีผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับการตรวจวินิจฉัย 12.7 ล้านราย ในจำนวนนี้เสียชีวิต 7.6 ล้านราย หรือร้อยละ 13 ของจำนวนผู้เสียชีวิตทั้งหมด ส่วนในปี 2573 หรืออีก 17 ปีข้างหน้า คาดการณ์ว่า จะมีผู้ป่วยใหม่ 21.3 ล้านคน และจะมีผู้เสียชีวิตเพิ่มเป็น 13 ล้านคน สำหรับประเทศไทย โรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับ 1 ติดต่อกันหลายสิบปี ล่าสุด ในปี 2554 มีผู้เสียชีวิต 61,082 ราย เฉลี่ยชั่วโมงละเกือบ 7 ราย เป็นชาย 35,437 ราย และหญิง 25,645 ราย องค์การอนามัยโลกคาดมีผู้ป่วยรายใหม่เพิ่มขึ้นปีละประมาณ 118,600 ราย และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ มะเร็งที่ผู้ชายป่วยมากที่สุดได้แก่ มะเร็งตับ ปอด ลำไส้และทวารหนัก ต่อมลูกหมาก และมะเร็งเม็ดเลือดขาว ส่วนในผู้หญิง ได้แก่ มะเร็งเต้านม ตับ ปากมดลูก ปอด ลำไส้ใหญ่และทวารหนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น<sup>[1]</sup>

โรคมะเร็ง คือ โรคที่มีความผิดปกติของเซลล์ในอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเซลล์ ก่อให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็งที่มีการเจริญเติบโตโดยไม่อยู่ภายใต้การควบคุมที่เหมาะสม ทำให้เกิดเป็นก้อนเนื้อรบกวนการทำงานของเซลล์ปกติในอวัยวะ นอกจากนี้ยังสามารถลุกลามแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น เซลล์ที่มีพฤติกรรมเช่นนี้คือเซลล์มะเร็ง มะเร็งมีความแตกต่างกันอยู่กับตำแหน่งของอวัยวะที่เป็นจุดกำเนิด และชนิดของเนื้อเยื่อที่อยู่ภายในอวัยวะนั้นๆ เซลล์ปกติอาจมีการเจริญเติบโตโดยการแบ่งตัวและตายอย่างเป็นระบบ และมีการควบคุมที่เหมาะสม ทำให้อวัยวะและร่างกายมนุษย์ทำงานได้เป็นปกติ เซลล์แต่ละชนิดในอวัยวะที่ต่างกันอาจมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกันได้ตามความเหมาะสมของหน้าที่ของแต่ละอวัยวะที่เซลล์จะทำงานอย่างเป็นปกติ ส่วนหนึ่งเกิดจากการกำหนดหน้าที่ของเซลล์ด้วยสารพันธุกรรมที่เรียกว่าดีเอ็นเอ (DNA) ภายในเซลล์ หากเกิดการเปลี่ยนแปลงข้อมูลของ DNA เซลล์นั้นอาจมีความผิดปกติในการแบ่งตัวเจริญเติบโต ถ้ามีการสะสมความเปลี่ยนแปลงมากพอ เซลล์จะกลายเป็นเซลล์ก่อกำเนิดมะเร็ง และพัฒนาจนกลายเป็นเนื้อเยื่อมะเร็งในที่สุด

การเปลี่ยนแปลงของ DNA หรือการกลายพันธุ์ อาจเกิดจากการที่เซลล์ได้รับสารกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น สารเคมีบางอย่าง ควันบุหรี่ เชื้อไวรัสบางชนิด ในเซลล์ปกติจะมีกลไกการควบคุมการกลายพันธุ์โดยการซ่อมแซมสาย DNA หรือทำให้เซลล์ที่มี DNA ผิดปกติตายไป แต่เซลล์ที่จะกำเนิดเป็นเซลล์มะเร็งจะเล็ดลอดกระบวนการตรวจสอบนี้ได้

หลังจากที่วินิจฉัยมะเร็ง (Diagnosis) แล้วต้องมีการตรวจเพิ่มเติม เพื่อทราบระยะของการดำเนินโรค (Staging) เพื่อกำหนดเป้าหมายในการรักษาและวางแผนการรักษาต่อไปคนไข้ควรมีความเข้าใจในเป้าหมายของการรักษามะเร็ง เนื่องจากหากพบว่า ผู้ป่วย เป็นมะเร็งระยะแรก (Early Stage) หมายถึง มะเร็งอยู่เฉพาะที่ (Localized Disease) เป้าหมายการรักษาของมะเร็งระยะแรกเพื่อหายขาด แต่ในกรณีที่มะเร็งลุกลามมาก ไม่สามารถรักษาด้วยการผ่าตัด (Inoperable) ได้ หรือมีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นแล้ว (Advanced Stage) ส่วนใหญ่เป้าหมายของการรักษามะเร็งระยะลุกลาม จะเป็นการรักษาเพื่อควบคุม ยับยั้ง ลดจำนวนมะเร็ง ทำให้ผู้ป่วยสามารถดำเนินชีวิตได้อย่างยืนยาวและมีคุณภาพชีวิตที่ดี อย่างไรก็ตาม ยังมีมะเร็งหลายชนิดที่รักษาหายขาดได้ ทั้งนี้ มะเร็งนั้นได้มีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะต่างๆ แล้ว ซึ่งจะเห็นได้ว่าการวินิจฉัยมะเร็งที่ถูกต้องและการตรวจเพิ่มเติมอย่างเหมาะสม มีความสำคัญต่อผู้ป่วยเป็นอย่างมาก เพื่อให้การรักษาเป็นไปตามเป้าหมายจึงจำเป็นต้องอาศัยแพทย์หลายสาขา หรือสหสาขา (Multidisciplinary Approach) พิจารณาแนวทางการรักษาร่วมกัน ดังนั้นในการรักษาโรคมะเร็งจึงมีความแตกต่างและความเหมาะสมในการรักษาแต่ละบุคคล อันเป็นประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วย

การผ่าตัดเป็นวิธีการรักษามะเร็งเฉพาะที่ การรักษามะเร็งระยะแรกส่วนใหญ่มักต้องมีการผ่าตัดเพื่อหายขาด เช่น มะเร็งศีรษะและคอ เต้านม ปอด มะเร็งในช่องท้อง เช่น มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น ปัจจุบันการผ่าตัดมีความก้าวหน้ามาก ศัลยแพทย์มีการฝึกอบรมเฉพาะทางด้านมะเร็งมากขึ้น ในหลายอวัยวะสามารถผ่าตัดโดยไม่ทำให้เสียรูปทรง และหลีกเลี่ยงการสูญเสียอวัยวะนั้น เช่น มะเร็งเต้านม มีการผ่าตัดเฉพาะก้อน (Lumpectomy) หลังจากการผ่าตัดแล้วผู้ป่วยบางรายต้องได้รับการรักษาเสริม (Adjuvant therapy) เช่น เคมีบำบัด และหรือ รังสีรักษาตามแต่ละระยะของมะเร็ง ในผู้ป่วยบางรายไม่สามารถผ่าตัดได้ทันที เนื่องจากก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่หรือหากต้องการรักษาเพื่อเก็บอวัยวะนั้นไว้ แพทย์อาจวางแผนให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด หรือการฉายรังสีเพื่อให้อ่อนมะเร็งเล็กน้อยก่อน (Neoadjuvant Therapy)

การรักษาด้วยรังสีบำบัด หรือเรียกตามความเข้าใจทั่วไปว่า การฉายแสง เป็นการรักษาเฉพาะที่เฉพาะตำแหน่งที่วางแผนไว้ การฉายแสงเป็นการรักษามะเร็งโดยใช้รังสีขนาดสูง (High Dose of Radiation) จากแหล่งกำเนิดรังสี โดยที่แหล่งกำเนิดรังสีจากเครื่องกำเนิดรังสี (External Radiotherapy) ให้รังสีตามตำแหน่งที่แพทย์ต้องการควบคุมมะเร็ง การฉายแสงนี้ รังสีจะผ่านผิวหนังไปยังตำแหน่งที่ต้องการ ทำให้เกิดผลข้างเคียงได้ แพทย์รังสีรักษาเป็นผู้วางแผนการให้ปริมาณรังสีให้มีผลต่ออวัยวะข้างเคียงน้อยที่สุด เพราะสามารถกำหนดความลึกและบริเวณที่ต้องการได้ บางกรณีแพทย์อาจใช้รังสีรักษาโดยสอดใส่แหล่งกำเนิดรังสีไปในตำแหน่งใกล้กับก้อนมะเร็งโดยตรง (Brachytherapy) ได้ เช่น ในมะเร็งปากมดลูก เป็นต้น

การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด เป็นการรักษาด้วยสารเคมีที่มีผลทำลายเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติ โดยที่กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดนั้นเป็นการขัดขวางการแบ่งเซลล์ ทำให้มีผลต่อเซลล์มะเร็งที่มีการแบ่งตัวเร็วกว่าเซลล์ปกติ การรักษาด้วยเคมีบำบัดได้ผ่านการวิจัยในมนุษย์มาจนเป็นที่แน่ใจในประสิทธิภาพและความปลอดภัย ในอดีตการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดนั้นมีผลข้างเคียงมาก เนื่องจากความรู้เรื่องยาเคมีบำบัดมีไม่มาก และไม่มียารักษาอาการข้างเคียงของยาที่มีประสิทธิภาพ เช่น ยาแก้อาเจียน ในปัจจุบันความรู้เรื่องยาเคมีบำบัดมีมากขึ้น และยาตามอาการมี



ประสิทธิภาพดีขึ้น แต่กระนั้นก็ตาม ผู้ป่วยที่ได้รับเคมีบำบัด ก็ยังมีอาการข้างเคียงมาก ทั้งนี้อาจมีหลายปัจจัยด้วยกัน กล่าวคือ อาจเป็นเพราะแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านการใช้เคมีบำบัดมีน้อย ไม่มีการใช้ยาตามอาการตามความเหมาะสม ผู้ป่วยไม่ได้รับคำแนะนำเรื่องการรักษา การปฏิบัติตัวหลังได้รับเคมีบำบัด มีภาวะทางจิตใจ เช่นความวิตกกังวล ความกลัว นอนไม่หลับ ร่วมด้วย ทั้งนี้ ในการวิจัยยาเคมีบำบัดในปัจจุบันไม่เพียงมุ่งเน้นการรักษามะเร็งเพียงอย่างเดียว ยังคำนึงถึงคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเป็นสำคัญด้วย

การใช้เคมีบำบัดควบคุม ยับยั้งมะเร็งที่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ มีจุดประสงค์สำคัญเพื่อให้ผู้ป่วยมีชีวิตยืนยาวและมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการวิจัยทางการแพทย์ หากผู้ป่วยอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการใช้ยาเคมีบำบัด การรักษาอาจสามารถช่วยผู้ป่วยได้ตามหลักฐานการวิจัย ดังนั้นการเลือกผู้ป่วยมีความสำคัญมาก เนื่องจากหากสภาพผู้ป่วยไม่เหมาะสมต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดแล้ว จะเกิดผลข้างเคียงมากและเป็นอันตรายได้ การรักษาในแต่ละบุคคลมีเหตุผลของการใช้ยาเคมีแตกต่างกัน โรคมะเร็งแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อยาแต่ละตัวไม่เหมือนกัน ยาที่แต่ละคนได้รับจึงไม่เหมือนกันในมะเร็งชนิดที่ต่างกัน ท่านอาจสงสัยว่าทำไมบางคนได้ยาเคมีที่มีผลเคียงเรื่องผมร่วงน้อย ในขณะที่บางคนผมร่วงหมดศีรษะ บางคนได้ยาเคมีที่มีมูลค่าสูงมาก แต่อีกคนอาจได้ยาเคมีถูกมาก ซึ่งการได้ยาที่แพงกว่าไม่ได้หมายความว่า ยานั้นจะมีประสิทธิภาพที่ดีกว่ายาเคมีที่ถูกกว่าเสมอไป มะเร็งบางชนิด ถ้าใช้ยาเคมีที่ราคาถูกก็อาจมีประสิทธิภาพที่ไม่ต่างจากยาที่แพง และยังคงเป็นมาตรฐานการรักษาเช่นกัน<sup>[2]</sup>

ยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งมีอยู่ด้วยกันหลากหลายกลุ่มตั้งแต่ ยาเคมีบำบัด ยาคีโม ที่มาจากคำว่า chemotherapy รวมไปถึงชื่อเรียกสั้นๆว่า ยามะเร็ง จุดมุ่งหมายในการใช้มีหลายประการด้วยกัน เช่น การให้ยาก่อนการผ่าตัดเพื่อลดขนาดก้อนมะเร็ง หรือการให้ยาหลังการผ่าตัดเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ยังให้ยาเพื่อรักษามะเร็งโดยตรง ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มตามเป้าหมายของยาในการออกฤทธิ์ได้ 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มที่มีผลต่อดีเอ็นเอ (DNA) ทำให้สายดีเอ็นเอไม่พร้อมสำหรับการจำลองตัวเอง (DNA replication) จึงไม่มีสารพันธุกรรมสำหรับการแบ่งเซลล์ขั้นต่อไป ได้แก่ cyclophosphamide, ifosfamide, mitomycin, cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, bleomycin, topotecan, irinotecan, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, etoposide และ teniposide เป็นต้น

2. กลุ่มที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ (Metabolite) ทำให้ไม่มีสารที่จำเป็นต่อการอยู่รอดของเซลล์ เป็นผลลัพธ์ให้เซลล์ตาย ได้แก่ methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, fludarabine, cladribine, clofarabine, pentostatin, 5-fluorourasil, floxuridine, tegafur, capecitabine, cytarabine, ancitabine, gemcitabine, azacitidine และ decitabine เป็นต้น

3. กลุ่มที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ สปินเดิล (Spindle) และทิวบูลิน (tubulin) ขัดขวางการทำงานในกระบวนการแบ่งเซลล์ ผลลัพธ์คือ ทำให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนต่อไปได้ ได้แก่ vincristine, vinblastine, vinorelbine, paclitaxel และ docetaxel เป็นต้น

4. กลุ่มที่มีผลต่อตัวรับของเซลล์ (cell receptor), ตัวส่งสัญญาณของเซลล์ (cell signaling) และกระบวนการส่งสัญญาณ (signaling transduction) ขัดขวางการส่งสัญญาณที่จะทำ

ให้เซลล์เติบโตจนผิดปกติ โดยยาในกลุ่มนี้จัดเป็นยาในกลุ่มที่ออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อเป้าหมาย (molecular targeted therapy) เนื่องจากมีความสามารถในการเลือกจับ (selectivity) ต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ร่างกายปกติ ทำให้เกิดอาการข้างเคียงน้อยกว่ายาในกลุ่มที่กล่าวไปก่อนหน้านี้ นั่นเอง ได้แก่ trastuzumab, cetuximab, panitumumab, imatinib, gefinitib, sorafenib, erlotinib, sunitinib, dasatinib และ lapatinib เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมียาต้านมะเร็งกลุ่มอื่นๆ อีก เช่น ยาต้านมะเร็งที่ออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับฮอร์โมน (hormone) เนื่องจากมะเร็งบางชนิดมีความไวต่อฮอร์โมนแตกต่างกัน เช่น มะเร็งเต้านมที่ไวต่อเอสโตรเจน (estrogen) หรือ มะเร็งต่อมลูกหมากที่ไวต่อเทสโทสเตอโรน (testosterone) เป็นต้น ยาที่ใช้จึงเป็นยาที่มุ่งหวังไม่ให้ฮอร์โมนดังกล่าวกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง หรือ ลดการสร้างฮอร์โมนนั้นๆ ในร่างกาย บางตำรับอาจจัดยาในกลุ่มนี้ไว้กับยาในกลุ่มตัวรับของเซลล์ (cell receptor), ตัวส่งสัญญาณของเซลล์ (cell signaling) และกระบวนการส่งสัญญาณ (signaling transduction) ก็ได้ ได้แก่ raloxifene, tamoxifen, anastrozole, letrozole, flutamide และ bicalutamide เป็นต้น

ยาต้านมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากจุดมุ่งหมายในการใช้ยาต้านมะเร็งตามที่ได้กล่าวไปในข้างต้นนั้น ยังมีการใช้ยาเพื่อป้องกันการกลับเป็นซ้ำของมะเร็ง เช่น การใช้ Interferon alpha ในการป้องกันการกลับเป็นซ้ำภายหลังการเป็น มะเร็งของเซลล์เม็ดสี (malignant melanoma) เป็นต้น รวมไปถึงการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็ง เช่น วัคซีนป้องกันมะเร็งปากมดลูก (human papillomavirus vaccine)

เมื่อยาเข้าสู่ร่างกาย ทั้งเซลล์ร่างกายปกติและเซลล์มะเร็งย่อมได้รับผลกระทบจากยาทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เซลล์ที่มีการเจริญเติบโต ผลัดเซลล์ มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เช่น เซลล์เยื่อต่างๆ เซลล์เม็ดเลือด เซลล์เส้นผม ทำให้เซลล์เสียสภาพและตาย เกิดเป็นอาการข้างเคียงต่างๆ ดังนี้ คลื่นไส้ อาเจียน พบแผลในปาก เนื่องจากเซลล์เยื่อต่างๆ ถูกทำลาย เกิดสภาวะซีด เนื่องจากเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์เป็นเม็ดเลือดแดงถูกทำลายติดเชื้อง่าย เพราะภูมิคุ้มกันลดลง เนื่องจากเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์เป็นเม็ดเลือดขาวถูกทำลาย ผอมร่าง เนื่องจากเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์เป็นเส้นผมถูกทำลาย

ในส่วนของยาที่กระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น วัคซีน อาจทำให้ก่อให้เกิด ไข้ อย่างไรก็ดีตามส่วนใหญ่แล้ว ภายหลังการรักษา หรือ หยุดใช้ยา ร่างกายจะปรับตัว ทำให้อาการข้างเคียงต่างๆ ดีขึ้นตามลำดับ เช่น คลื่นไส้ อาเจียนลดลง ผมงอกขึ้นใหม่ เป็นต้น ปัจจุบันมียาต้านมะเร็งกลุ่มใหม่ๆ ที่ออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อเป้าหมาย รวมทั้งแนวทางการให้ยาป้องกันการข้างเคียงในบางกรณีที่มีประสิทธิภาพ เช่น การให้ยาต้านอาเจียนก่อนการให้ยาต้านมะเร็ง เป็นต้น จึงทำให้เกิดอาการข้างเคียงต่างๆ ลดลง โดยแพทย์จะเป็นผู้ตัดสินใจการเลือกใช้ยาต้านมะเร็งและแนวทางการป้องกันการข้างเคียงจากยาต้านมะเร็ง<sup>[3]</sup>

จากผลกระทบจากการใช้ยารักษาโรคมะเร็งดังกล่าวทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามที่จะค้นหาตัวยาใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็ง หนึ่งในนั้นคือยาที่ได้มาจากธรรมชาติหรือสมุนไพร ทั้งจากพืชและสัตว์ สมุนไพร สามารถรักษามะเร็งได้จริงหรือไม่ เป็นคำถามที่มักจะถูกถามซึ่ง ในความเป็นจริงนั้น ยารักษามะเร็งหลายชนิด มีต้นตอของสารสำคัญมาจากสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาเคมีบำบัด หรือ คีโมที่เรารู้จักกัน เช่น ยา vincristine และ vinblastine เป็นยาที่มีสารตั้งต้นจากต้น

แพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus*) มีการใช้ในการรักษามะเร็งหลายชนิด โดยเฉพาะมะเร็งต่อมน้ำเหลือง, ยา Taxol มีสารตั้งต้นจากเปลือกของต้น *Taxus cuspidata* ซึ่งใช้รักษามะเร็งเต้านม, ยา topotecan และ irinotecan มีสารตั้งต้นจากต้น *Camptotheca acuminata* ซึ่งใช้รักษามะเร็งรังไข่และมะเร็งลำไส้ ฯลฯ ข้อแตกต่างของสมุนไพร ในความเข้าใจของคนทั่วไป กับยาเคมีบำบัดที่สกัดจากสมุนไพร ก็คือ สมุนไพร ที่ใช้กันทั่วไปไม่ว่าจะเป็นสมุนไพรเชิงเดี่ยวหรือสมุนไพรหลายตัวที่อยู่ในตำรับยา จะมีส่วนประกอบทางเคมีของสารหลายอย่างที่ไม่สามารถบอกได้ว่า สารตัวใดที่มีผลต่อมะเร็งโดยตรงและอยู่ในความเข้มข้นที่ไม่มีตัวคุม ทำให้ไม่ทราบประสิทธิภาพหรือพิษที่ชัดเจน ขณะที่สมุนไพรที่ได้รับการพัฒนาจนเป็นยา จะรู้ส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ที่ชัดเจน อีกทั้งทราบถึงขนาดของยาที่อาจเป็นอันตรายและทราบประสิทธิภาพของยา ซึ่งได้ผ่านการศึกษามาตามขั้นตอนทั้งในระดับหลอดทดลอง สัตว์ทดลองและในคน จึงทำให้ทราบถึงวิธีการใช้และข้อบ่งชี้อย่างชัดเจน<sup>[4]</sup>

ขั้นตอนการพัฒนาการรักษาโรครักษาใหม่ในแต่ละชนิดจะมีขั้นตอนต่างๆ ซึ่งต้องใช้เวลาในการวิจัยวิจัยเพื่อที่จะให้เกิดความมั่นใจว่ายาที่คิดค้นขึ้นมา นั้นมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้จริง และมีผลข้างเคียงอย่างไรบ้าง ในขั้นตอนที่ 1 จะเป็นขั้นตอนในการค้นพบสารที่มีสรรพคุณในการรักษาโรค สารที่ค้นพบใหม่นี้ อาจจะได้มาจากธรรมชาติ เช่น พืช สัตว์ เชื้อรา หรือจุลชีพ หรืออาจจะได้มาจากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ แต่ยาบางชนิดก็ได้มีการนำสารที่ได้จากธรรมชาติมาดัดแปลงโครงสร้างโดยกระบวนการทางเคมีเพื่อที่จะปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพที่มากขึ้น ในขั้นตอนนี้ นักเคมีจะทำการคัดกรองสารประกอบจำนวนนับหมื่นชนิดและจะมีสารเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่จะผ่านเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการวิจัยและพัฒนาการรักษาโรคราค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงต้องมั่นใจว่าตัวยาที่คิดค้นขึ้นมา มีโอกาสที่จะพัฒนาเป็นตัวยาค่าได้จริง ขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนในการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่ใช้สัตว์ทดลอง ขั้นตอนนี้ อาจใช้เวลา 3-6 ปีเป็นอย่างน้อย ในขั้นตอนนี้ผู้เกี่ยวข้องจะเป็นนักพิษวิทยา สัตวแพทย์ นักวิทยาศาสตร์เชิงวิเคราะห์ ฯลฯ ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้เป็นขั้นตอนที่ต้องการผลการทดลองที่คงที่ จึงต้องมีการทำการทดลองซ้ำหลายรอบ อีกทั้งยังหาปริมาณที่เหมาะสมของตัวยาแต่ละชนิดว่าระดับใดที่ใช้แล้วปลอดภัยเพื่อที่จะสามารถนำไปใช้จริงในมนุษย์ในขั้นตอนต่อไป ขั้นตอนที่ 3 เป็นขั้นตอนที่ถือว่าสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นขั้นตอนที่จะนำตัวยาที่ผ่านการทดลองมาใช้จริงในมนุษย์ ขั้นตอนการวิจัยทางคลินิกจะต้องใช้แพทย์ผู้เชี่ยวชาญและพยาบาลเจ้าหน้าที่จัดเก็บข้อมูลและดำเนินการ รวมทั้งผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัครอีกกว่า 5,000 ราย ใช้เวลาในการทดสอบอย่างน้อย 6 ปี เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถรักษาอาการเหล่านั้นได้จริง และมีผลกระทบบหรือผลข้างเคียงจากการใช้ยาหรือไม่ และขั้นที่ 4 เป็นขั้นตอนสุดท้าย คือการอนุมัติการรักษาโรค ภายหลังจากที่ตำรับยาผ่านการอนุมัติ การศึกษาระยะยาวและการเฝ้าระวังยังคงดำเนินต่อไปไม่สิ้นสุดน ขั้นตอนนี้มีผู้เกี่ยวข้องได้แก่ นักระบาดวิทยา นักวิทยาศาสตร์ แพทย์ผู้เชี่ยวชาญ พยาบาล และผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัครอีกนับพัน

จะเห็นได้ว่าขั้นตอนการคัดกรองสารเป็นขั้นตอนที่สำคัญเนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด พิษถือเป็นทรัพยากรแหล่งสำคัญสำหรับสารเคมีต่างๆ ชนิด วิธีการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากส่วนต่างๆ ของพืชถือเป็นขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการวิจัย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

สำหรับภูมิปัญญาไทยมีการใช้สมุนไพรรักษาโรคมะเร็งมานานแล้วตามตำราและคัมภีร์ด้านการแพทย์แผนไทยได้ระบุเกี่ยวกับโรคมะเร็งซึ่งมีความหมายต่างจากโรคมะเร็งในทางการแพทย์แผนปัจจุบัน ทางกรมการแพทย์แผนไทยได้มีการระบุเกี่ยวกับมะเร็งไว้หลายกรณี เช่น มะเร็งไร ผู้ป่วยมีตุ่มคล้ายหิดตามผิวหนัง คันมาก มะเร็งนาคราช ผู้ป่วยจะมีฝีขนาดเท่าเมล็ดถั่วขึ้นตามนิ้วมือมีไข้ ปวดศีรษะ หลังจากนั้นตุ่มฝีจะเป็นสีดำถ้าเป็นมากแขนดำมือดำมะเร็งตะมอย ผู้ป่วยมีฝีขนาดโตเท่าหัวแม่มือผุดขึ้นตามตัวหรือตามแขนขา จะทำให้มีไข้สูง ถ้าเม็ดฝีมีโคนสีขาวหัวสีดำจะมีอาการรุนแรงมาก หากเม็ดฝีแตกรักษาไม่หายกลายเป็นมะเร็ง ศึกษาได้ในคัมภีร์ตักสิลามะเร็งปากหนูผู้ป่วยจะมีฝีขึ้นที่บริเวณหลังข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้ง 2 ข้าง ฝีมียอดสีคราม เรียกฝีมะเร็งปากหนูหรือฝีมะเร็งปากหนู ฝีมะเร็งทรวง ผู้ป่วยจะมีต่อมกลัดหนองเกิดขึ้นบริเวณทรวงอก เมื่อเริ่มเป็นจะมีอาการท้องเสีย เป็นมูกเลือดเป็น ๆ หาย ๆ แนนหน้าอก ปวดบริเวณผิวหนัง วิงเวียน ไอ หอบ ชูบผอม ไม่มีเรี่ยวแรง ครั้นเนื้อครั้นตัว เมื่อยตามข้อกระดูกทั่วร่างกายจากข้อมูลดังกล่าวยังมีการกล่าวถึงมะเร็งในชื่อต่าง ๆ มีลักษณะที่เป็นแผลเรื้อรัง เป็นตุ่ม เป็นหนอง เป็นฝีในลักษณะต่าง ๆ รวมทั้งมีอาการชูบผอมไม่มีเรี่ยวแรง จากการระบุดังกล่าว อาจไม่ใช่โรคมะเร็งที่หมายถึงมะเร็งที่เป็นเนื้อร้าย เพราะไม่ได้ตรวจวินิจฉัยโดยการตรวจชิ้นเนื้อดูลักษณะเซลล์ ดังนั้นมะเร็งในความหมายของแพทย์แผนไทยอาจจะไม่ได้หมายถึงเซลล์มะเร็งที่มีความหมายเหมือนในปัจจุบัน แต่พบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งที่หมดหวังทางการแพทย์รักษา เช่น มะเร็งระยะสุดท้าย หรือหลังจากผ่าตัดแล้ว หันมาสนใจเกี่ยวกับการใช้ยาไทยและสมุนไพรเป็นจำนวนมาก บางรายใช้เพื่อยืดชีวิต ลดอาการปวด เจริญอาหาร บางรายมุ่งหวังเพื่อรักษาให้หายขาด หลายรายบอกว่า กินแล้วดี กินอาหารได้ นอนหลับมีคุณภาพชีวิตที่ดี แต่ผู้ป่วยจำนวนมากที่ไม่เห็นผลในการรักษาที่ดี เช่น กินยาสมุนไพรแล้วอาการแย่ง ทั้งนี้มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมาย เช่น ระยะความรุนแรงของโรค สภาพจิตใจ ตำแหน่งของการเป็นมะเร็ง ถ้าเป็นมะเร็งที่ตับ ปอด สมอ อาการอาจจะลุกลามเร็วและมักเสียชีวิต อย่างไรก็ตาม การนำสมุนไพรหรือยาไทยมาใช้ต้องมีความรู้ความเข้าใจเป็นอย่างดี เพราะปัจจุบันยังขาดผลการวิจัยทางคลินิก เพื่อยืนยันประสิทธิผลของการใช้ยาไทยและสมุนไพร มีเพียงผลการวิจัยฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง และการวิจัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยส่วนใหญ่จะเป็นการวิจัยสมุนไพรเดี่ยว เช่น ขมิ้นชัน พลุควา (ผักควาตอง) ปัญจขันธ์ มะแว้งต้น มะระ ทองพันชั่ง เป็นต้น

ส่วนตำรายาไทยที่มีการวิจัยฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ ซึ่งเป็นยาไทยในบัญชียาหลักแห่งชาติและเป็นยาปรับสมดุลธาตุ 2 ตำรับ มีรายละเอียดดังนี้

1. ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร (ยาห้าราก) ประกอบด้วยรากของสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ชิงชี ย่านาง คนทา เท้ายายม่อม และมะเดื่อชุมพร ตามตำรายาไทยเป็นยาที่มีสรรพคุณในการลดไข้
2. ตำรับเบญจกุล ประกอบด้วยสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ผลติป्ली รากข้าวพุลู เกาสะค่าน รากเจตมูลเพลิงแดง และเหง้าชิง ตามตำรายาไทยเป็นยาปรับสมดุลร่างกาย

จากข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เบื้องต้นจะเห็นว่าตำรายาไทยที่มีการใช้มาเป็นเวลานาน เมื่อทำการทดสอบทางวิทยาศาสตร์แล้วพบผลที่น่าสนใจ ซึ่งทั้งนี้ควรมีการวิจัยต่อยอด อย่างน้อยเราก็รู้แล้วว่าพืชสมุนไพรเหล่านี้ส่วนใหญ่ปลูกได้ในประเทศ เช่น ย่านาง ข้าวพุลูชิง ติป्ली เรามักนำมาปรุงเป็นอาหารได้หลากหลาย และมีความปลอดภัยสูง ผู้ที่ขอรับประทานอาหารไทยไม่ว่าแกงหน่อไม้ เมี่ยงคำ ผัดขิง แกงป่า ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรดังกล่าวก็มั่นใจว่าเราได้ประโยชน์ทางตรงคืออิมมูร่อย

ได้เกลือแร่ วิตามิน จากพืชผัก และเรายังได้ประโยชน์ทางอ้อมคือได้สารต้านเซลล์มะเร็งจากสมุนไพรอีกด้วย

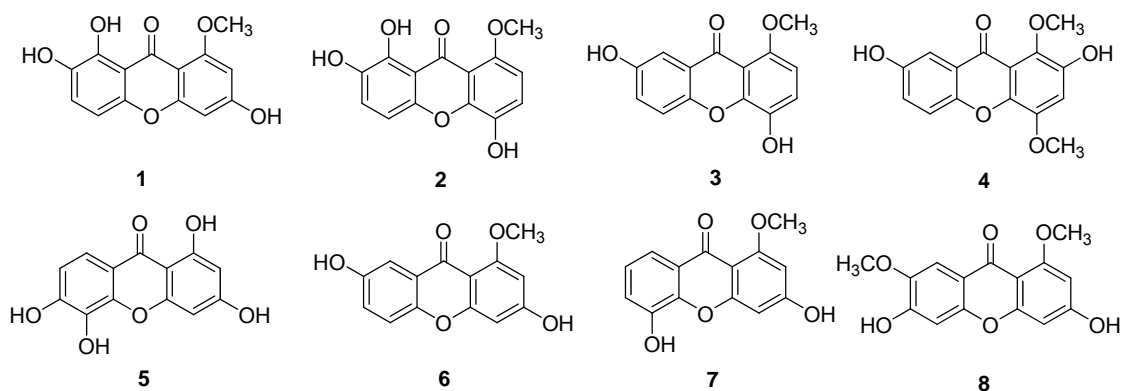
ด้วยเหตุผลดังกล่าวสมุนไพรไทยจึงเป็นสิ่งที่น่าจับตามองและควรจะมีการพัฒนาให้เป็นที่ยอมรับในระดับนานาชาติ โดยกระบวนการค้นคว้าวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อเพิ่มมูลค่า พัฒนาศักยภาพและเพิ่มโอกาสในการแข่งขันในระดับโลกของสมุนไพรไทย ตัวเกลี้ยงเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้เป็นยาต่างๆ ยาพื้นบ้านอีสานใช้ ต้นหรือราก ผสมลำต้นกำแพงเจ็ดชั้น ต้มน้ำดื่ม แก้กษัยเส้น เป็นยาระบาย เปลือกต้น ใช้ทำสีย้อม ใบอ่อนและยอดอ่อนมีรสเปรี้ยวค่อนข้างฝาด รับประทานเป็นผักสด ไม้ ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการอยู่ไฟ ตำรายาไทย เปลือกต้น ใช้รักษาอาการเสียดท้อง หรืออาการเกี่ยวกับลำไส้ น้ำยางจากเปลือก ที่เปลี่ยนเป็นสีแดง ใช้รักษาโรคหิด ชาวมาเลเซีย ใช้ เปลือก และใบ ผสมกับน้ำมันมะพร้าวช่วยบำรุงผิว

ตัวเกลี้ยงเป็นไม้ผลัดใบ สูง 8 -15(-30) ม. ลำต้นค่อนข้างเปลาตรง เรือนยอดเป็นรูปกรวยคว่ำกิ่งอ่อนเกลี้ยงและปลายกิ่งมักกลายสภาพเป็นหนามแข็งอยู่ตามลำต้นและกิ่งใหญ่ เปลือกนอกสีเทาเรียบหรือแตกเป็นร่องและเป็นสะเก็ดไปตามยาวของลำต้น เปลือกในสีเหลืองอ่อน จะมีน้ำยางเหนียวๆสีเหลืองอมแดงซึมออกมาเมื่อถูกตัด ทรงใบรูปรีหรือรูปหอกกว้าง 2 -3.5 ซม. ยาว 4.5 -10 ซม. โคนและปลายใบสอบ บางที่ปลายใบมน ส่วนโคนใบสอบเรียวเนื้อใบบาง เกลี้ยงและมีต่อมใสๆ กระจายทั่วไป เส้นแขนงใบ มี 8 -10 คู่ ปลายเส้นจะโค้งจรดกับเส้นถัดขึ้นไปก่อนถึงขอบใบ เส้นใบย่อยแบบเส้นร่างแหจะเห็นชัดทางด้านหลังใบ ส่วนทางท้องใบมักมีสีจางนวลๆใบบอ่อนจะออกสีชมพูเรื่อๆใบแก่ เมื่อแก่จัดก่อนผลัดใบจะมีสีแดงหรือสีแดงอิฐขอบใบเรียบ ก้านใบค่อนข้างสั้น ยาวไม่เกิน 5 มม. ออกดอกตามง่ามใบเหนือรอยแผลใบและตามปลายกิ่ง ทั้งกลีบรองกลีบดอกและกลีบดอกมีอย่างละ 5 กลีบ แต่ละกลีบเป็นอิสระแก่กัน เกสรเพศผู้มีมากและรวมกันเป็นกลุ่มสามกลุ่มรังไข่รูปรีเกลี้ยงๆ ภายในแบ่งเป็น 3 ช่องแต่ละช่องมีไข่อ่อนมาก หลอดรังไข่มีสามหลอดดอกสีส้มหรือแดงเข้มแกมขาวมีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ผลเกลี้ยงเป็นมัน พอแก่จะแตกออกเป็น 3 เสี่ยงเมล็ดรูปขอบขนานเล็กๆ มีปีกรูปมนบางๆ ทางด้านบนหนึ่งปีกกลีบขั้วจุดผลจะหุ้มติดผลประมาณ 2/3 ของความยาวผลผลแก่สีน้ำตาลดำ เมล็ดจำนวนมากตัวเกลี้ยงมีการกระจายพันธุ์ในที่โล่งแจ้งทั่วทุกภาคของประเทศ ที่ความสูงตั้งแต่ระดับทะเลปานกลางถึง 1,200 ม. ในต่างประเทศพบที่พม่าจีน ฮองกงเกาะไหหลำภูมิภาคอินโดจีน และภูมิภาคมาเลเซียออกดอกและผลตลอดทั้งปี ในตำรายาแผนโบราณใช้ รากหรือลำต้น แก้กษัยเส้นและเป็นยาระบาย ใบและยอดอ่อน เป็นยาระบายอ่อนๆ รับประทานเป็นผัก จากข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมามีพบว่าสารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากตัวเกลี้ยงมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น การต้านเชื้อแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ การแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เป็นต้น ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของตัวเกลี้ยงเพื่อที่จะพัฒนาสมุนไพรไทยให้ได้รับการยอมรับในระดับสากลด้วยกระบวนการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

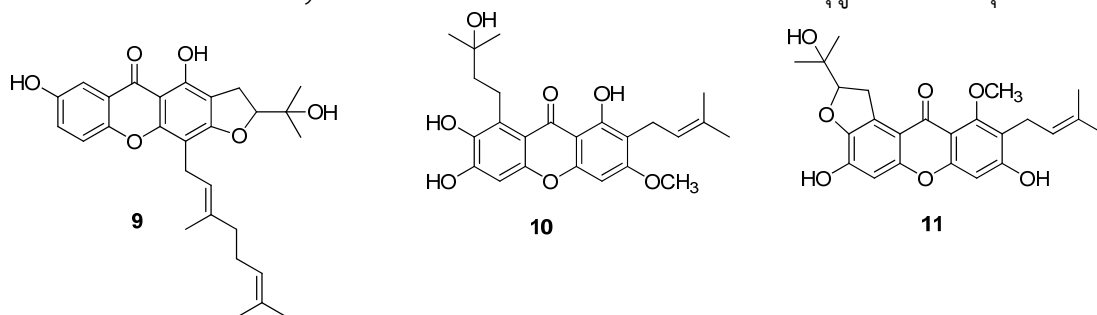
ในปี 2012 Duan และคณะ<sup>[5]</sup> ศึกษาสารกลุ่ม xanthone จากกิ่งของตัวเกลี้ยง จากการศึกษาพบสาร xanthone ชนิดใหม่ 4 ชนิดคือ 1-methoxy-3,7,8-trihydroxyxanthone (1), 1-methoxy-4,7,8-trihydroxyxanthone (2), 1-methoxy-4,7-dihydroxyxanthone (3), และ 1,4-

dimethoxy-2,7-dihydroxyxanthone (4) รวมทั้งสารที่เคยมีรายงานมาก่อนแล้วอีก 4 ชนิดคือ 5-8 แต่คณะผู้วิจัยไม่ได้นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ



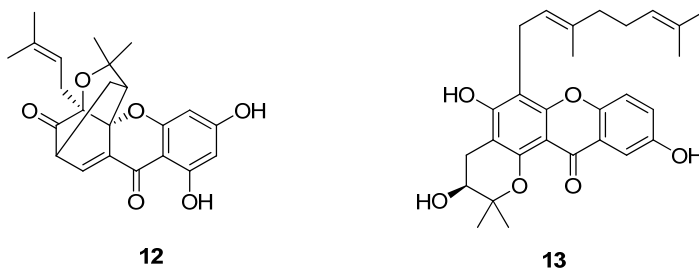
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 1-8

ในปี 2012 Udom chotphruet และคณะ<sup>[6]</sup> ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของตัวเกลี้ยง พบสารกลุ่ม xanthone ชนิดใหม่สามชนิดคือ cratoxylumanthones B-D (9-11) และสารที่เคยมีรายงานมาก่อนแล้วอีกห้าชนิดจากการนำสารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่แยกได้ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH assay พบว่า cochinxanthone D แสดงการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด



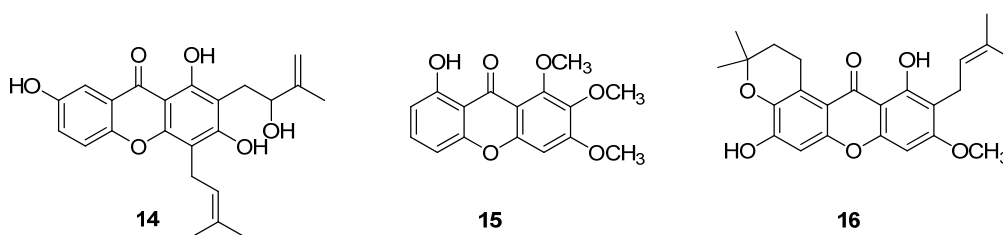
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 9-11

ในปี 2011 Ren และคณะ<sup>[7]</sup> ศึกษาการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและการยับยั้งเอนไซม์ NF- $\kappa$ B ของสารสกัดจากกิ่งของตัวเกลี้ยงรวมถึงสารที่ได้มีการดัดแปลงโครงสร้างโดยกระบวนการทางเคมี จากการศึกษาพบสารที่ยังไม่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้สองชนิดคือ 12-13 และสารที่เคยมีรายงานแล้วอีก 7 ชนิด คณะผู้ทำวิจัยได้นำสารที่แยกได้มาปรับปรุงโครงสร้างด้วยกระบวนการทางเคมีอีก 12 ชนิดและนำสารทั้งหมดทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ชนิด HT-29 พบว่าสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากที่สุดคือ 3,6-di-O-acetyl- $\alpha$ -mangostin ที่ระดับ ED<sub>50</sub> เท่ากับ 1.0  $\mu$ M



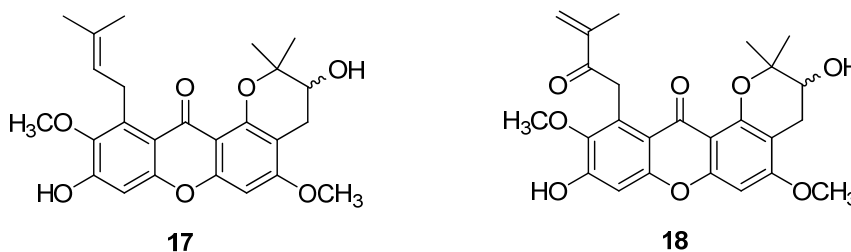
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 12-13

ในปี 2011 Nguyen และคณะ<sup>[8]</sup> ศึกษาสารกลุ่ม xanthone จากกิ่งของต้นกล้วย พบสารชนิดใหม่ 3 ชนิดคือ 1,3,7-trihydroxy-2-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl)-4-(3-methylbut-2-enyl)-xanthone (14), 8-hydroxy-1,2,3-trimethoxyxanthone (15), และ 3-O-methylmangostenone D (16) และสารที่เคยมีรายงานมาก่อนแล้วอีก 7 ชนิด



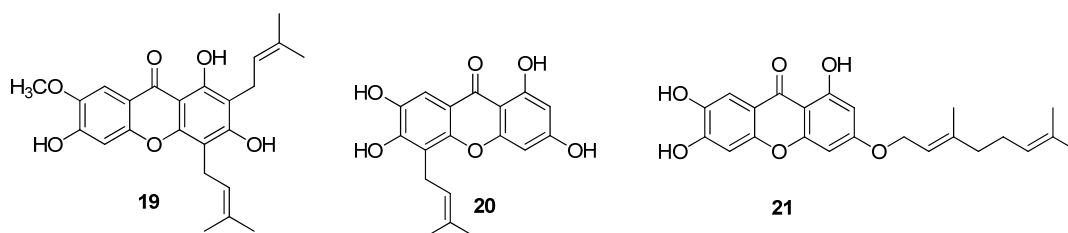
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 14-16

ในปี 2009 Jin และคณะ<sup>[9]</sup> ศึกษาสารกลุ่ม xanthone จากลำต้นของต้นกล้วย พบสารชนิดใหม่สองชนิดคือ 6-hydroxy-3,7-dimethoxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-6',6'-dimethyl-5'-hydroxy-4',5'-dihydropyrano(2',3':1,2)xanthone (17) และ 6-hydroxy-3,7-dimethoxy-8-(2-oxo-3-methylbut-3-enyl)-6',6'-dimethyl-5'-hydroxy-4',5'-dihydropyrano(2',3':1,2)-xanthone (18) แต่คณะผู้ทำการวิจัยไม่ได้ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 17-18

ในปี 2008 Mahabusarakam และคณะ<sup>[10]</sup> ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของตัวเกลี้ยง คณะผู้วิจัยได้ใช้ส่วนต่างๆ คือ ราก ผล และกิ่งทำการสกัด ได้สารชนิดใหม่ 3 ชนิดคือ cochinchinones E-G (**19-21**) และสารที่เคยมีรายงานมาแล้วอีก 10 ชนิด จากการนำสารทั้งหมดทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ พบว่าสารทั้งหมดออกฤทธิ์ปานกลาง



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 19-21

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของตัวเกลี้ยง มีความหลากหลาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งสถานที่ปลูก สภาพภูมิอากาศ ล้วนแต่เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความหลากหลายทั้งสิ้น เขตอำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงเนื่องด้วยมีลักษณะภูมิประเทศติดทะเล ทำให้ปริมาณแร่ธาตุในดินมีความจำเพาะเจาะจง และจากการสำรวจพรรณไม้ในพื้นที่พบว่ามีตัวเกลี้ยงขึ้นอยู่เป็นจำนวนมาก จึงควรมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวเกลี้ยงที่ขึ้นอยู่ในบริเวณเขตอำเภอหัวหิน และนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทดสอบการแสดงความความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพื่อที่พัฒนาเป็นทางเลือกในการนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทดสอบในขั้นสูงในอนาคตต่อไป



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างของตัวเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*) ส่วนต้น ใบ และผล เก็บที่บริเวณ  
หลังมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล (เขต 4) ที่พิกัด ละติจูด  $12^{\circ}28'39.599$  ลองจิจูด  $99^{\circ}57'34.200$  ได้ทำการเปรียบเทียบและพิสูจน์พันธุ์ไม้เปรียบเทียบกับสำนัก  
หอพรรณไม้ กรมป่าไม้ ตัวอย่างพืชอัดแห้งได้ทำการเก็บรักษาที่หมวดวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวลตัวอย่าง No. Plant-001  
ตัวอย่างเก็บในเดือนตุลาคม 2556 ส่วนลำต้นและกิ่งสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ และตากแห้ง (Air dried)  
ส่วนใบตากแห้ง (Air dried) และส่วนผลใช้ผลสด

#### 3.2 เครื่องมือและสารเคมี

- 3.2.1 Column OD 30 mm length 40 cm
- 3.2.2 Column OD 15 mm length 40 cm
- 3.2.3 NMR sample tube 5 ml
- 3.2.4 TLC Aluminum sheet
- 3.2.5 Silica gel for packed column No. 107734
- 3.2.6 Silica gel for packed column No. 109385
- 3.2.7 Column OD 30 mm length 40 cm
- 3.2.8 Ethyl acetate (EtOAc)
- 3.2.9 Methanol (MeOH)
- 3.2.10 Acetone
- 3.2.11 Dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )
- 3.2.12 Hexanes
- 3.2.13 Deuterated Chloroform ( $\text{CDCl}_3$ )
- 3.2.14 NMR 400 MHz Bruker Avance 400
- 3.2.15 Column OD 30 mm length 40 cm
- 3.2.16 HRESIMS Bruker micrOTOF
- 3.2.17 CARY 50 Probe UV-visible spectrophotometer
- 3.2.18 Perkin-Elmer 1760X FTIR
- 3.2.19 Perkin-Elmer 341 polarimeter at 589 nm
- 3.2.20 Fisher-Johns melting point apparatus

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การทดสอบตัวอย่างเบื้องต้น

นำตัวอย่างส่วนต่างๆ ของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*) อันได้แก่ ใบ ลำต้นและผล จำนวน 100 กรัมมาแช่ด้วยตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 200 mL เป็นเวลา 3 วัน ระบายตัวทำละลายออกโดยใช้เทคนิคการลดความดัน นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดด้วย EtOAc และน้ำ เก็บส่วนสกัด EtOAc ไว้และระบายตัวทำละลายด้วยเทคนิคการลดความดัน นำส่วนสกัดมาหาค่าประกอบโดยใช้เทคนิค Thin-Layer Chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมต่างๆ และใช้  $CeSO_4/(NH_4)_6Mo_7O_{24}$  ใน 5%  $H_2SO_4$  เป็นสารย้อมสี นับจำนวนจุดบนแผ่น TLC

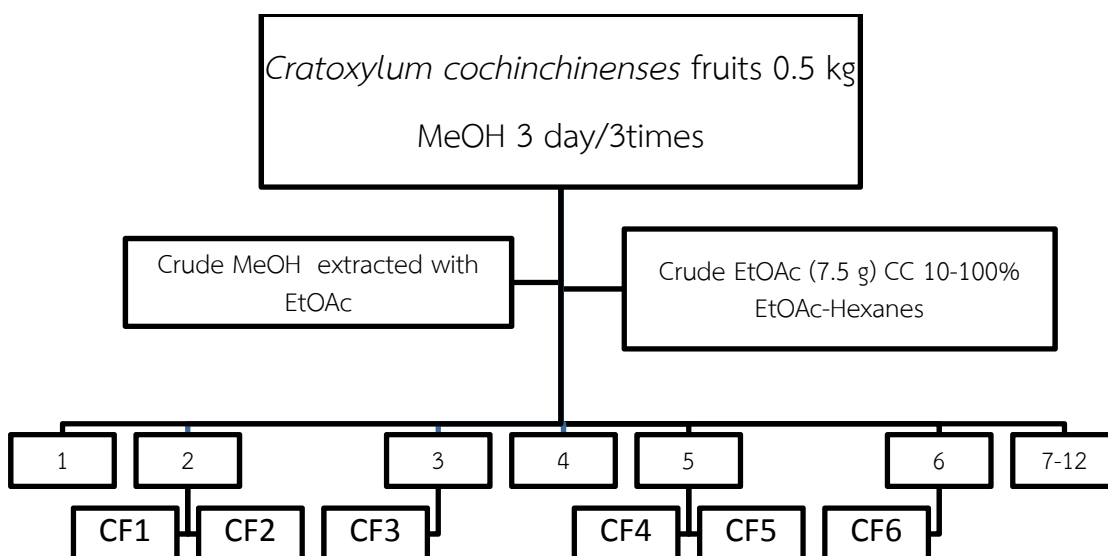
#### 3.3.2 การสกัดผลสดของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

นำผลสดของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*) จำนวน 500 กรัม มาบดด้วยเครื่องบดเอนกประสงค์ นำตัวเกลี้ยงที่บดแล้วแช่ด้วยตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 2.0 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน กรองนำส่วนสารละลายออกและแช่ด้วย MeOH อีก 2 ครั้ง นำสารละลาย MeOH ที่สกัดได้มารวมกันและระบายตัวทำละลายออกโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบ (crude) ในส่วน MeOH นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดด้วยตัวทำละลาย EtOAc และน้ำ ปริมาตรอย่างละ 200 mL จำนวน 3 ครั้ง นำส่วนสกัด EtOAc ทั้งหมดรวมกันและระเหยแห้งโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้ส่วนสกัดหยาบ EtOAc จำนวน 7.15 กรัม

#### 3.3.3 การแยกสารจากส่วนสกัดหยาบ EtOAc ของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

นำส่วนสกัดหยาบ EtOAc ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่าง  $CH_2Cl_2/MeOH$  และคลุกกับ silica gel จนแห้ง บรรจุ silica gel ที่ผสมตัวทำละลาย Hexane จนอิมตัวลงใน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 mm ความยาว 40 cm และอัดให้อุณหภูมิ silica gel แน่น เท silica gel ที่คลุกสารสกัดหยาบ EtOAc ไว้ลงบน silica gel ที่อิมตัวด้วย Hexane และเพิ่มความมีขี้ของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-100% EtOAc/Hexanes และ 0-20% MeOH/EtOAc ใช้เทคนิค TLC ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเพื่อรวมส่วนสกัดย่อยที่เหมือนกัน ได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 11 ส่วนสกัดย่อย (F1-F10) นำส่วนสกัดย่อย F2 (500 mg) ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขี้ของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-20% Acetone/Hexanes นำสารบริสุทธิ์ที่ได้จากการแยกตรวจสอบโครงสร้างโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด คือ Vismiaquinone A (CF1) และ  $\gamma$ -tocotrienol (CF2) จำนวน 50 mg และ 125 mg ตามลำดับ ในส่วนสกัดย่อยที่ F3 สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 1 ชนิดคือ  $\delta$ -tocotrienol (CF3) โดยนำส่วนสกัดย่อย F3 จำนวน 440 mg แยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขี้ของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-20% Acetone/Hexanes ได้ส่วนสกัดย่อย 6 ส่วนสกัดย่อย (F3.1-F3.6) นำส่วนสกัดย่อย F3.6 จำนวน 11 mg แยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขี้ของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 0-50%  $CH_2Cl_2/Hexanes$  ได้สารบริสุทธิ์  $\delta$ -tocotrienol (CF3) จำนวน 5 mg ส่วนสกัดย่อย F5 (1.15 g) เมื่อทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวชะ  $CH_2Cl_2/Hexanes/MeOH$  (80:20:0.5) สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 2 ชนิดคือ คือ 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4),

Cochinchinone G (CF5) จำนวน 450 mg และ 35 mg ตามลำดับ นำส่วนสกัดย่อย F6 จำนวน 380 mg แยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขี้ของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexanes}$  ได้ส่วนสกัดย่อย 3 ส่วนสกัดย่อย (F6.1-F6.3) นำส่วนสกัดย่อย F6.3 จำนวน 120 mg แยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวชะคือ 80%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexanes}$  ได้สารบริสุทธิ์ Cochinchinone A (CF6) จำนวน 15 mg สำหรับส่วนสกัดย่อยอื่นๆ ไม่สามารถแยกสารให้บริสุทธิ์ได้เนื่องจากสารสกัดมีปริมาณที่น้อย การแยกสารโดยสรุปแสดงในภาพที่ 1 สารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่แยกได้ตรวจสอบวิเคราะห์โครงสร้างทั้งหมดโดยใช้เทคนิค นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) 400 MHz Bruker Avance 400 สารบริสุทธิ์ CF1-5 ละลายโดยใช้ตัวทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  สำหรับ CF6 ละลายโดยใช้  $\text{DMSO}-d_6$



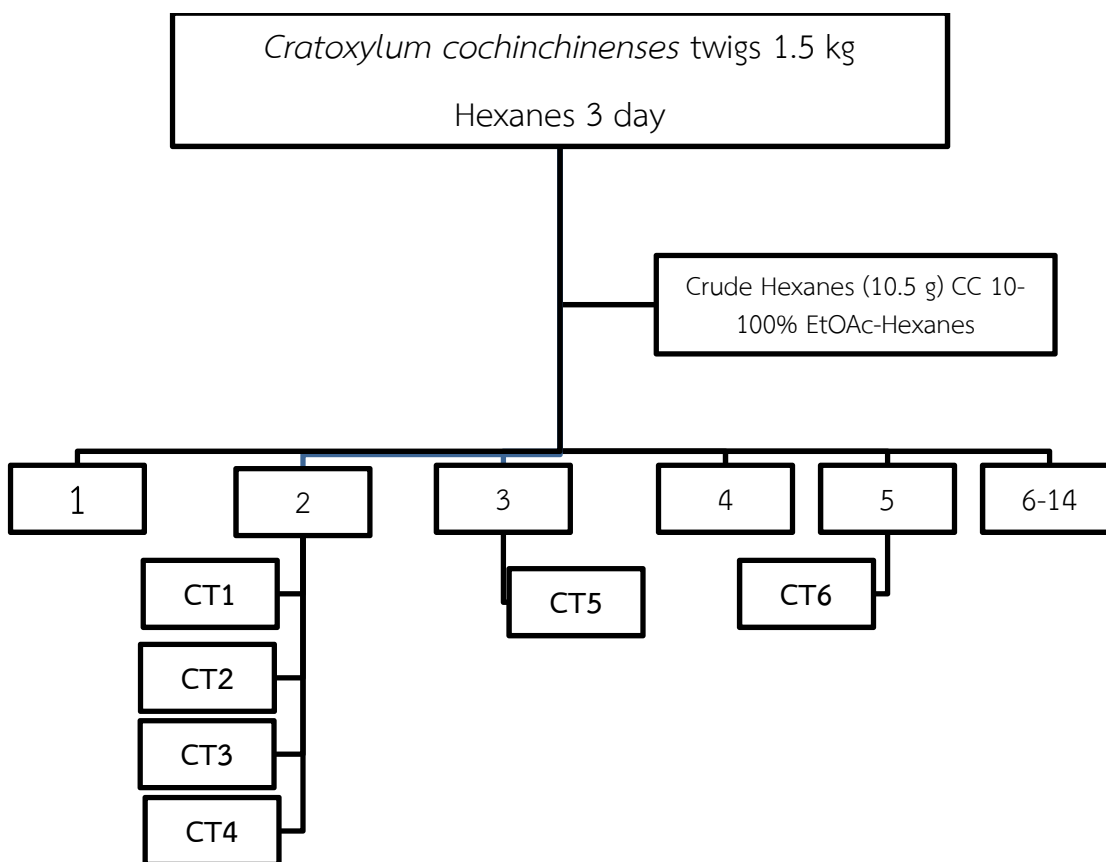
ภาพที่ 7 การแยกสารบริสุทธิ์ส่วนสกัด EtOAc ของผลสดของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

### 3.3.4 การสกัดกึ่งของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

นำกิ่งของตัวเกลี้ยงจำนวน 1.5 กิโลกรัม ตากแห้งและบดด้วยเครื่องบดเอนกประสงค์ นำตัวเกลี้ยงที่บดแล้วแช่ตัวทำละลาย Hexanes ปริมาตร 10.0 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน กรองนำส่วนสารละลายออกกระเหยสารละลายเฮกเซนโดยเทคนิคการลดความดัน ได้สารสกัดส่วนเฮกเซนจำนวน 10.5 กรัม นำกากของตัวเกลี้ยงที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซนแล้วแช่ในตัวทำละลาย MeOH อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 10.0 ลิตร นำสารละลาย MeOH ที่สกัดได้มารวมกันและระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบ (crude) ในส่วน MeOH นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดด้วยตัวทำละลาย EtOAc และน้ำ ปริมาตรอย่างละ 500 mL จำนวน 3 ครั้ง นำส่วนสกัด EtOAc ทั้งหมดรวมกันและระเหยแห้งโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้ส่วนสกัดหยาบ EtOAc จำนวน 4.5 กรัม

### 3.3.5 การแยกสารจากส่วนสกัดหยาบเฮกเซนส่วนกิ่งของตัวกล้วย

นำส่วนสกัดหยาบเฮกเซนจำนวน 10.5 กรัมละลายในตัวทำละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  และคลุกกับ silica gel จนแห้ง บรรจุ silica gel ที่ผสมตัวทำละลาย Hexane จนอิ่มตัวลงใน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 mm ความยาว 40 cm และอัดให้อนุภาค silica gel แน่น เท silica gel ที่คลุกสารสกัดหยาบ EtOAc ไว้ลงบน silica gel ที่อิ่มตัวด้วย Hexane และเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-100% EtOAc/Hexanes ใช้เทคนิค TLC ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเพื่อรวมส่วนสกัดย่อยที่เหมือนกัน ได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 14 ส่วนสกัดย่อย (TH1-TH14) นำส่วนสกัดย่อย TH2 (2.0 กรัม) ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-30% EtOAc/Hexanes ได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 11 ส่วนสกัดย่อย (TH2.1-2.11) ส่วนสกัดย่อยที่ TH2.6 จำนวน 110 mg เมื่อทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวชะคือ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Hexanes/MeOH (80:20:0.1) พบสารบริสุทธิ์จำนวน 1 ชนิดคือ Dulcisxanthone F (CT2) ส่วนสกัดย่อยที่ TH2.7 ตกผลึกในสารละลายเมื่อกรองและทำให้แห้งพบว่าเป็นสาร Cochinchinone A (CT1) จำนวน 140 mg นำสารสกัดส่วนสกัดย่อยที่ TH2.7 ที่เหลือจำนวน 850 mg ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวชะ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Hexanes/MeOH (80:20:0.1) สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 2 ชนิด คือ  $\beta$ -mangostin (CT3) และ 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4) จำนวน 110 mg และ 120 mg ตามลำดับ ในส่วนสกัดย่อยที่ TH3 สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 1 ชนิดคือ 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isoprenylxanthone (CT5) จำนวน 55 mg โดยนำส่วนสกัดย่อย TH3 จำนวน 550 mg แยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีและเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 10-20% Acetone/Hexanes ส่วนสกัดย่อยที่ TH5 ตกผลึกในสารละลายเมื่อกรองและทำให้แห้งพบว่าเป็นสาร Dulcisxanthone B (CT6) จำนวน 45 mg สำหรับส่วนสกัดย่อยอื่นๆ ไม่สามารถแยกสารให้บริสุทธิ์ได้เนื่องจากสารสกัดมีปริมาณที่น้อย การแยกสารโดยสรุปแสดงในภาพที่ 8 สารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่แยกได้ตรวจสอบวิเคราะห์โครงสร้างทั้งหมดโดยใช้เทคนิค นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) 400 MHz Bruker Avance 400 สารบริสุทธิ์ CT1-5 ละลายโดยใช้ตัวทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  สำหรับ CT6 ละลายโดยใช้  $\text{DMSO}-d_6$



ภาพที่ 8 การแยกสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเฮกเซนส่วนกิ่งของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

### 3.3.6 การสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งโดยเทคนิค MTT assay

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจะทดสอบที่สถาบันสถาบันเทคโนโลยีชีวและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สารบริสุทธิ์ทั้งหมดจะทดสอบกับเซลล์มะเร็งมนุษย์ทั้งหมด 5 ชนิดคือ มะเร็งตับ (HEP-G2) มะเร็งลำไส้ (SW-620) มะเร็งปอด (CHARGO) มะเร็งกระเพาะอาหาร (KATO-3) และมะเร็งเต้านม (BT-474) เตรียมเซลล์ที่ต้องการทดสอบลงใน tissue culture plate 96 หลุม หลุมละ  $5 \times 10^3$  เซลล์ เลี้ยงเซลล์ไว้ในที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO<sub>2</sub> นาน 24 ชั่วโมง เติมสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวเกลี้ยงที่ละลายในตัวทำละลาย DMSO ในความเข้มข้นต่างๆ ป่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO<sub>2</sub> นาน 72 ชั่วโมง โดยใช้ตัวควบคุมเป็น DMSO ที่ไม่มีสารสกัดจากตัวเกลี้ยง เมื่อครบ 72 เติม MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltrazolumbromide) เข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม ป่มทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง ดูค่าการเลี้ยงเซลล์ที่เติม DMSO ปริมาตรหลุมละ 150 ไมโครลิตร เขย่าเพลดนาน 5 นาที เติม 0.1 M glycine pH 10.5 ปริมาตร 25 ไมโครลิตรต่อหลุม เขย่าเพลดแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

### 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้หาค่ามวลโมเลกุลที่เหมาะสม และตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) 400 MHz Bruker Avance 400 โดยใช้ตัวทำละลายที่ปราศจากไฮโดรเจนเป็นตัวทำละลาย วิเคราะห์ผลโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, และ HMBC เปรียบเทียบข้อมูลทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้กับฐานข้อมูลงานวิจัย (Scifinder)

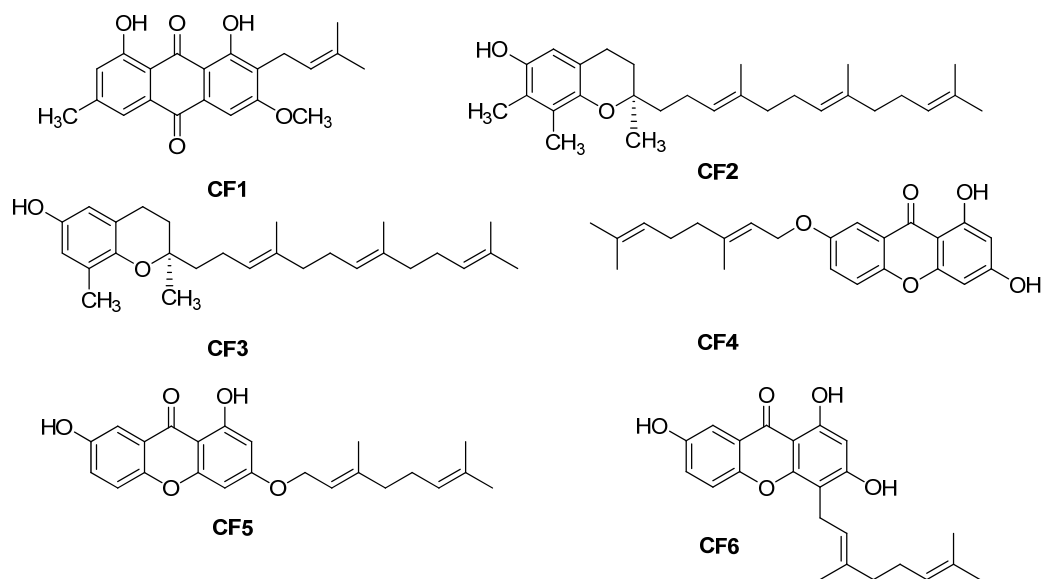
## บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

### 4.1 การทดสอบตัวอย่างเบื้องต้น

จากการนำตัวอย่างส่วนต่างๆ ของตัวเกลี้ยง อันได้แก่ ใบ ลำต้นและผล จำนวน 100 กรัมมา แห้งด้วยตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 200 mL เป็นเวลา 3 วัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เทคนิค การลดความดัน นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดด้วย EtOAc และน้ำ เก็บส่วนสกัด EtOAc ไว้และ ระเหยตัวทำละลายด้วยเทคนิคการลดความดัน นำส่วนสกัดมาหาค่าประกอบโดยใช้เทคนิค Thin-Layer Chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมต่างๆ และใช้  $\text{CeSO}_4/(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  ใน 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เป็นสารย้อมสี นับจำนวนจุดบนแผ่น TLC จากผลการทดลองพบว่าส่วนสกัดส่วนผลมีจำนวน จุดบนแผ่น TLC ที่มากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนกิ่ง และใบ ตามลำดับ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะ แยกสารบริสุทธิ์จากส่วนผลและกิ่ง สำหรับส่วนใบเนื่องจากจำนวนตัวอย่างมีปริมาณที่น้อยจึงไม่ สามารถที่จะแยกสารบริสุทธิ์ได้

### 4.2 การแยกสารบริสุทธิ์จากผลของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

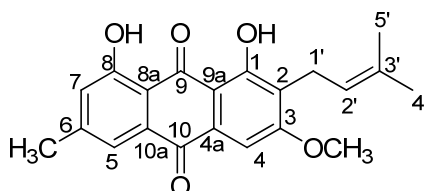
จากการแยกสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของผลตัวเกลี้ยงจำนวน 0.5 กิโลกรัม โดยเทคนิค ทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 6 ชนิดคือ Vismiaquinone A (CF1),  $\mu$ -tocotrienol (CF2),  $\delta$ -tocotrienol (CF3), 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4), Cochinchinone G (CF5) และ Cochinchinone A (CF6) โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จาก ส่วนผลแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 โครงสร้างสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตจากผลของตัวเกลี้ยง (*C. cochinchinense*)

#### 4.2.1 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF1

สารบริสุทธิ์ **CF1** สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 2 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ 10-20% Acetone:Hexanes สามารถแยกได้ทั้งหมด 50 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 2 สัญญาณที่บริเวณ 12.43 (1H, s) และ 12.15 (1H, s) บ่งชี้ว่า **CF1** มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton จำนวน 3 โปรตอน ที่ 7.62 (1H, d,  $J = 1.0$ ), 7.41 (1H, s), และ 7.07 (1H, br s) บ่งชี้ว่าสาร **CF1** มี aromatic proton 3 ตัว สัญญาณของ methoxy proton ที่ 4.02 (3H, s) บ่งชี้ว่าสาร **CF1** มีหมู่  $\text{OCH}_3$  ต่ออยู่บนวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.20 (1H, t,  $J = 7.2$ ), 3.43 (1H, d,  $J = 7.1$ ), 1.80 (3H, s), และ 1.69 (3H, s) ระบุว่า มีหมู่ isoprenyl ต่ออยู่กับวง aromatic และพบหมู่  $\text{CH}_3$  ที่ต่ออยู่บนวง aromatic อีก 1 หมู่ ที่สัญญาณโปรตอนที่เท่ากับ 2.45 (3H, s) จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร **CF1** มีคาร์บอนทั้งหมด 21 ตัว จากข้อมูล NMR ทั้งหมดทำให้ทราบว่าสาร **CF1** เป็นสารกลุ่ม anthraquinone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโคปีและการสืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมา แสดงให้เห็นสาร **CF1** มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 10 และจากการสืบค้นข้อมูลแสดงให้เห็นสาร **CF1** มีชื่อ Vismiaquinone A ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Vismia martiana* โดย Tanus และคณะ ในปี 1990<sup>[11]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **CF1** และ Vismiaquinone A แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 1



ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของ CF1

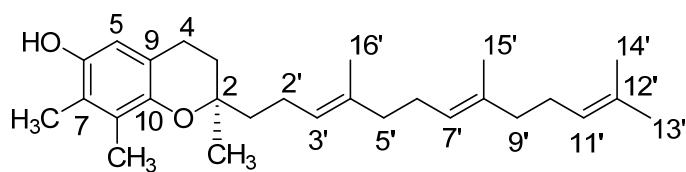


ตารางที่ 1 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF1 และ Vismiaquinone A

Position	CF1		Vismiaquinone A	
	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		162.7		162.8
2		124.8		124.6
3		162.0		162.1
4	7.41 (1H, s)	103.7	7.45 (1H, s)	103.7
4a		133.5		133.4
5	7.62 (1H, d, $J = 1.0$ )	121.1	7.60 (1H, d, $J = 0.5$ )	121.0
6		133.5		133.6
7	7.07 (1H, br s)	124.4	7.16 (1H, d, $J = 0.5$ )	124.8
8		164.0		163.9
8a		114.0		114.1
9		191.8		191.7
9a		111.3		111.1
10		182.8		182.7
10a		133.7		133.6
1'	3.43 (1H, d, $J = 7.1$ )	22.2	3.45 (2H, d, $J = 8.0$ )	22.1
2'	5.20 (1H, t, $J = 7.2$ )	121.6	5.20 (1H, t, $J = 8.0$ )	121.5
3'		126.4		126.3
4'	1.80 (3H, s)	22.1	1.80 (3H, s)	22.5
5'	1.69 (3H, s)	22.1	1.66 (3H, s)	22.6
6-CH <sub>3</sub>	2.45 (3H, s)	17.8	2.48 (3H, s)	20.5
3-OCH <sub>3</sub>	4.02 (3H, s)	56.2	4.09 (3H, s)	56.3
1-OH	12.43 (1H, s)	-	12.44 (1H, s)	-
8-OH	12.15 (1H, s)	-	12.05 (1H, s)	-

#### 4.2.2 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF2

สารบริสุทธิ์ CF2 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 2 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ 10-20% Acetone:Hexanes สามารถแยกได้ทั้งหมด 125 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณ aromatic proton ที่ 6.37 (1H, s) บ่งชี้ว่าสาร CF2 มี aromatic proton 1 ตัว สัญญาณของ methine unsaturated proton จำนวน 3 โปรตอนซ้อนทับกันอยู่ในช่วง 5.11-5.16 (3H, m) บ่งชี้ว่าสาร CF2 มีโปรตอนของพันธะคู่อยู่จำนวน 3 ตัว สัญญาณของหมู่ methyl ที่อยู่บนวง aromatic จำนวน 2 หมู่ ที่ 2.14 (3H, s) และ 2.12 (3H, s) สัญญาณของหมู่ methyl จำนวน 5 หมู่ที่ 1.69 (3H, s), 1.27 (3H, s), 1.60 (3H, s), และ 1.61 (6H, s) สัญญาณของหมู่ methylene ( $\text{CH}_2$ ) จำนวน 8 หมู่ที่ 2.70 (2H, m), 2.19 (2H, m), 2.16 (4H, m), 1.98 (4H, m), 1.72-1.82 (2H, m), และ 1.64-1.70 (2H, m) จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CF2 มีคาร์บอนทั้งหมด 28 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CF2 เป็นสารกลุ่ม tocotrienol จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโคปี พบว่าสาร CF2 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 11 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CF2 มีชื่อว่า  $\gamma$ -tocotrienol ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของวิตามิน อี ข้อมูล NMR เปรียบเทียบจาก Stephan และคณะ ในปี 2007<sup>[12]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF2 และ  $\gamma$ -tocotrienol แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 2



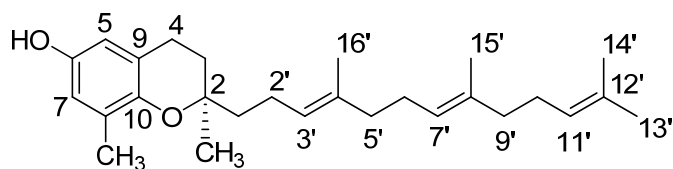
ภาพที่ 11 โครงสร้างทางเคมีของ CF2

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF2 และ  $\gamma$ -tocotrienol

Position	CF2		$\gamma$ -tocotrienol	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
2		75.2		75.14
3	1.72-1.82 (2H, m)	31.4	1.75 (1H, sext, $J = 6.9$ ) 1.81 (1H, sext, $J = 6.9$ )	31.37
4	2.70 (2H, m)	22.3	2.69 (2H, m)	22.22
5	6.37 (1H, s)	112.1	6.38 (1H, s)	112.15
6		146.3		146.26
7		121.6		121.70
8		125.8		125.71
9		118.2		118.11
10		145.7		145.55
1'	1.64-1.70 (2H, m)	39.7	1.58 (1H, m) 1.68 (1H, m)	39.64
2'	2.19 (2H, m)	22.3	2.14-2.18 (2H, m)	22.16
3'	5.11-5.16 (3H, m)	124.4	5.17 (1H, t, $J = 6.4$ )	124.36
4'		135.0		135.00
5'	1.98 (4H, m)	39.8	1.99-2.02 (2H, m)	39.70
6'	2.16 (4H, m)	26.7	2.08-2.12 (2H, m)	26.69
7'	5.11-5.16 (3H, m)	124.3	5.13 (1H, t, $J = 6.1$ )	124.30
8'		134.9		134.88
9'	1.98 (4H, m)	39.6	1.98-2.01 (2H, m)	39.66
10'	2.16 (4H, m)	26.5	2.08-2.12 (2H, m)	26.53
11'	5.11-5.16 (3H, m)	124.2	5.13 (1H, t, $J = 6.1$ )	124.15
12'		131.2		131.88
13'	1.60 (3H, s)	25.6	1.62 (3H, s)	25.66
14'	1.69 (3H, s)	17.6	1.72 (3H, s)	17.63
15'	1.61 (6H, s)	16.0	1.64 (3H, s)	15.94
16'	1.61 (6H, s)	15.8	1.64 (3H, s)	15.83
2-CH <sub>3</sub>	1.27 (3H, s)	23.4	1.29 (3H, s)	23.93
7-CH <sub>3</sub>	2.14 (3H, s)	11.9	2.16 (3H, s)	11.85
8-CH <sub>3</sub>	2.12 (3H, s)	11.8	2.15 (3H, s)	11.84
6-OH	-		4.70 (1H, br s)	-

#### 4.2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF3

สารบริสุทธิ์ CF3 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 3 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ 10-20% Acetone:Hexanes ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 5 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้ CDCl<sub>3</sub> เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณ aromatic proton ที่ 6.47 (1H, br s) และ 6.38 (1H, br s) บ่งชี้ว่าสาร CF3 มี aromatic proton 3 ตัว สัญญาณของ methine unsaturated proton จำนวน 3 โปรตอนซ้อนทับกันอยู่ในช่วง 5.11-5.13 (3H, m) บ่งชี้ว่าสาร CF3 มีโปรตอนของพันธะคู่อยู่จำนวน 3 ตัว สัญญาณของหมู่ hydroxy ที่ 4.22 (1H, brs) สัญญาณของหมู่ methyl ที่อยู่บนวง aromatic จำนวน 1 หมู่ ที่ 2.13 (3H, s) สัญญาณของหมู่ methyl จำนวน 5 หมู่ที่ 1.68 (3H, s), 1.60 (9H, s), และ 1.26 (3H, s) สัญญาณของหมู่ methylene (CH<sub>2</sub>) จำนวน 8 หมู่ที่ 2.70 (2H, m), 2.05-2.13 (6H, m), 1.97-1.98 (4H, m), 1.75-1.80 (2H, m), และ 1.57 (2H, m) เนื่องจากสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มีปริมาณน้อยจึงไม่สามารถวิเคราะห์ผลของ <sup>13</sup>C NMR ได้ จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CF3 เป็นสารกลุ่ม tocotrienol จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CF3 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 12 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CF3 มีชื่อว่า  $\delta$ -tocotrienol ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของวิตามิน อี ข้อมูล NMR เปรียบเทียบจาก Stephan และคณะ ในปี 2007<sup>[12]</sup> ข้อมูล <sup>1</sup>H และ <sup>13</sup>C NMR ของ CF3 และ  $\delta$ -tocotrienol แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 3



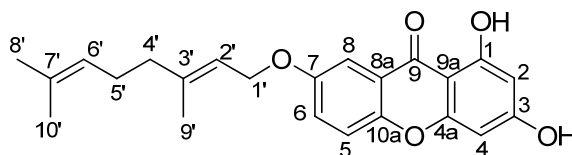
ภาพที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของ CF3

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF3 และ  $\delta$ -tocotrienol

Position	CF3		$\delta$ -tocotrienol	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
2				75.23
3	1.75-1.80 (2H, m)		1.75 (1H, sext, $J = 6.7$ ) 1.81 (1H, sext, $J = 6.7$ )	31.32
4	2.70 (2H, m)		2.70 (2H, m)	22.41
5	6.38 (1H, br s)		6.40 (1H, d, $J = 2.6$ )	112.61
6				147.78
7	6.47 (1H, br s)		6.50 (1H, d, $J = 2.6$ )	115.67
8				127.21
9				121.12
10				145.77
1'	1.57 (2H, m)		1.57 (1H, m) 1.67 (1H, m)	39.60
2'	2.05-2.13 (6H, m)		2.12-2.16 (2H, m)	22.11
3'	5.10-5.13 (3H, m)		5.16 (1H, t, $J = 6.6$ )	124.35
4'				135.03
5'	1.97-1.98 (4H, m)		1.98-2.01 (2H, m)	39.65
6'	2.05-2.13 (6H, m)		2.07-2.11 (2H, m)	26.68
7'	5.10-5.13 (3H, m)		5.13 (1H, t, $J = 6.0$ )	124.24
8'				134.88
9'	1.97-1.98 (4H, m)		1.98-2.01 (1H, m)	39.63
10'	2.05-2.13 (6H, m)		2.07-2.11 (2H, m)	26.52
11'	5.10-5.13 (3H, m)		5.12 (1H, t, $J = 6.0$ )	124.13
12'				131.18
13'	1.60 (9H, s)		1.61 (3H, s)	25.65
14'	1.68 (3H, s)		1.70 (3H, s)	17.63
15'	1.60 (9H, s)		1.62 (3H, s)	15.81
16'	1.60 (9H, s)		1.62 (3H, s)	15.94
2-CH <sub>3</sub>	1.26 (3H, s)		1.28 (3H, s)	16.02
8-CH <sub>3</sub>	2.13 (3H, s)		2.14 (3H, s)	23.94
6-OH	4.22 (1H, brs)		5.33 (1H, brs)	-

#### 4.2.4 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF4

สารบริสุทธิ์ **CF4** สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 5 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Hexanes:MeOH (80:20:0.5) ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 450 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 12.96 (1H, s) บ่งชี้ว่า **CF4** มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.62 (1H, d,  $J = 2.8$ ), 7.38 (1H, s), 7.32 (1H, dd,  $J = 9.1, 2.8$ ), 6.38 (1H, d,  $J = 1.9$ ), และ 6.28 (1H, d,  $J = 1.9$ ) บ่งชี้ว่าสาร **CF4** มี aromatic proton 5 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.51 (1H, dd,  $J = 6.8, 5.9$ ), 5.09 (1H, t,  $J = 5.9$ ), 4.63 (2H, d,  $J = 6.6$ ), 2.13 (4H, m), 1.77 (3H, s), 1.67 (3H, s), 1.61 (3H, s) ระบุว่า มีหมู่ geranyl ต่ออยู่กับออกซิเจนบนวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร **CF4** มีคาร์บอนทั้งหมด 23 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร **CF4** เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร **CF4** มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 13 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร **CF4** มีชื่อว่า 7-geranyloxy-1,3-dihydroxy xanthone ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Lien และคณะ ในปี 1998<sup>[13]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **CF4** และ 7-geranyloxy-1,3-dihydroxy xanthone แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 4



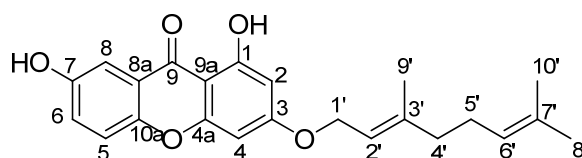
ภาพที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของ **CF4**

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF4 และ 7-geranyloxy-1,3-dihydroxy xanthone

Position	CF4		7-geranyloxy-1,3-dihydroxy xanthone	
	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		163.3		163.2
2	6.28 (1H, d, $J = 1.9$ )	98.0	6.28 (1H, d, $J = 1.9$ )	98.2
3		157.5		157.9
4	6.38 (1H, d, $J = 1.9$ )	118.5	6.38 (1H, d, $J = 1.9$ )	118.8
4a		157.8		157.9
5	7.38 (1H, s)	118.7	7.36 (1H, d, $J = 9.0$ )	118.8
6	7.32 (1H, dd, $J = 9.1, 2.8$ )	125.3	7.31 (1H, dd, $J = 9.1, 2.8$ )	125.5
7		150.6		150.6
8	7.62 (1H, d, $J = 2.8$ )	106.0	7.62 (1H, d, $J = 2.7$ )	106.1
8a		120.7		120.7
9		181.4		181.5
9a		103.6		103.5
10a		155.5		155.2
1'	4.63 (2H, d, $J = 6.6$ )	65.7	4.63 (2H, d, $J = 6.3$ )	65.6
2'	5.51 (1H, dd, $J = 6.8, 5.9$ )	118.5	5.51 (1H, br t, $J = 6.3$ )	118.7
3'		141.8		142.0
4'	2.13 (4H, m)	39.6	2.11 (2H, m)	39.5
5'	2.13 (4H, m)	26.8	2.11 (2H, m)	26.6
6'	5.09 (1H, t, $J = 5.9$ )	123.7	5.09 (1H, br t, $J = 6.3$ )	123.6
7'		131.8		131.8
8'	1.67 (3H, s)	25.7	1.67 (3H, s)	25.6
9'	1.77 (3H, s)	16.6	1.77 (3H, s)	16.6
10'	1.61 (3H, s)	17.5	1.60 (3H, s)	17.6
1-OH	12.96 (1H, s)		12.96 (1H, s)	-

#### 4.2.5 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF5

สารบริสุทธิ์ CF5 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 5 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Hexanes:MeOH (80:20:0.5) ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 35 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้ CDCl<sub>3</sub> เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 12.79 (1H, s) บ่งชี้ว่า CF5 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.60 (1H, d,  $J = 2.9$ ), 7.37 (1H, s), 7.26 (1H, dd,  $J = 8.7, 3.2$ ), 6.42 (1H, d,  $J = 2.2$ ), และ 6.35 (1H, d,  $J = 2.2$ ) บ่งชี้ว่าสาร CF5 มี aromatic proton 5 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.49 (1H, t,  $J = 6.2$ ), 5.09 (1H, t,  $J = 5.6$ ), 4.63 (2H, d,  $J = 6.5$ ), 2.13 (4H, m), 1.76 (3H, s), 1.67 (3H, s), 1.61 (3H, s) ระบุว่าหมู่ geranyl ต่ออยู่กับออกซิเจนบนวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CF5 มีคาร์บอนทั้งหมด 23 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CF5 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CF5 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 14 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CF5 มีชื่อว่า Cochinquinone G ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Mahabusarakam และคณะ ในปี 2008<sup>[10]</sup> ข้อมูล <sup>1</sup>H และ <sup>13</sup>C NMR ของ CF5 และ Cochinquinone G แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 5



ภาพที่ 14 โครงสร้างทางเคมีของ CF5

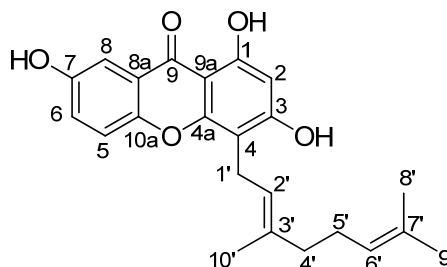


ตารางที่ 5 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF5 และ Cochinchinone G

Position	CF5		Cochinchinone G	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		163.3		163.2
2	6.35 (1H, d, $J = 2.2$ )	97.5	6.33 (1H, d, $J = 3.0$ )	97.6
3		166.2		166.2
4	6.42 (1H, d, $J = 2.2$ )	93.4	6.39 (1H, d, $J = 3.0$ )	93.2
4a		157.8		157.5
5	7.37 (1H, s)	118.9	7.29 (1H, d, $J = 9.0$ )	118.8
6	7.26 (1H, dd, $J = 8.7, 3.2$ )	124.4	7.24 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ )	124.2
7		152.6		152.3
8	7.60 (1H, d, $J = 2.9$ )	109.0	7.58 (1H, d, $J = 3.0$ )	108.9
8a		120.6		120.4
9		180.8		180.7
9a		103.7		103.6
10a		150.8		150.8
1'	4.63 (2H, d, $J = 6.5$ )	65.5	4.62 (2H, d, $J = 6.6$ )	65.6
2'	5.49 (1H, t, $J = 6.2$ )	121.4	5.48 (1H, t, $J = 6.6$ )	121.5
3'		142.5		142.1
4'	2.13 (4H, m)	39.7	2.11 (2H, m)	39.5
5'	2.13 (4H, m)	26.4	2.12 (2H, m)	26.3
6'	5.09 (1H, t, $J = 5.6$ )	123.7	5.09 (1H, t, $J = 6.6$ )	123.8
7'		132.2		132.0
8'	1.61 (3H, s)	17.8	1.55 (3H, s)	17.7
9'	1.76 (3H, s)	16.9	1.76 (3H, s)	16.8
10'	1.67 (3H, s)	25.7	1.67 (3H, s)	25.6
1-OH	12.79 (1H, s)		12.70 (1H, s)	-

#### 4.2.6 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CF6

สารบริสุทธิ์ **CF6** สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 6 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ 10-100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Hexanes ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 15 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{dmsO}-d_6$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 12.86 (1H, s) บ่งชี้ว่า **CF6** มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.46 (1H, d,  $J = 9.0$ ), 7.41 (1H, d,  $J = 3.0$ ), 7.30 (1H, dd,  $J = 9.0, 3.0$ ), และ 6.29 (1H, s) บ่งชี้ว่าสาร **CF6** มี aromatic proton 4 ตัว สัญญาณโปรตอน ที่ 5.19 (1H, t,  $J = 7.1$ ), 4.96 (1H, t,  $J = 6.8$ ), 3.52 (2H, m), 1.90-2.00 (4H, m), 1.83 (3H, s), 1.47 (3H, s), และ 1.45 (3H, s) ระบุว่าหมู่ geranyl ต่อกับวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร **CF5** มีคาร์บอนทั้งหมด 23 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร **CF6** เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโคปี พบว่าสาร **CF6** มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 15 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร **CF1** มีชื่อว่า Fuscaxanthone E ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Garcinia fusca* โดย Chihiro และคณะ ในปี 2003<sup>[14]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **CF6** และ Fuscaxanthone E แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 6



ภาพที่ 15 โครงสร้างทางเคมีของ CF6

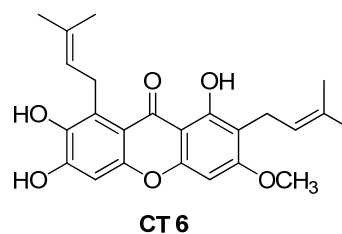
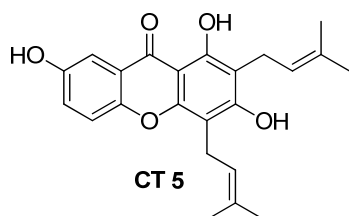
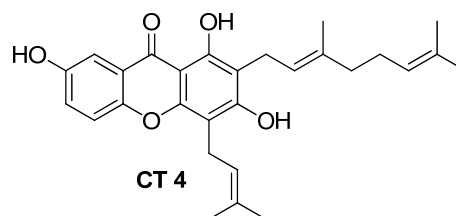
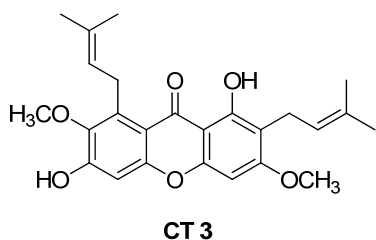
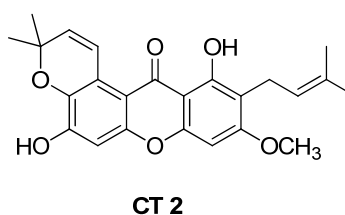
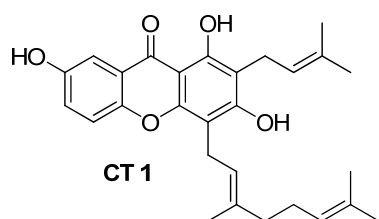
ตารางที่ 6 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF6 และ Fuscaxanthone E

Position	CF3 <sup>a</sup>		Fuscaxanthone E <sup>b</sup>	
	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		160.3		162.2
2	6.29 (1H, s)	97.3	6.33 (1H, s)	98.2
3		163.0		163.6
4		105.8		107.1
4a		154.5		156.0
5	7.46 (1H, d, $J = 9.0$ )	120.0	7.49 (1H, d, $J = 8.8$ )	119.9
6	7.30 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ )	124.4	7.36 (1H, br d, $J = 8.8$ )	125.0
7		153.8		154.7
8	7.41 (1H, d, $J = 3.0$ )	107.9	7.56 (1H, br s)	109.2
8a		122.1		121.6
9		179.9		181.5
9a		101.9		103.6
10a		149.0		151.0
1'	3.52 (2H, m)	21.0	3.52 (2H, d, $J = 7.3$ )	22.1
2'	5.19 (1H, t, $J = 7.1$ )	123.9	5.30 (1H, m)	123.3
3'		134.1		135.4
4'	1.90-2.00 (4H, m)	39.0	1.95 (2H, m)	40.4
5'	1.90-2.00 (4H, m)	26.0	2.04 (2H, m)	27.2
6'	4.96 (1H, t, $J = 6.8$ )	124.4	5.00 (1H, m)	124.9
7'		130.5		131.6
8'	1.45 (3H, s)	17.4	1.48 (3H, s)	17.6
9'	1.83 (3H, s)	25.2	1.88 (3H, s)	25.7
10'	1.47 (3H, s)	15.9	1.50 (3H, s)	16.3
1-OH	12.86 (1H, s)		12.93 (1H, s)	-

*a*: recorded in  $\text{dmsO-}d_6$ , *b*: recorded in  $\text{acetone-}d_6$

#### 4.3 การแยกสารบริสุทธิ์จากกิ่งของต้นกล้วย (C. cochinchinense) ส่วนสกัดเฮกเซน

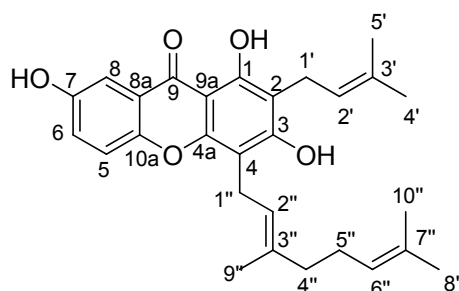
จากการแยกสารสกัดหยาบส่วนสกัดเฮกเซนของกิ่งต้นกล้วยจำนวน 2.5 กิโลกรัม โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 6 ชนิดคือ Cochinchinone A (CT 1), Dulcisxanthone F (CT 2),  $\beta$ -mahostin (CT 3), 7-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT 4), 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT 5) และ Dulcisxanthone B (CT 6) โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากส่วนผลแสดงในภาพที่ 16



ภาพที่ 16 โครงสร้างสารบริสุทธิ์ส่วนสกัดเฮกเซนจากกิ่งของต้นกล้วย (C. cochinchinense)

#### 4.3.1 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT1

สารบริสุทธิ์ CT1 สามารถแยกได้จากการตกผลึกส่วนสกัดย่อยที่ 2.6 ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 140 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.12 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT1 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.64 (1H, d,  $J = 3.0$ ), 7.38 (1H, d,  $J = 9.0$ ), และ 7.28 (1H, m) บ่งชี้ว่าสาร CT1 มี aromatic proton 3 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (1H, m), 5.07 (1H, t,  $J = 6.6$ ), 3.58 (1H, t,  $J = 7.4$ ), 2.07-2.13 (2H, m), 1.91 (2H, m), 1.87 (3H, s), 1.66 (3H, s), และ 1.59 (3H, s) ระบุว่าหมู่ geranyl ต่อกับวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (2H, m), 3.49 (1H, d,  $J = 6.9$ ), 1.87 (3H, s), และ 1.79 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl ต่อกับวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT1 มีคาร์บอนทั้งหมด 28 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT1 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CT1 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 17 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT1 มีชื่อว่า Cochinchinone A ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Mahabusarakam และคณะ ในปี 2006<sup>[15]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT1 และ Cochinchinone A แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 7



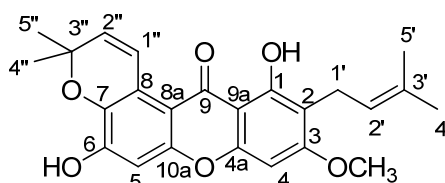
ภาพที่ 17 โครงสร้างทางเคมีของ CT1

ตารางที่ 7 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT1 และ Cochinchinone A

Position	CT1		Cochinchinone A	
	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		158.4		158.3
2		109.2		108.9
3		161.0		161.1
4		105.1		105.0
4a		151.9		152.9
5	7.38 (1H, d, $J = 9.0$ )	119.0	7.36 (1H, d, $J = 9.0$ )	118.8
6	7.28 (1H, m)	121.5	7.24 (1H, dd, $J = 9.0,$ 3.0)	124.1
7		150.6		152.4
8	7.64 (1H, d, $J = 3.0$ )	109.1	7.59 (1H, d, $J = 3.0$ )	108.9
8a		120.3		120.4
9		180.9		180.9
9a		103.3		102.9
10a		150.6		150.3
1'	3.49 (1H, d, $J = 6.9$ )	21.9	3.47 (2H, d, $J = 7.0$ )	21.5
2'	5.30 (2H, m)	121.6	5.29 (1H, t, $J = 7.0$ )	121.6
3'		137.8		134.9
4'	1.87 (6H, s)	17.9	1.84 (3H, s)	17.9
5'	1.79 (3H, s)	25.8	1.76 (3H, s)	25.8
1''	3.58 (1H, t, $J = 7.4$ )	21.6	3.57 (2H, d, $J = 7.0$ )	21.6
2''	5.30 (2H, m)	121.8	5.27 (1H, br t, $J = 7.0$ )	121.6
3''		135.0		134.9
4''	1.91 (2H, m)	39.7	2.03-2.06 (2H, m)	39.7
5''	2.07-2.13 (4H, m)	26.4	2.11-2.08 (2H, m)	26.4
6''	5.07 (1H, t, $J = 6.6$ )	123.8	5.05 (1H, br t, $J = 7.0$ )	123.8
7''		135.0		131.5
8''	1.59 (3H, s)	17.7	1.57 (3H, s)	17.7
9''	1.87 (6H, s)	16.3	1.88 (3H, s)	16.3
10''	1.66 (3H, s)	25.7	1.64 (3H, s)	25.7
1-OH	13.12 (1H, s)	-	12.95 (1H, s)	-

#### 4.3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT2

สารบริสุทธิ์ CT2 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 2.6 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Hexanes:MeOH (80:20:0.1) ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 2 มิลลิกรัมจากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.36 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT2 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 6.85 (1H, s) และ 6.38 (1H, s) บ่งชี้ว่าสาร CT2 มี aromatic proton 2 ตัว สัญญาณ doublet proton ที่ 8.07 (1H, d,  $J = 10.2$ ) และ 5.85 (1H, d,  $J = 10.2$ ) แสดงให้เห็นถึง conjugated unsaturated proton methoxy group ที่ 3.93 (3H, s) สัญญาณโปรตอนที่ 5.25 (1H, t,  $J = 7.2$ ), 3.38 (2H, d,  $J = 7.3$ ), 1.82 (3H, s), และ 1.70 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl ต่อกับวง aromatic และหมู่ methyl 2 หมู่ จากสัญญาณโปรตอนที่ 1.52 (6H, s) จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT2 มีคาร์บอนทั้งหมด 24 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT2 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CT2 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 18 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT2 มีชื่อว่า Dulcisxanthone F ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Mahabusarakam และคณะ ในปี 2006<sup>[15]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CF1 และ Vismiaquinone C แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 8



ภาพที่ 18 โครงสร้างทางเคมีของ CT2

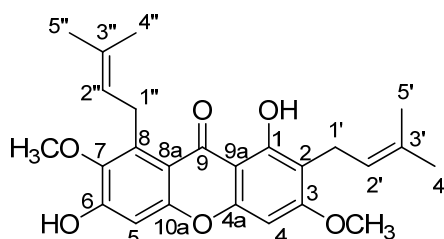
ตารางที่ 8 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT2 และ Dulcisxanthone F

Position	CT2		Dulcisxanthone F	
	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ ( $J$ in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		159.2		159.1
2		111.5		111.4
3		162.8		163.6
4	6.38 (1H, s)	88.7	6.36 (1H, s)	88.9
4a		154.9		155.5
5	6.85 (1H, s)	102.1	6.83 (1H, s)	102.2
6		1550.7		150.7
7		136.8		136.7
8		119.6		119.7
8a		108.4		108.7
9		182.6		182.4
9a		102.4		102.2
10a		152.9		153.0
1'	3.38 (2H, d, $J = 7.3$ )	21.2	3.36 (2H, d, $J = 6.7$ )	21.3
2'	5.25 (1H, t, $J = 7.2$ )	122.1	5.23 (1H, br t, $J = 7.0$ )	122.2
3'		131.2		132.0
4'	1.70 (3H, s)	25.6	1.68 (3H, s)	25.8
5'	1.82 (3H, s)	17.6	1.80 (3H, s)	17.7
1''	8.07 (1H, d, $J = 10.2$ )	121.1	8.04 (1H, d, $J = 9.7$ )	121.0
2''	5.85 (1H, d, $J = 10.2$ )	131.5	5.83 (1H, d, $J = 9.7$ )	131.7
3''		71.2		71.0
4''	1.52 (6H, s)	27.5	1.50 (6H, s)	27.3
5''	1.52 (6H, s)	26.9	1.50 (6H, s)	26.9
3-OMe	3.93 (3H, s)	55.7	3.91 (3H, s)	55.8
1-OH	13.36 (1H, s)		13.35 (1H, s)	-



#### 4.3.3 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT3

สารบริสุทธิ์ CT3 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 2.7 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Hexanes:MeOH (80:20:0.1) ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 110 มิลลิกรัมจากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.44 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT3 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 6.85 (1H, s) และ 6.35 (1H, s) บ่งชี้ว่าสาร CT3 มี aromatic proton 2 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.27 (1H, m), 3.37 (1H, d,  $J = 7.0$ ), 1.82 (3H, s), และ 1.71 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 1 ต่อกับวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.27 (1H, m), 4.11 (1H, d,  $J = 6.2$ ), 1.85 (3H, s), และ 1.70 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 2 ต่อกับวง aromatic และสัญญาณ methoxy group ที่ต่อยู่บนวง aromatic ที่ 3.92 (3H, s) และ 3.83 (3H, s) จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT3 มีคาร์บอนทั้งหมด 25 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT3 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CT3 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 19 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT3 มีชื่อว่า  $\beta$ -mangostin ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Garcinia cowa* โดย Likhitwitayawuid และคณะ ในปี 1998<sup>[16]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT3 และ  $\beta$ -mangostin แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 9



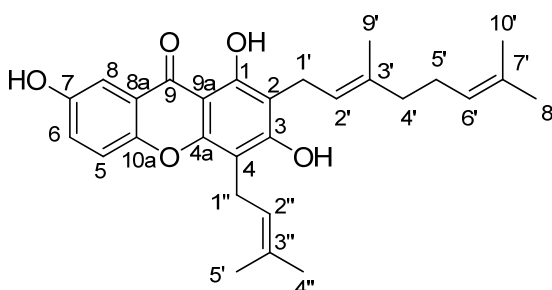
ภาพที่ 19 โครงสร้างทางเคมีของ CT3

ตารางที่ 9 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT3 และ  $\beta$ -mangostin

Position	CT3		$\beta$ -mangostin	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		159.8		159.8
2		111.5		111.7
3		163.5		163.5
4	6.35 (1H, s)	88.8	6.28 (1H, s)	89.0
4a		155.7		155.7
5	6.85 (1H, s)	101.5	6.77 (1H, s)	101.6
6		155.2		155.3
7		142.6		142.6
8		137.0		137.1
8a		112.4		112.6
9		181.9		181.9
9a		103.3		104.0
10a		154.5		154.4
1'	3.37 (1H, d, $J = 7.0$ )	21.4	3.33 (2H, d, $J = 7.2$ )	21.7
2'	5.27 (2H, m)	122.3	5.23 (1H, br t, $J = 7.2$ )	122.4
3'		131.6		131.7
4'	1.82 (3H, s)	17.8	1.79 (3H, s)	16.1
5'	1.71 (3H, s)	18.1	1.68 (3H, s)	18.1
1''	4.11 (1H, d, $J=6.2$ )	26.5	4.07 (2H, d, $J = 6.0$ )	26.9
2''	5.27 (2H, m)	123.2	5.26 (1H, br t, $J = 6.0$ )	123.3
3''		132.0		132.1
4''	1.85 (3H, s)	18.2	1.83 (3H, s)	18.6
5''	1.70 (3H, s)	25.8	1.68 (3H, s)	26.1
3-OCH <sub>3</sub>	3.92 (3H, s)	55.8	3.88 (3H, s)	56.1
7-OCH <sub>3</sub>	3.83 (3H, s)	62.0	3.79 (3H, s)	62.3
1-OH	13.44 (1H, s)		13.54 (1H, s)	-
6-OH			6.45 (1H, br s)	-

#### 4.3.4 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT4

สารบริสุทธิ์ CT4 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 2.7 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Hexanes:MeOH (80:20:0.1) ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 110 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.01 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT4 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.63 (1H, d,  $J = 2.8$ ) และ 7.26 (2H, m) บ่งชี้ว่าสาร CT4 มี aromatic proton 3 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (1H, m), 5.07 (1H, t,  $J = 6.0$ ), 3.47 (2H, d,  $J = 7.0$ ), 2.10 (4H, m), 1.87 (3H, s), 1.66 (3H, s), และ 1.60 (3H, s) ระบุว่าหมู่ geranyl ต่อกับวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (1H, m), 3.56 (2H, d,  $J = 7.0$ ), 1.90 (3H, s), และ 1.79 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl ต่อกับวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT1 มีคาร์บอนทั้งหมด 28 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT4 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CT4 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 20 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT4 มีชื่อว่า 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthon ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Bennett และคณะ ในปี 1993<sup>[17]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT4 และ 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 10



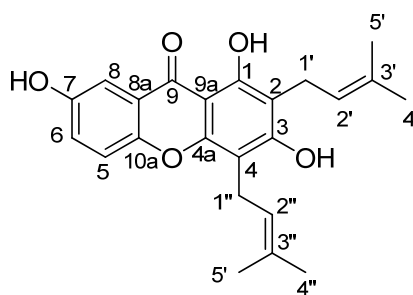
ภาพที่ 20 โครงสร้างทางเคมีของ CT4

ตารางที่ 10 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT1 และ 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone

Position	CT4		2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		158.2		158.2
2		105.0		104.9
3		161.1		161.1
4		109.1		109.2
4a		153.0		152.9
5	7.26 (2H, m)	118.9	7.18 (2H, br s)	118.8
6	7.26 (2H, m)	121.6	7.18 (2H, br s)	121.6
7		152.3		152.6
8	7.63 (1H, d, $J = 2.8$ )	108.9	7.57 (1H, br s)	108.8
8a		120.5		120.3
9		180.9		180.9
9a		103.2		103.2
10a		150.4		150.2
1'	3.47 (2H, d, $J = 7.0$ )	21.6	3.43 (2H, d, $J = 6.2$ )	21.6
2'	5.30 (2H, m)	123.8	5.29 (1H, br t, $J = 6.9$ )	123.8
3'		137.9		137.9
4'	2.10 (4H, m)	39.7	2.05 (4H, m)	39.7
5'	2.10 (4H, m)	26.4	2.05 (4H, m)	26.4
6'	5.07 (1H, t, $J = 6.0$ )	124.0	5.03 (1H, br t, $J = 6.5$ )	123.8
7'		131.8		131.8
8'	1.60 (3H, s)	17.7	1.57 (3H, s)	17.7
9'	1.87 (3H, s)	16.3	1.86 (3H, s)	16.2
10'	1.66 (3H, s)	25.6	1.64 (3H, s)	25.6
1''	3.56 (2H, d, $J = 7.0$ )	21.8	3.54 (2H, d, $J = 6.2$ )	21.8
2''	5.30 (2H, m)	121.6	5.28 (1H, br t, $J = 6.9$ )	121.6
3''		134.9		134.8
4''	1.79 (3H, s)	25.8	1.76 (3H, s)	25.8
5''	1.90 (3H, s)	17.9	1.86 (3H, s)	17.9
1-OH	13.01 (1H, s)		12.94 (1H, s)	

#### 4.3.5 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT5

สารบริสุทธิ์ CT5 สามารถแยกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 3 โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายคือ 10-20% Acetone:Hexanes ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งหมด 55 มิลลิกรัม จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.00 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT5 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 7.62 (1H, d,  $J = 2.2$ ) และ 7.26 (2H, m) บ่งชี้ว่าสาร CT5 มี aromatic proton 3 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (1H, m), 3.47 (1H, d,  $J = 6.9$ ), 1.88 (3H, s), และ 1.80 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 1 ต่อกับวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.30 (1H, m), 3.53 (1H, d,  $J = 7.4$ ), 1.91 (3H, s), และ 1.77 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 2 ต่อกับวง aromatic จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT5 มีคาร์บอนทั้งหมด 23 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT5 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT5 มีชื่อว่า 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isoprenylxanthone มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 21 ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Cratoxylum cochinchinense* โดย Ren และคณะ ในปี 2011<sup>[18]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT5 และ 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isoprenylxanthone แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 11



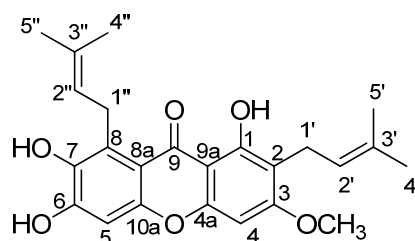
ภาพที่ 21 โครงสร้างทางเคมีของ CT5

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT5 และ 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isoprenyl xanthone

Position	CT5		1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isoprenylxanthone	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		158.2		158.3
2		108.9		108.8
3		161.0		160.9
4		105.2		105.3
4a		153.0		153.1
5	7.26 (2H, m)	118.9	7.37 (1H, d, $J = 9.0$ )	119.1
6	7.26 (2H, m)	123.8	7.24 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ )	123.7
7		152.3		151.8
8	7.62 (1H, d, $J = 2.2$ )	108.9	7.59 (1H, d, $J = 3.0$ )	109.3
8a		120.5		120.9
9		180.9		180.8
9a		103.2		103.3
10a		150.4		150.7
1'	3.47 (1H, d, $J = 6.9$ )	21.8	3.47 (1H, d, $J = 7.2$ )	21.7
2'	5.30 (2H, m)	121.7	5.26 (1H, t, $J = 7.2$ )	122.8
3'		135.4		135.5
4'	1.80 (3H, s)	25.8	1.76 (3H, s)	25.8
5'	1.88 (3H, s)	17.9	1.84 (3H, s)	17.9
1''	3.53 (1H, d, $J = 7.4$ )	21.8	3.54 (1H, d, $J = 6.9$ )	21.9
2''	5.30 (2H, m)	121.6	5.28 (1H, t, $J = 6.9$ )	122.5
3''		133.9		133.8
4''	1.77 (3H, s)	25.8	1.72 (3H, s)	25.8
5''	1.91 (3H, s)	17.9	1.87 (3H, s)	17.9
1-OH	13.00 (1H, s)		13.15 (1H, s)	-

#### 4.3.6 การวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ CT6

สารบริสุทธิ์ CT6 สามารถตกผลึกได้จากส่วนสกัดย่อยที่ 5 ซึ่งสามารถตกผลึกได้ทั้งหมด 45 มิลลิกรัมจากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR และใช้  $\text{dms-}d_6$  เป็นตัวทำละลาย พบสัญญาณของโปรตอน ( $\delta_H$ ) ที่สำคัญคือ สัญญาณของ OH proton 1 สัญญาณที่บริเวณ 13.78 (1H, s) บ่งชี้ว่า CT6 มีหมู่ OH ที่ต่อกับวง aromatic ที่เป็นลักษณะการเกิด hydrogen bonding กับ carbonyl group สัญญาณ aromatic proton ที่ 6.79 (1H, s) และ 6.58 (1H, s) บ่งชี้ว่าสาร CT6 มี aromatic proton 2 ตัว สัญญาณโปรตอนที่ 5.14 (1H, t,  $J = 6.7$ ), 3.23 (2H, d,  $J = 7.0$ ), 1.73 (3H, s), และ 1.62 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 1 ต่อกับวง aromatic สัญญาณโปรตอนที่ 5.19 (1H, t,  $J = 6.6$ ), 4.04 (2H, d,  $J = 6.5$ ), 1.78 (3H, s), และ 1.73 (3H, s) ระบุว่าหมู่ isoprenyl หมู่ที่ 2 ต่อกับวง aromatic และสัญญาณ methoxy group ที่ต่อกับวง aromatic ที่ 3.89 (3H, s) จากสัญญาณ carbon NMR ( $\delta_C$ ) พบสาร CT6 มีคาร์บอนทั้งหมด 24 ตัว จากข้อมูล NMR เบื้องต้นทำให้ทราบว่าสาร CT6 เป็นสารกลุ่ม xanthone จากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสาร CT6 มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 22 และจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าสาร CT6 มีชื่อว่า Dulcisxanthone B ซึ่งเคยมีรายงานการวิจัยจาก *Garcinia dulcis* โดย Deachathai และคณะ ในปี 2005<sup>[19]</sup> ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT6 และ Dulcisxanthone B แสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 12



ภาพที่ 22 โครงสร้างทางเคมีของ CT6

ตารางที่ 12 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ CT6 และ Dulcisxanthone B

Position	CT6 <sup>a</sup>		Dulcisxanthone B <sup>b</sup>	
	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}$
1		158.7		159.7
2		112.4		111.4
3		162.9		163.5
4	6.58 (1H, s)	89.2	6.26 (1H, s)	88.8
4a		154.7		155.3
5	6.79 (1H, s)	100.0	6.75 (1H, s)	101.1
6		152.0		150.7
7		141.0		139.6
8		123.6		127.4
8a		109.9		111.7
9		181.6		182.6
9a		102.5		101.1
10a		152.7		153.5
1'	3.23 (2H, d, $J = 7.0$ )	20.9	3.28 (2H, d, $J = 6.3$ )	21.3
2'	5.14 (1H, t, $J = 6.7$ )	122.2	5.16 (1H, br t, $J = 6.0$ )	122.3
3'		130.6		132.0
4'	1.62 (3H, s)	25.3	1.60 (3H, s)	25.8
5'	1.73 (6H, s)	18.0	1.72 (3H, s)	17.8
1''	4.04 (2H, d, $J = 6.5$ )	25.4	4.27 (2H, d, $J = 6.3$ )	26.0
2''	5.19 (1H, t, $J = 6.6$ )	122.2	5.24 (1H, br t, $J = 6.0$ )	121.5
3''		130.1		136.0
4''	1.73 (6H, s)	25.6	1.72 (3H, s)	28.8
5''	1.78 (3H, s)	17.6	1.82 (3H, s)	18.0
3-OCH <sub>3</sub>	3.89 (3H, s)	56.1	3.83 (3H, s)	55.8
1-OH	13.78 (1H, s)		13.35 (1H, s)	-

a: recorded in dms $o$ - $d_6$ , b: recorded in acetone- $d_6$



#### 4.4 การแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตัวเกลี้ยง

ผลความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตัวเกลี้ยงแสดงในตารางที่ 13 ในหน่วย  $\mu\text{g/mL}$  โดยใช้เซลล์มะเร็งมนุษย์ทั้งหมด 5 ชนิดคือ มะเร็งตับ (HEP-G2) มะเร็งลำไส้ (SW-620) มะเร็งปอด (CHARGO) มะเร็งกระเพาะอาหาร (KATO-3) และมะเร็งเต้านม (BT-474)

ตารางที่ 13 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากตัวเกลี้ยง

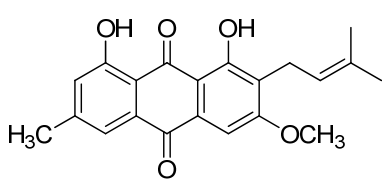
สาร	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	BT-474	CHARGO	HEP-G2	KATO-3	SW-620
CF1	>10	>10	>10	9.52	>10
CF2	>10	>10	>10	>10	>10
CF3	>10	>10	>10	>10	4.76
CF4	>10	6.57	6.92	9.37	5.94
CF5	5.25	5.44	5.74	5.32	4.64
CF6	7.09	>10	>10	>10	>10
CT1	5.09	0.64	0.43	3.92	4.61
CT2	6.17	0.62	0.60	1.00	4.36
CT3	8.97	7.21	7.20	7.38	5.99
CT4	3.47	0.67	5.00	2.47	3.62
CT5	1.05	0.46	0.46	0.63	3.11
CT6	3.47	0.67	5.00	2.47	3.62
doxorubicin	0.64	0.47	0.07	0.85	0.10

## บทที่ 5

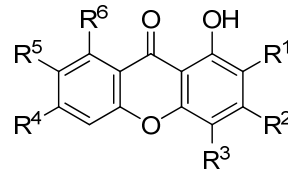
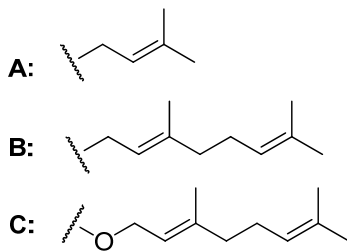
### สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

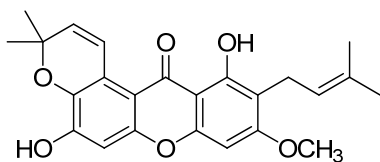
จากการสกัดและแยกสารจากผลและกิ่งของตัวเกลี้ยง ได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ Vismiaquinone A (CF1),  $\gamma$ -tocotrienol (CF2),  $\delta$ -tocotrienol (CF3), 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4), Cochinchinone G (CF5), Cochinchinone A (CF6), Cochinchinone A (CT1), Dulcisxanthone F (CT2),  $\beta$ -mahostin (CT3), 7-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4), 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone (CT5) และ Dulcisxanthone B (CT6) แสดงโครงสร้างในภาพที่ 23 สารบริสุทธิ์ทั้งหมดวิเคราะห์โครงสร้างโดยเทคนิค NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, HMBC) และเปรียบเทียบข้อมูลทางด้านสเปกโทรสโคปีจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง



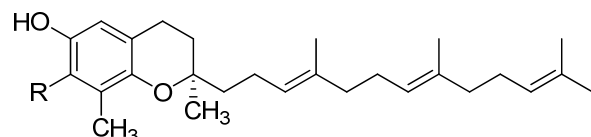
CF1



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>
CT1	A	OH	B	H	OH	H
CT3	A	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	A
CT4	B	OH	A	H	OH	H
CT5	A	OH	A	H	OH	H
CT6	A	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	A
CF4	H	OH	H	H	C	H
CF5	H	C	H	H	OH	H
CF6	H	OH	B	H	OH	H



CT2



CF2 R = CH<sub>3</sub>  
CF5 R = H

ภาพที่ 23 โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลและกิ่งของตัวเกลี้ยง

โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ anthraquinone (CF1), xanthone (CT1-CT6 และ CF4-CF6) และ tocotrienol (CF2 และ CF5) ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารบริสุทธิ์ที่ทดสอบกับเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดคือ ชนิดคือ มะเร็งตับ (HEP-G2) มะเร็งลำไส้ (SW-620) มะเร็งปอด (CHARGO) มะเร็งกระเพาะอาหาร (KATO-3) และมะเร็งเต้านม (BT-474) ผลการทดสอบพบว่าสารกลุ่มแซนโทนจากตัวเกลี้ยงแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งอยู่ในระดับที่ดีและดีมากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง 1,3,7-trihydroxy-2,4-di-isopropylxanthone แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิดคือ มะเร็งเต้านม (BT-474), มะเร็งปอด (CHARGO), มะเร็งตับ (HEP-G2), มะเร็งกระเพาะอาหาร (KATO-3) และ มะเร็งลำไส้ (SW-620) มากที่สุดที่ระดับ 1.05, 0.46, 0.46, 0.63 และ 3.11 g/mL ตามลำดับ

## 5.2 อภิปรายผล

จากโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยเฉพาะสารกลุ่ม xanthone ซึ่งมีความหลากหลายทางโครงสร้างโดยเฉพาะหมู่แทนที่บนวง aromatic สามารถมีหมู่ isoprenyl หรือ geranyl สลับไปมาบนวง aromatic ทั้ง 2 ข้าง ซึ่งหมู่แทนที่นี้ทำให้เกิดฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความหลากหลาย แต่เนื่องจากระดับความมีขั้วที่ใกล้เคียงกันทำให้การทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีค่อนข้างทำได้ลำบาก ต้องอาศัยวิธีการตกผลึกที่มีประสิทธิภาพและมีความสูญเสียปริมาณสารน้อยกว่า สำหรับผลการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารบริสุทธิ์ทั้ง 12 ชนิด ผลการทดสอบพบว่าสารกลุ่มแซนโทนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด สำหรับสารกลุ่ม anthraquinone ไม่สามารถเปรียบเทียบได้เนื่องจากในงานวิจัยนี้สามารถแยกสารกลุ่ม anthraquinone ได้เพียงชนิดเดียวคือ CF1 ทำให้มีตัวอย่างที่ไม่มากพอที่จะทำการเปรียบเทียบได้ สำหรับสารกลุ่ม tocotrienol ทั้งสองชนิดที่แยกได้คือ CF2 และ CF5 สารกลุ่มนี้เป็นอนุพันธ์ของวิตามิน อี ซึ่งไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อยู่แล้วซึ่งฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมน่าจะเป็นการต้านสารอนุมูลอิสระมากกว่า

## 5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการแยกสารสกัดทั้งในส่วนผลและกิ่ง พบว่ามีส่วนสกัดย่อยที่น่าสนใจอีกหลายส่วนสกัด แต่เนื่องจากปริมาณของวัตถุดิบเก็บตัวอย่างมาในปริมาณที่ไม่มากพอทำให้การทำสารให้บริสุทธิ์ไม่สามารถเกิดประสิทธิภาพได้อย่างเต็มที่เนื่องจากมีการสูญเสียในระหว่างการแยก ซึ่งควรที่จะเพิ่มปริมาณของพืชที่ใช้ในการสกัดและควรที่จะเปรียบเทียบปริมาณชนิดของสารบริสุทธิ์ในแต่ละเดือนแต่ละช่วงฤดูกาล อีกทั้งควรลองศึกษาส่วนอื่นๆ เช่น รากเป็นต้น เพื่อให้เกิดองค์ความรู้ที่ครอบคลุมสำหรับฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าจะเหมาะสมสำหรับสารบริสุทธิ์ทั้ง 12 ชนิดที่แยกได้ควรจะเป็นการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องด้วยเมื่อพิจารณาโครงสร้างและรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระที่ดี และจากข้อมูลการต้านสารอนุมูลอิสระที่ฟังได้น่าจะมีการพัฒนาต่อยอดองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยชิ้นนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับเครื่องสำอางเนื่องจากมีการพบสารกลุ่มวิตามินอี และสารกลุ่ม xanthone ซึ่งสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ และถ้าหากมีการผสมผสานกับคุณสมบัติในการบำรุงผิวของวิตามินอี น่าจะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ที่สามารถใช้ได้เชิงพาณิชย์ ซึ่งทางคณะผู้วิจัยจะได้ดำเนินงานวิจัยต่อยอดในปีงบประมาณถัดไป

## บรรณานุกรม

- [1] <http://www.manager.co.th/qol/viewnews.aspx?NewsID=9560000014084> : เข้าถึงข้อมูลเมื่อวันที่ 3 มีนาคม 2557
- [2] มะเร็งวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย. **ทำความเข้าใจกับโรคมะเร็งกันเถอะ**. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ:มะเร็งวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย; 2552
- [3] <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/knowledgeinfo.php?id=176>: เข้าถึงข้อมูลเมื่อวันที่ 3 มีนาคม 2557
- [4] ดร. ปาริณกุล ตั้งสุขฤทัย. **ตำรับยาไทยกับโรคมะเร็ง**. หมออนามัย 2553 ปีที่ 20 ฉบับที่ 2 หน้า 69-72
- [5] Duan Y., Dai Y., Chen L., Liu M., Li Y., Yao X. “Xanthones from the stems of *Cratoxylum cochinchinense*” **Magnetic Resonance in Chemistry**. 50 (2012): 642-645.
- [6] Udomchotphruet S., Phuwapraisirisan P., Sichaem J., Tip-Pyang S. “Xanthones from the stems of *Cratoxylum cochinchinense*” **Phytochemistry**. 73 (2012): 148-151.
- [7] Ren Y., Matthew S., Lantvit D.D., Ninh T.N., Chai H., Fuchs J.R., Soejarto D.D., De Blanco E.J.C., Swanson S.M., Kinghorn A.D. “Cytotoxic and NF- $\kappa$ B inhibitory constituents of the stems of *Cratoxylum cochinchinense* and their semisynthetic analogues” **Journal of Natural Products**. 74 (2011): 1117-1125.
- [8] Nguyen H.D., Trinh B.T.D., Nguyen N.K., Dang S.V., Pham H.D., Nguyen L.-H.D. “Xanthones from the twigs of *Cratoxylum cochinchinense*” (2011), **Phytochemistry Letters**. 4 (2011): 48-51.
- [9] Jin S.-L., Wang N.-L., Zhang X., Dai Y., Yao X.-S. “Two new xanthones from the stems of *Cratoxylum cochinchinense*” **Journal of Asian Natural Products Research**. 11 (2009): 322-325.
- [10] Mahabusarakam W., Rattanaburi S., Phongpaichit S., Kanjana-Opas “Antibacterial and cytotoxic xanthones from *Cratoxylum cochinchinense*” **Phytochemistry Letters**. 1 (2008): 211-214.
- [11] Nagem T.J. and Faria T.D.J. “Quinonoid and other constituents of *Vismia martiana*” **Phytochemistry**. 29 (1990): 3362-3364.
- [12] Ohnmacht S., West R., Simionescu R. and Atkinson J. “Assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR of tocotrienols” **Magn. Reson. Chem.** 46 (2008): 287-294.

[13] Dieu L.H., Nguyen and Harrison L.J. "Triterpenoids and xanthone constituents of *Cratoxylum cochinchinense*" **Phytochemistry**. 50 (1998): 471-476.

[14] Ito C., Itoigawa M., Takakura T., Ruangrunsi N., Enjo F., Tokuda H., Nishino H., and Furukawa H. "Chemical Constituents of *Garcinia fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthenes and Their Cancer Chemopreventive Activity" **Journal of Natural Products**. 66 (2003): 200-205.

[15] Mahabusarakam W., Nuangnaowarat W., and Taylor W.C. "Xanthone derivatives from *Cratoxylum cochinchinense* roots" **Phytochemistry**. 67 (2006): 470-474.

[16] Likhitwitayawuid K., Phadungcharoen T., and Krungkrai J. "Antimalarial Xanthenes from *Garcinia cowa*" **Planta Medica**. 64 (1998): 70-72.

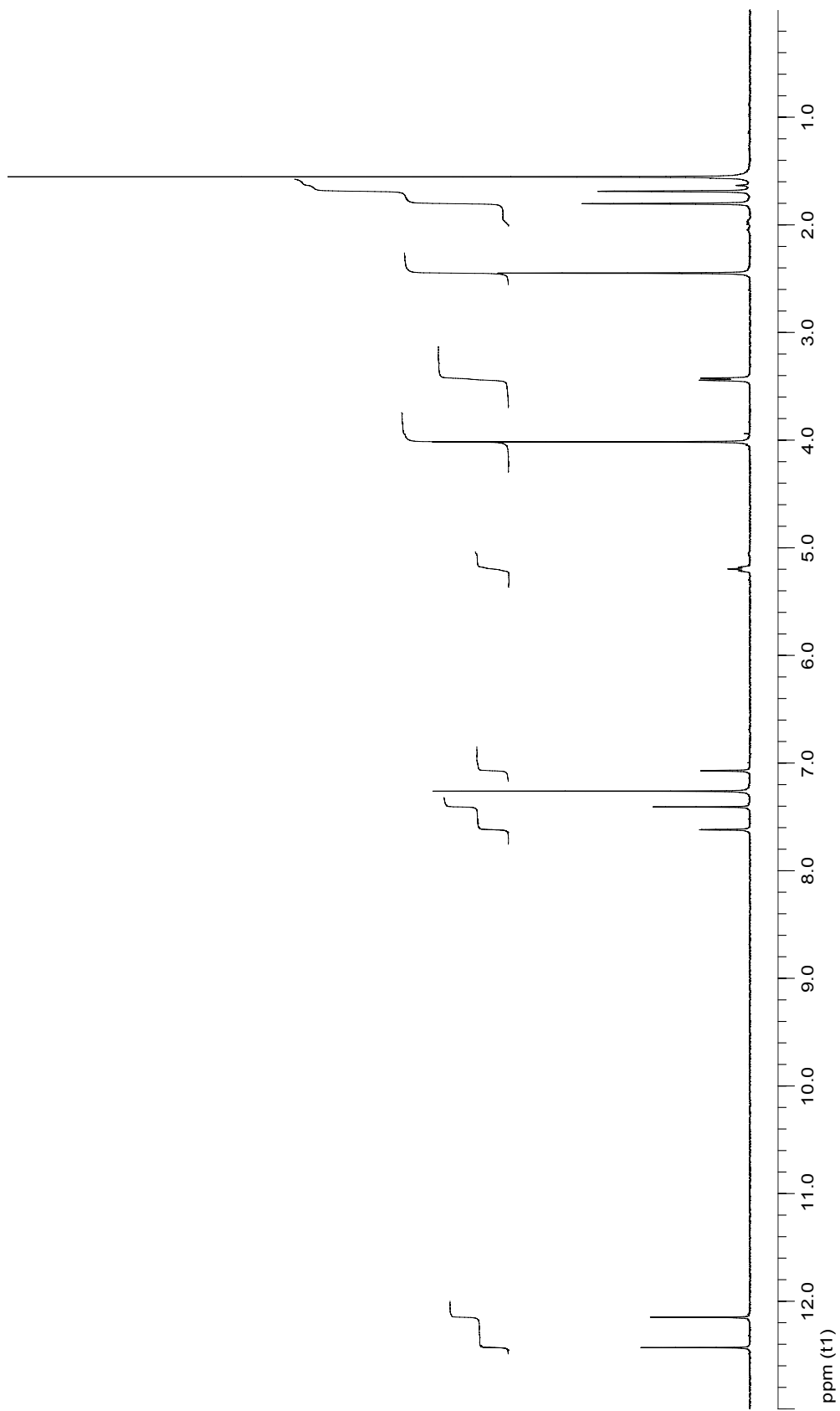
[17] Bennett G.J., Harrison L.J., Dia G.L., and Sim K.Y. "Triterpenoids, tocotrienols and xanthenes from the bark of *Cratoxylum cochinchinense*" **Phytochemistry**. 32 (1993): 1245-1251.

[18] Ren Y., Matthew S., Lantvit D.D., Ninh T.N., Chai H., Fuchs J.R., Soejarto D.D., Carcache E.J., Swanson S.M., and Kinghorn A.D. "Cytotoxic and NF- $\kappa$ B Inhibitory constituents of the stems of *Cratoxylum cochinchinense* and their semisynthetic analogues" **Journal of Natural Products**. 74 (2011): 1117-1125.

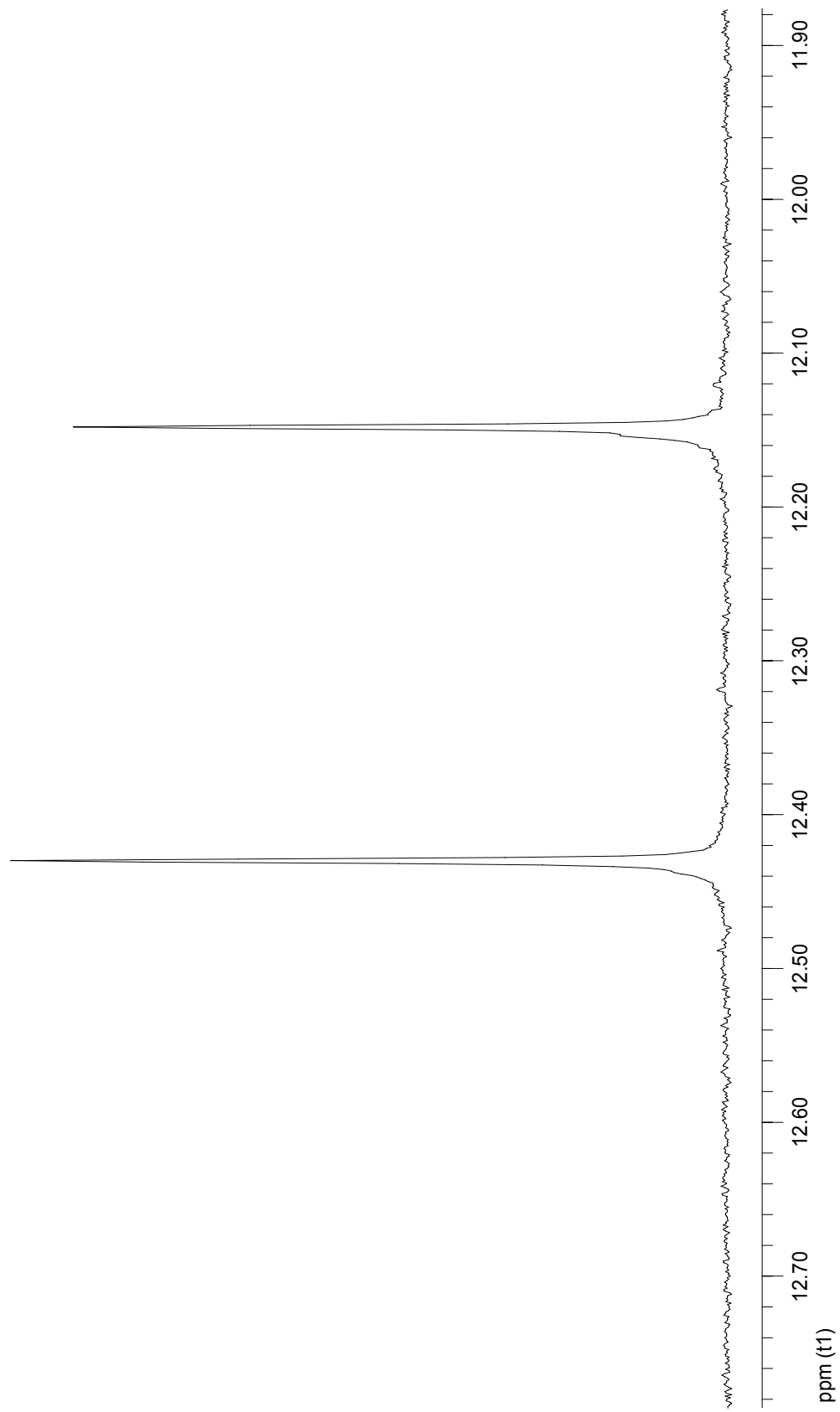
[19] Deachathai S., Mahabusarakam W., Phongpaichit S., and Taylor W.C. "Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*" **Phytochemistry**. 66 (2005): 2368-2375.

### ภาคผนวก

NMR Spectrum ของสารบริสุทธิ์จากตัวเกลี้ยง

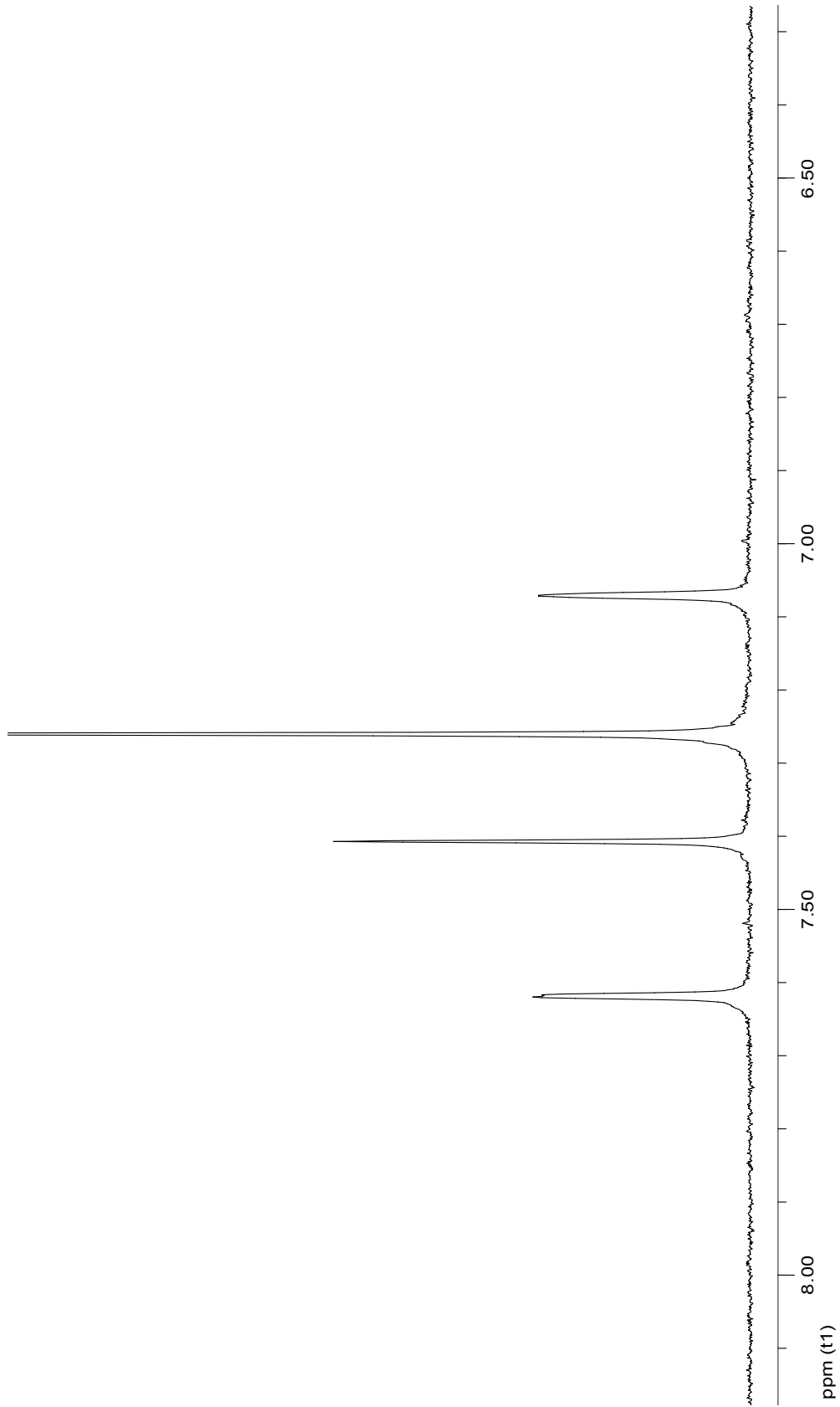


ภาพที่ 24  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)

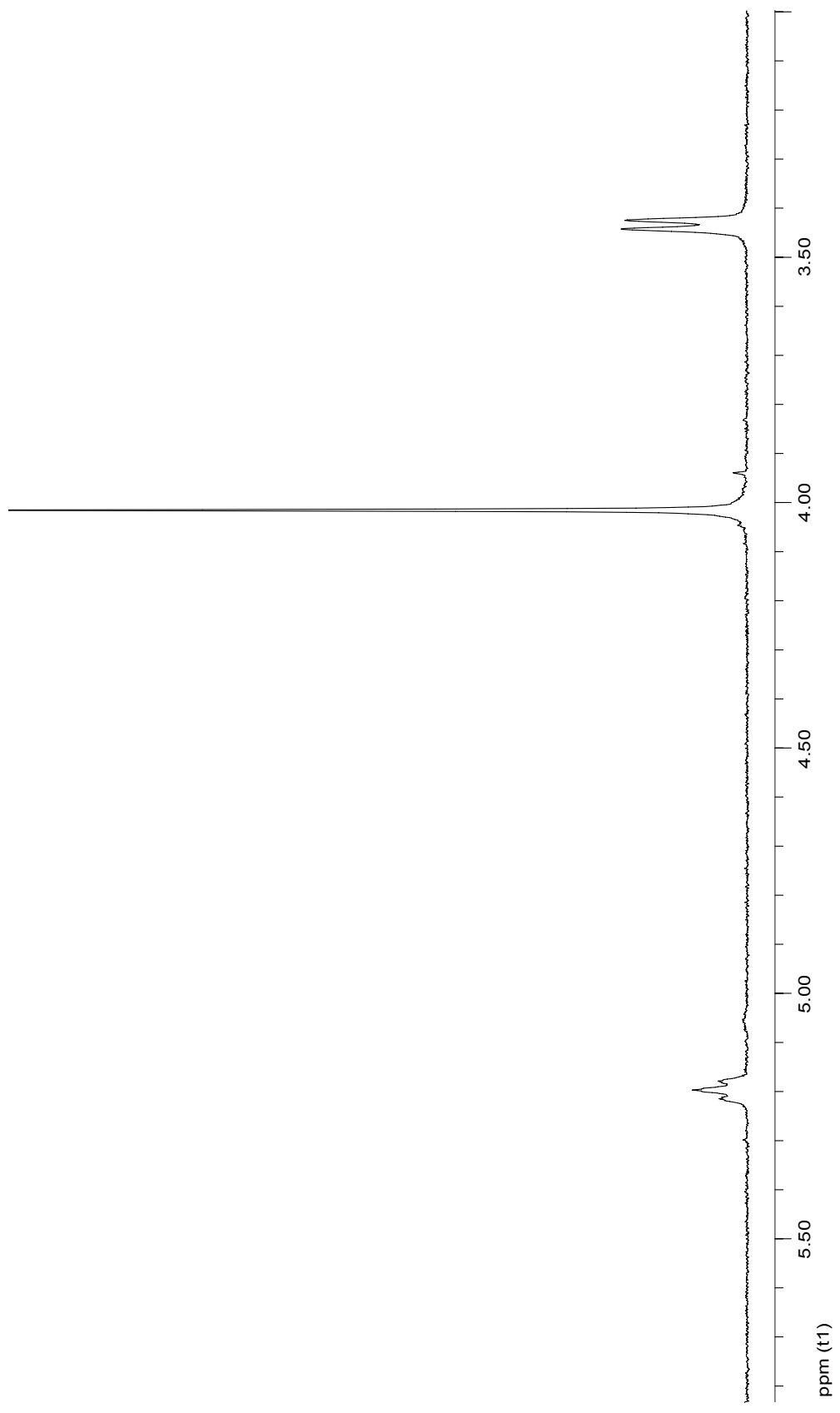


ภาพที่ 25  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)

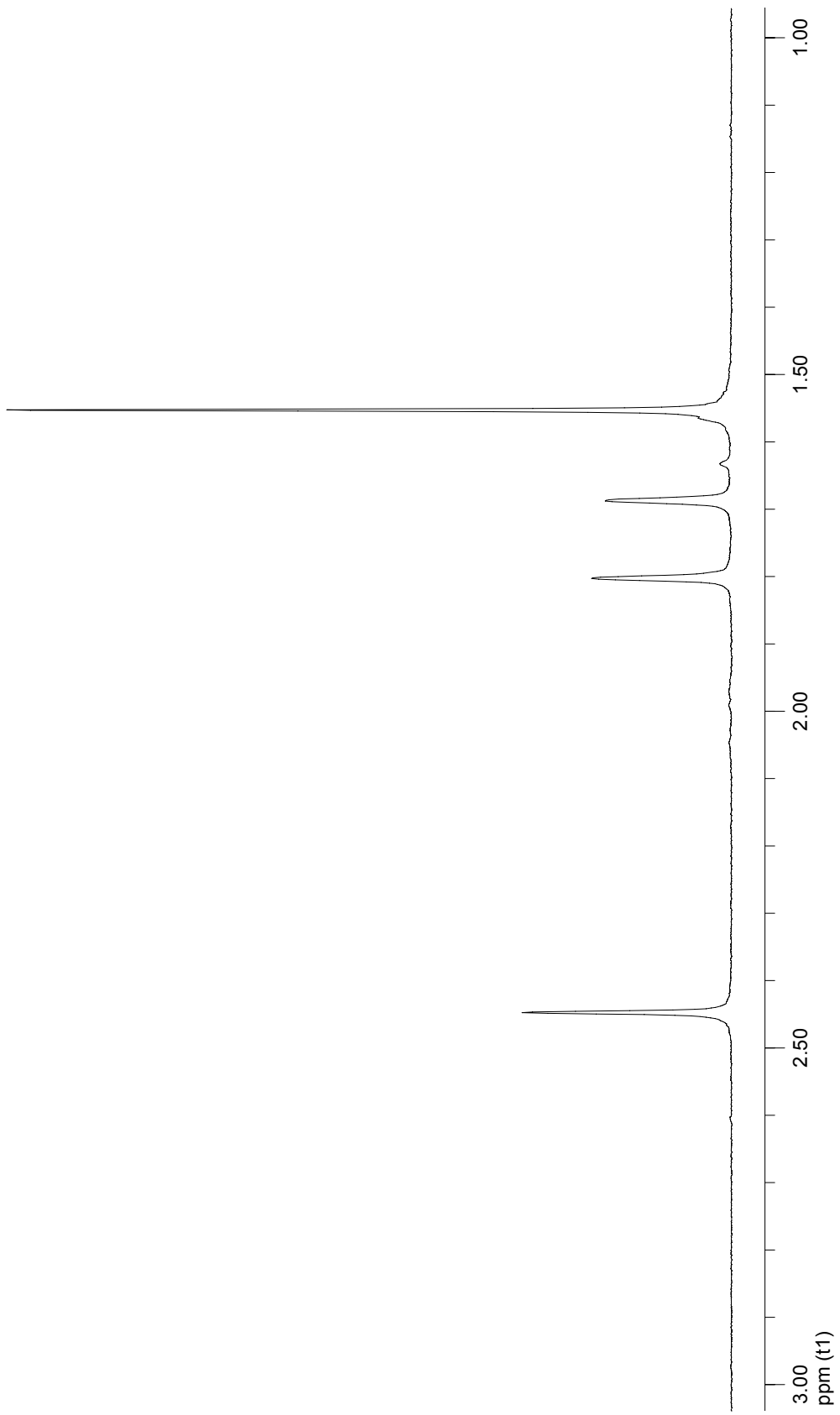




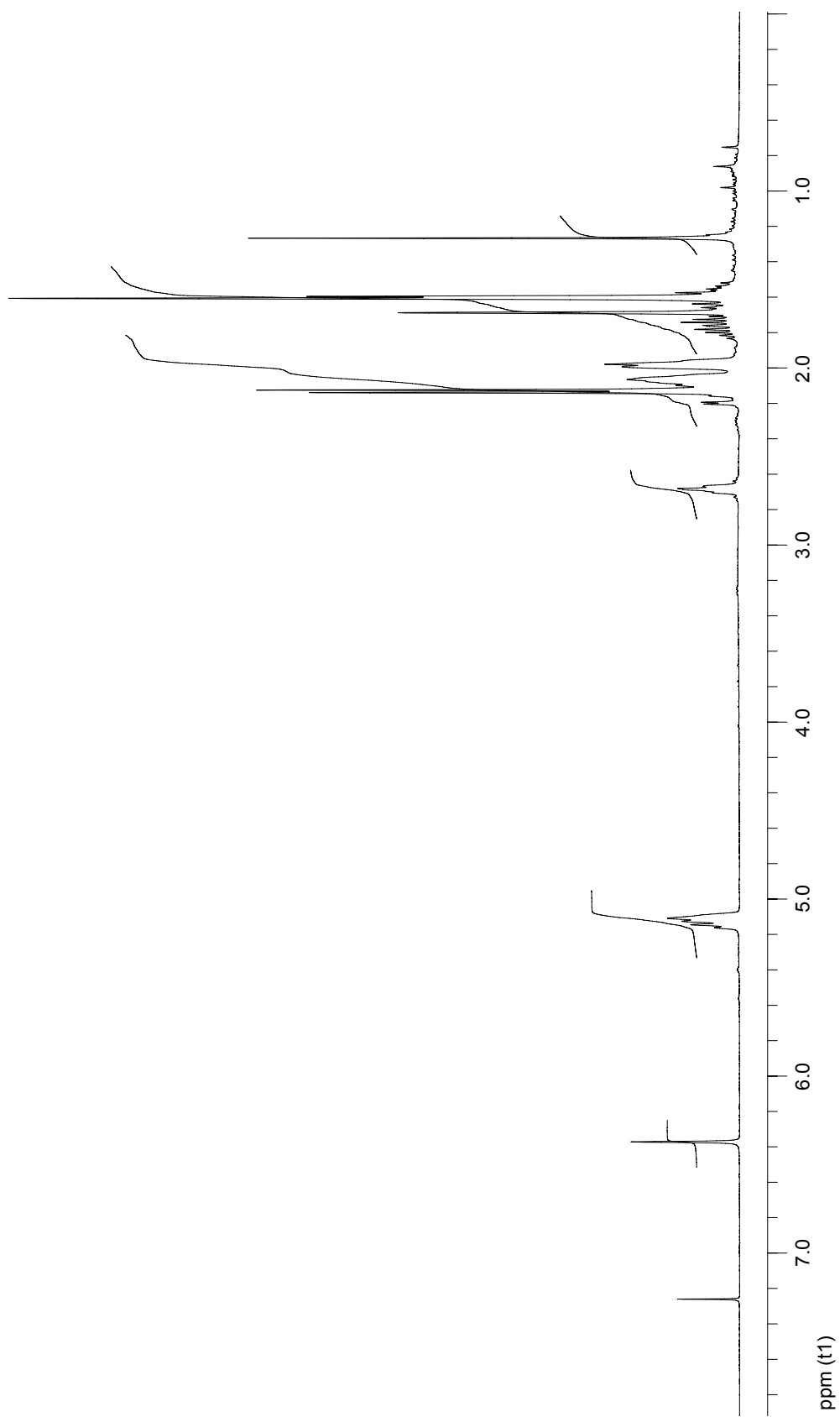
ภาพที่ 26  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)



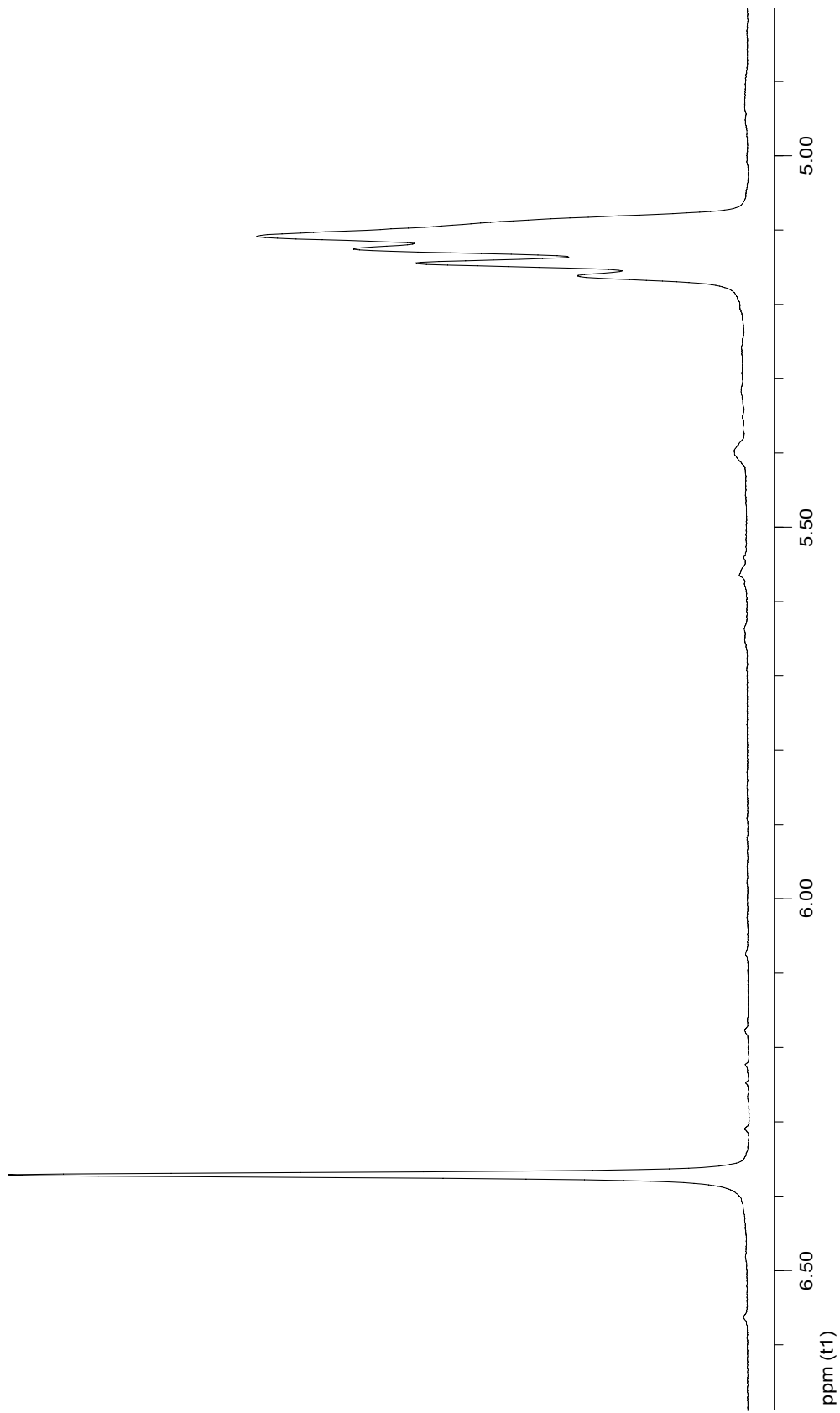
ภาพที่ 27  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)



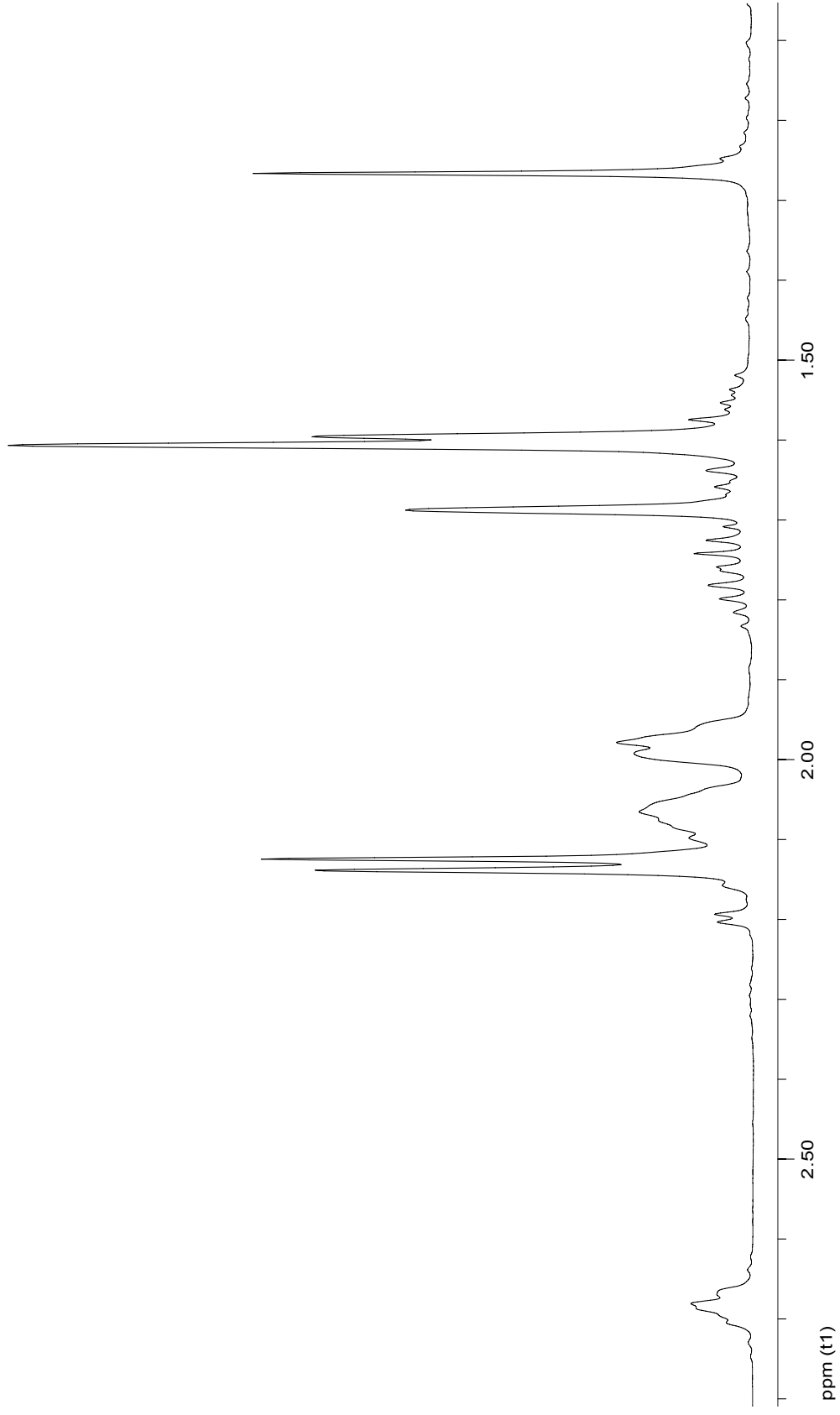
ภาพที่ 28  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Vismiaquinone A (CF1)



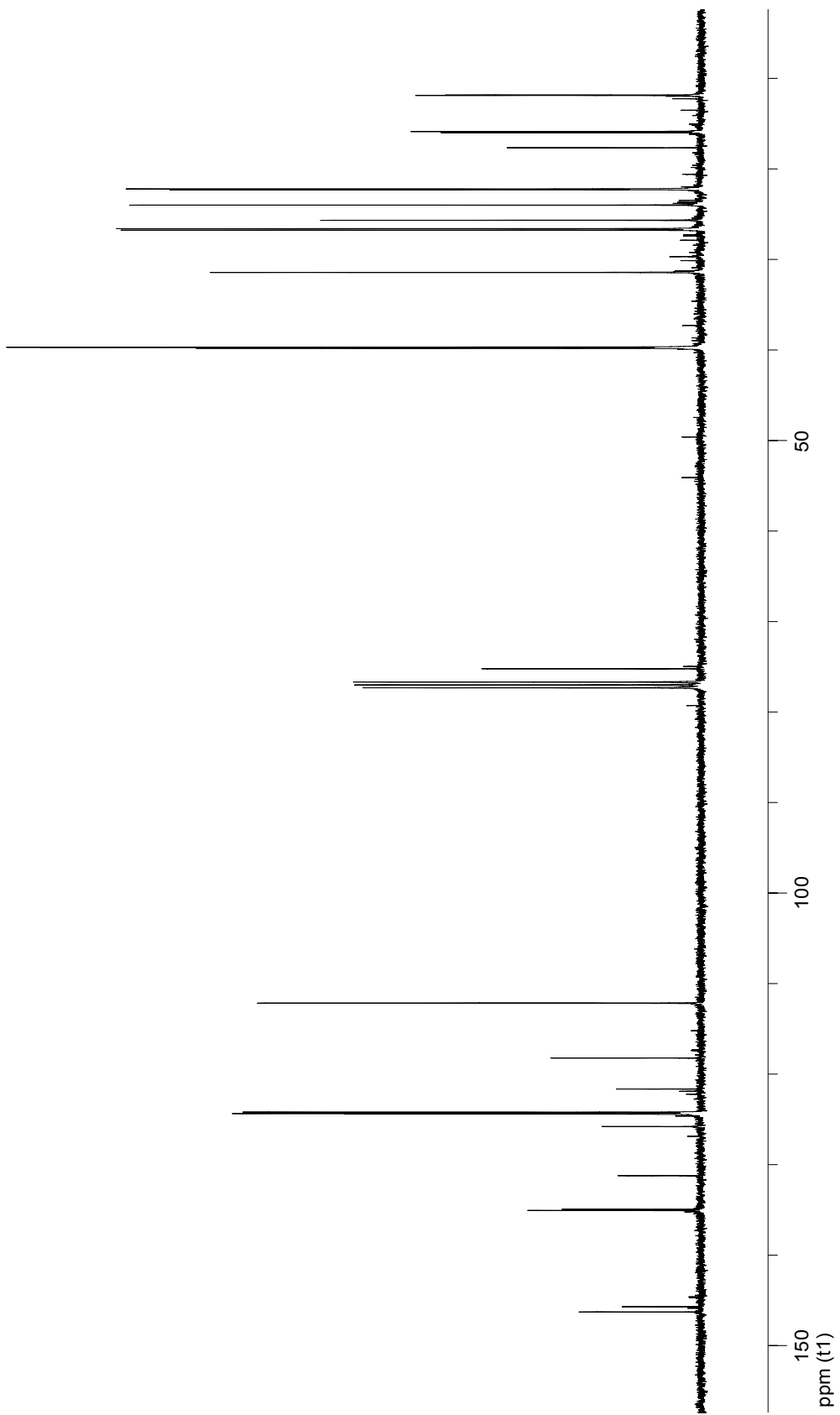
ภาพที่ 29  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)



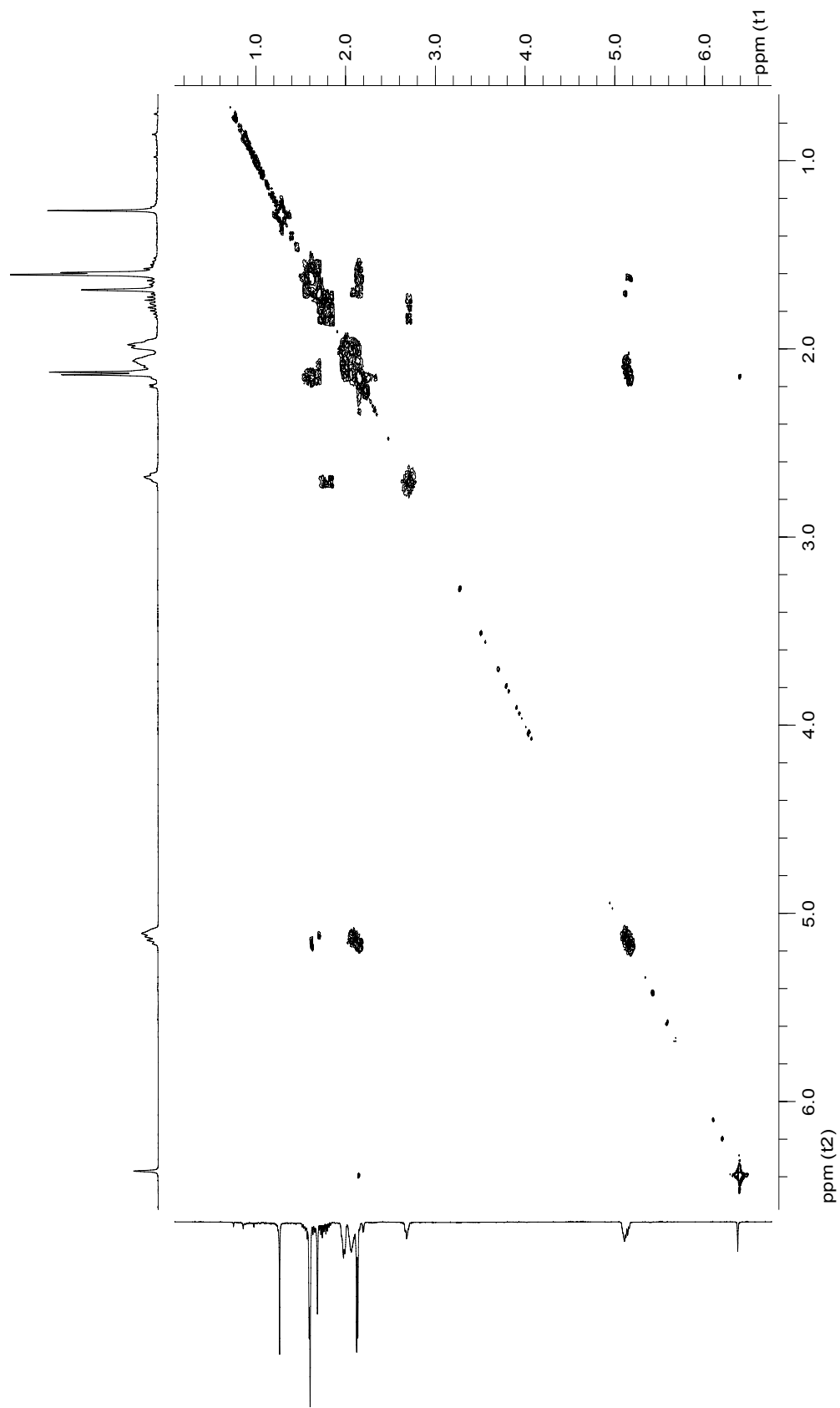
ภาพที่ 30  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)



ภาพที่ 31  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

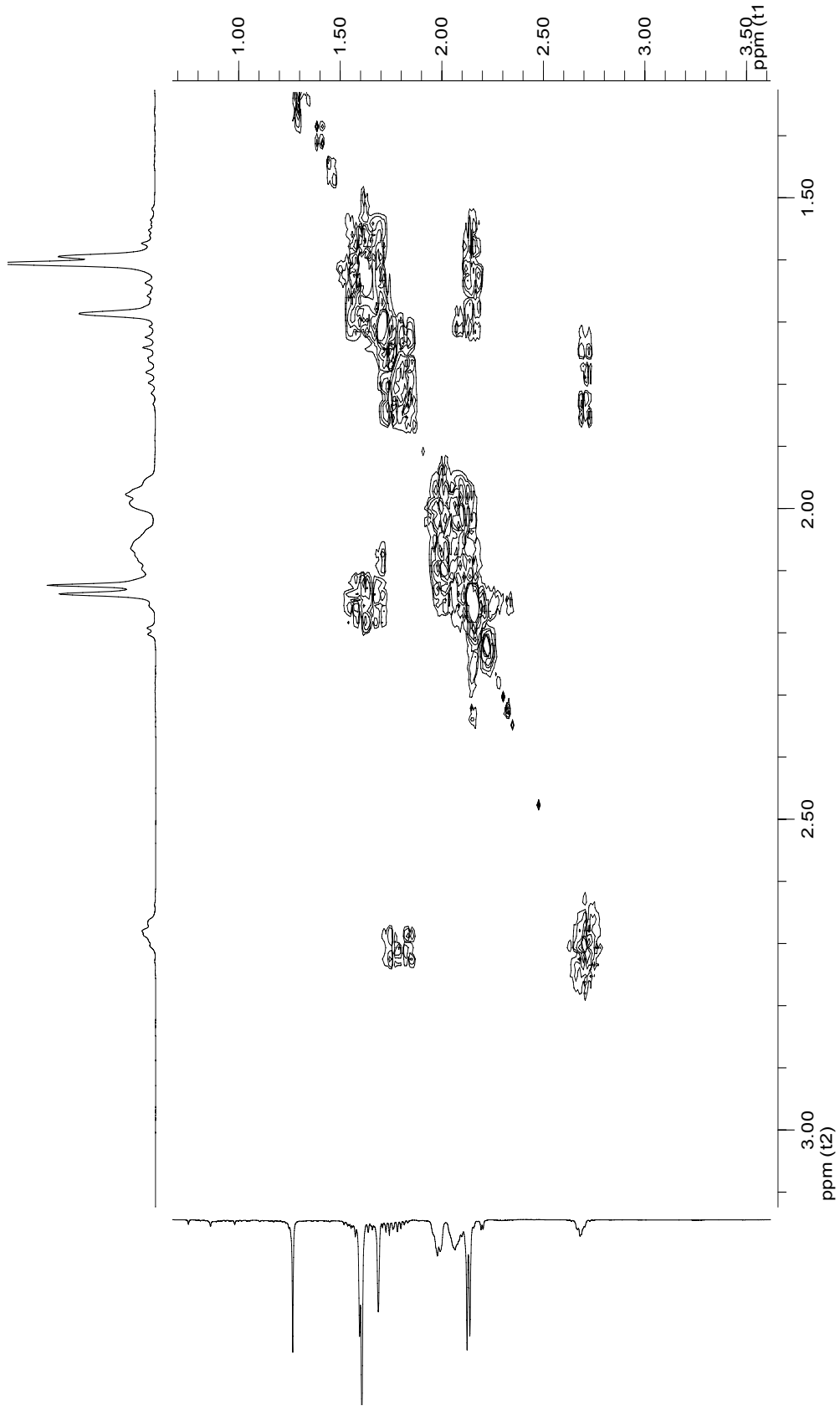


ภาพที่ 32  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

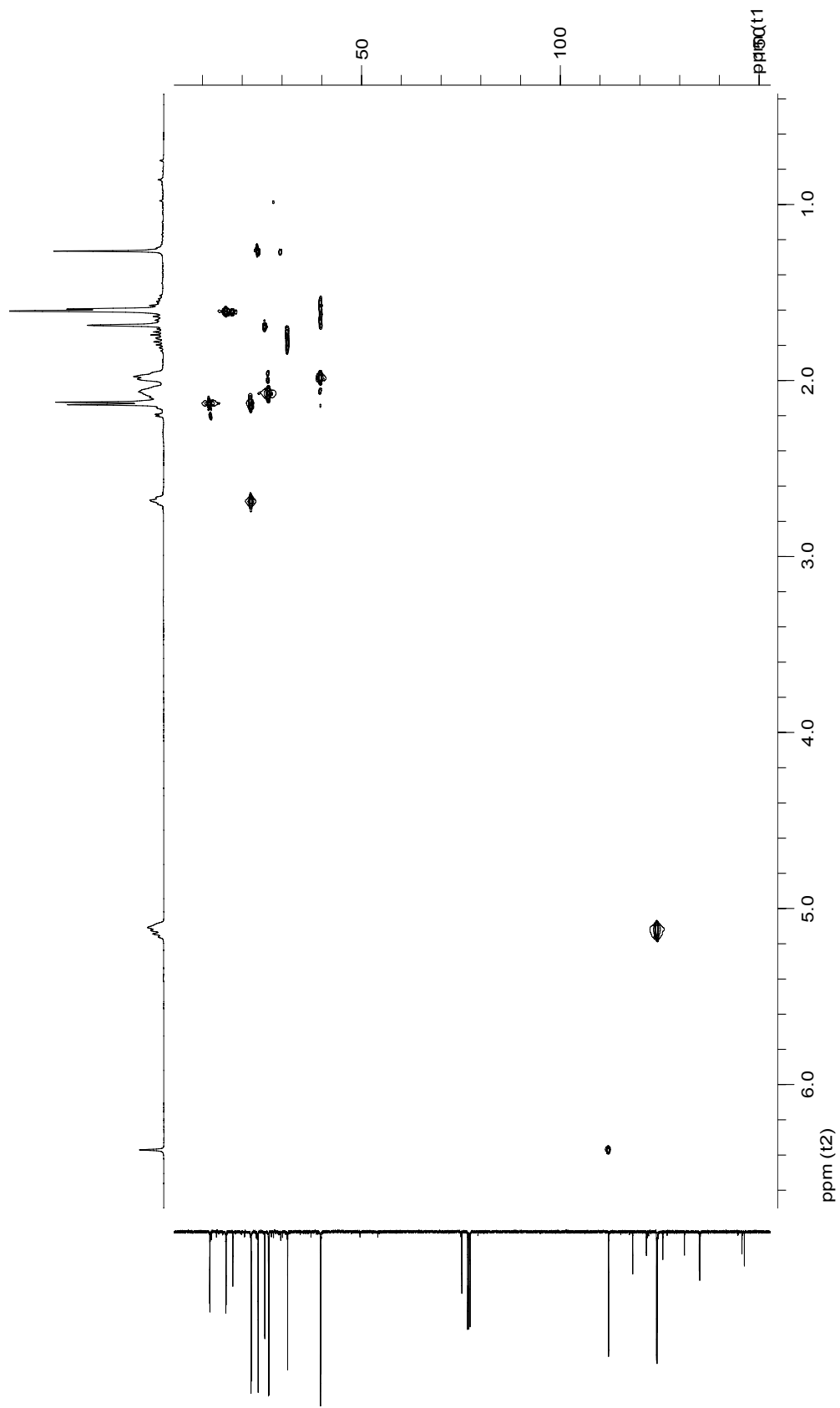


ภาพที่ 33 COSY spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

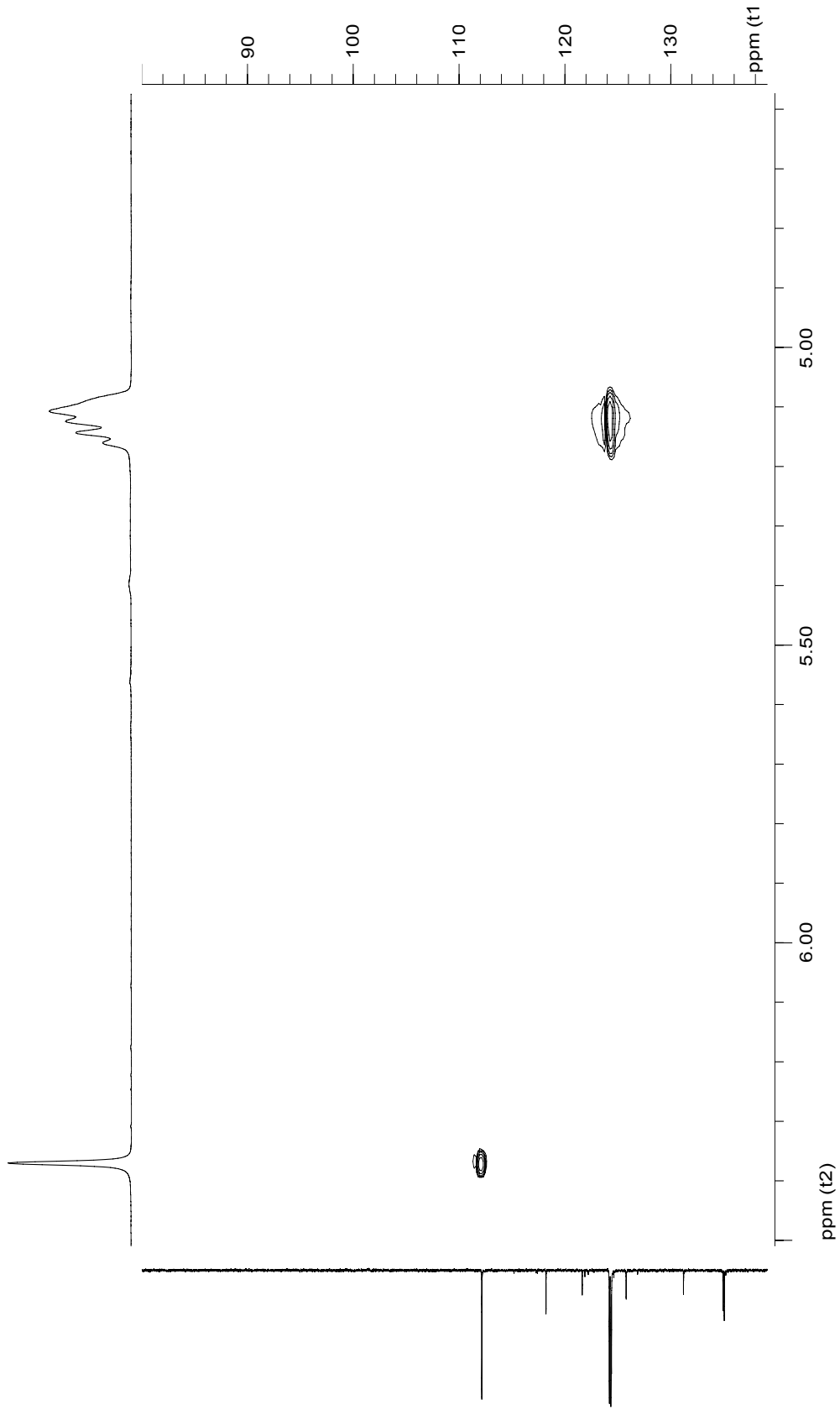




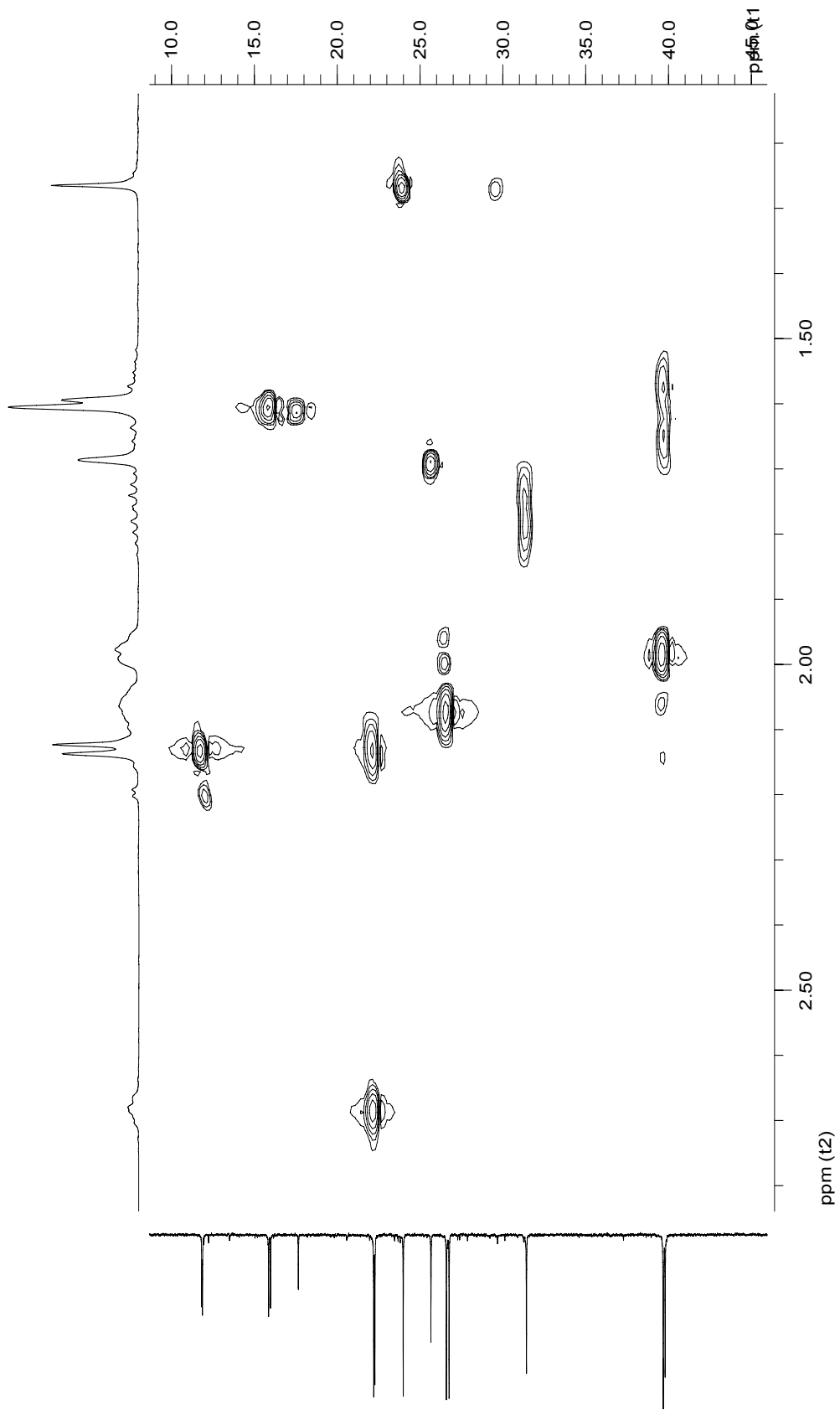
ภาพที่ 34 COSY spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)



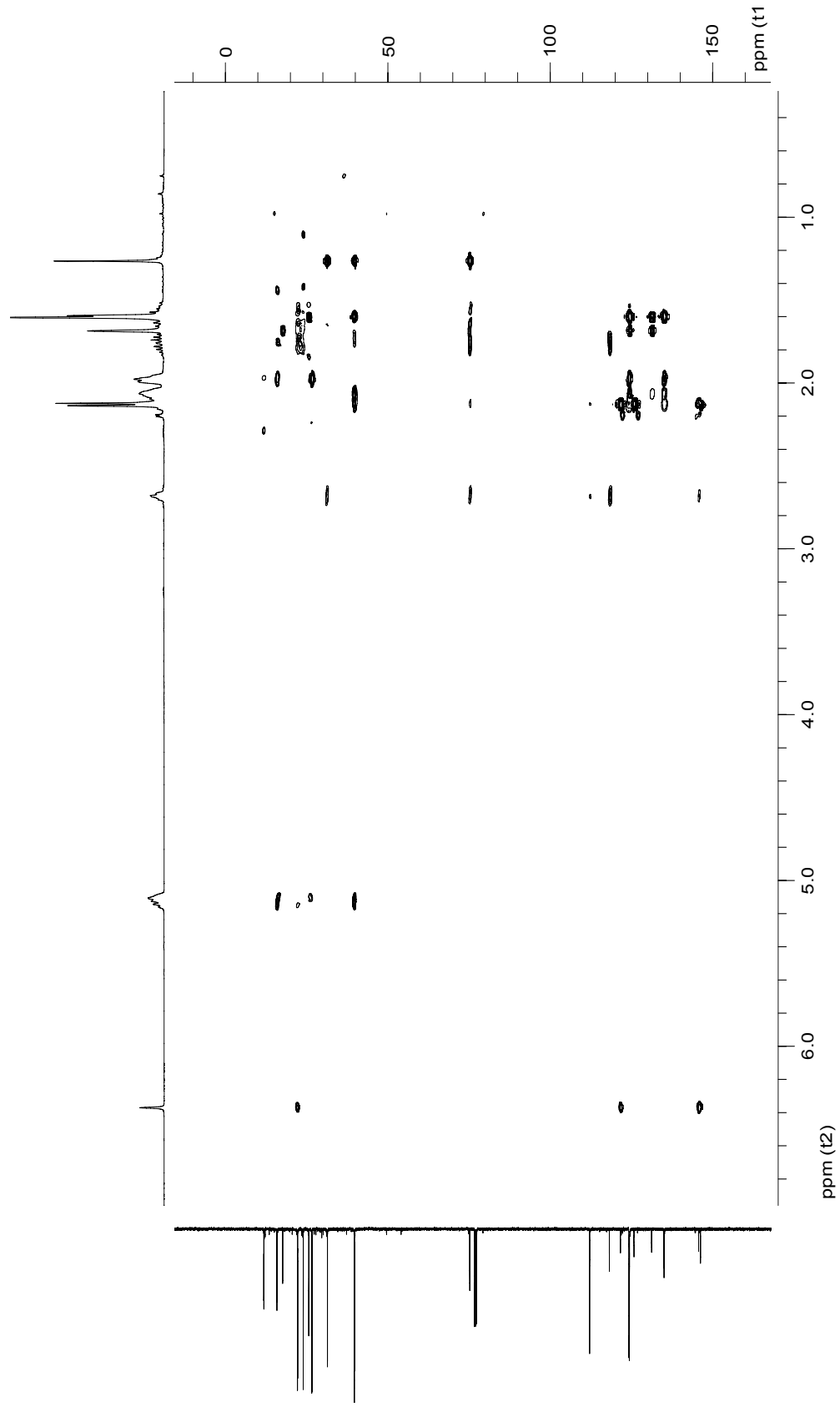
ภาพที่ 35 HSQC NMR spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)



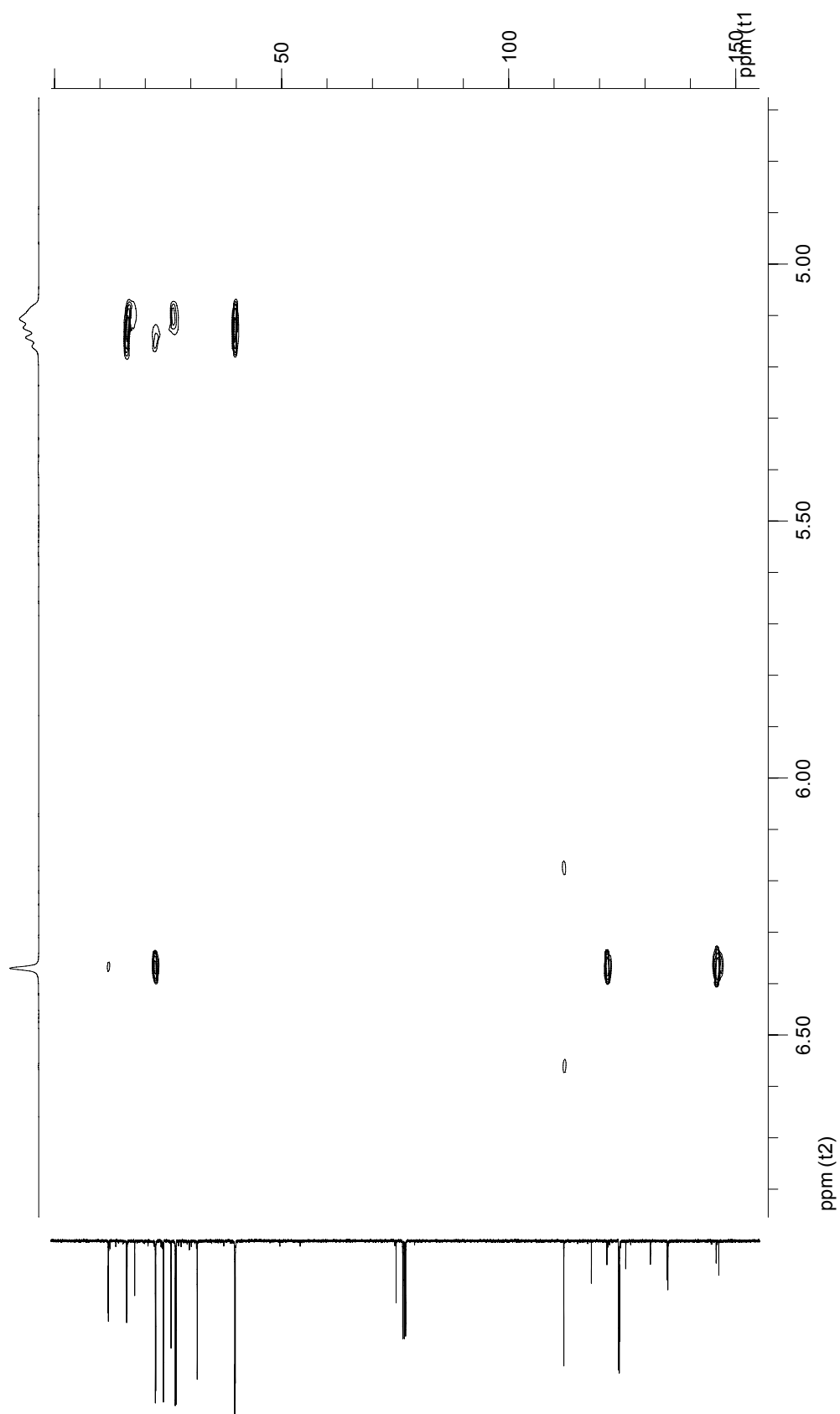
ภาพที่ 36 HSQC spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

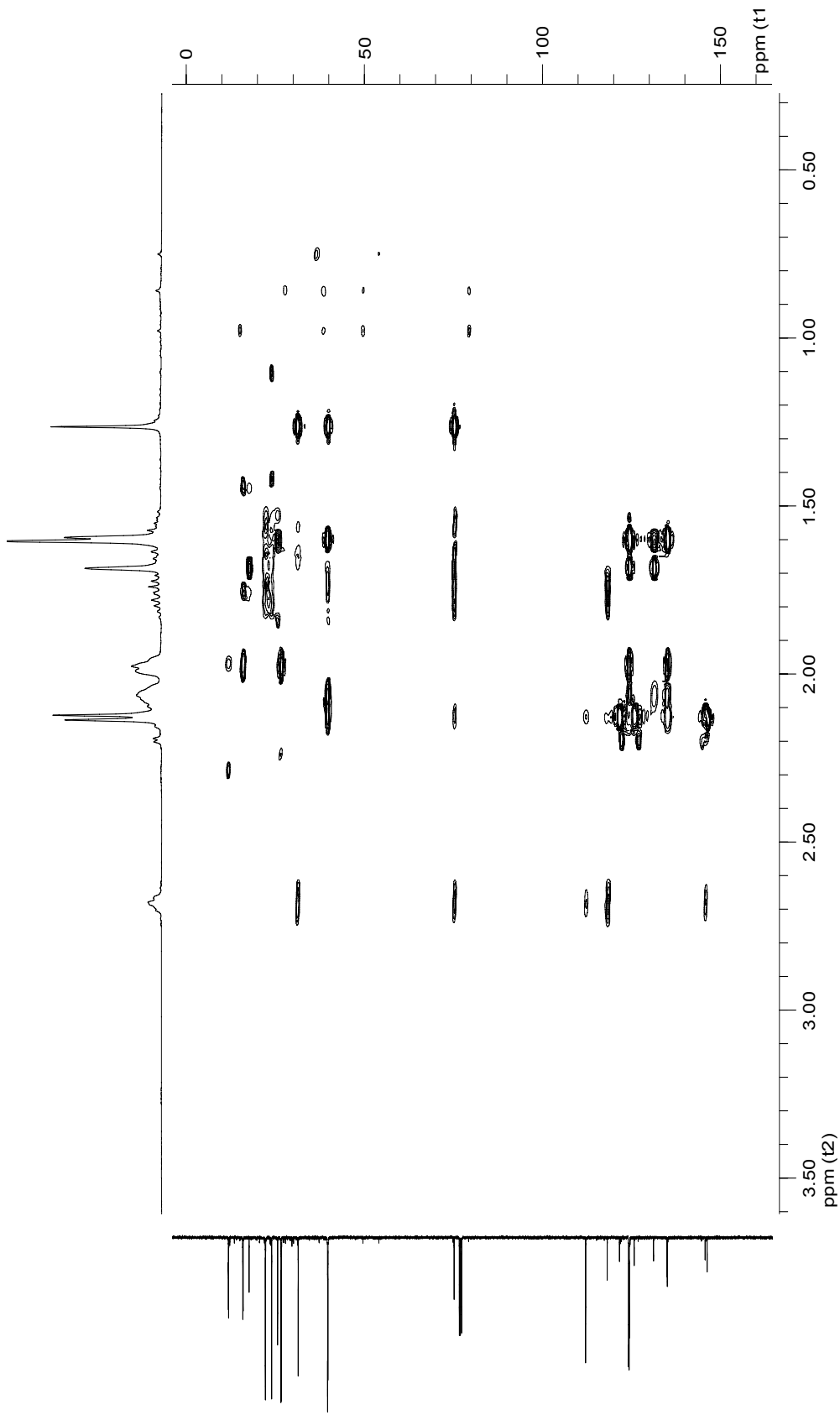


ภาพที่ 37 HMBC spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

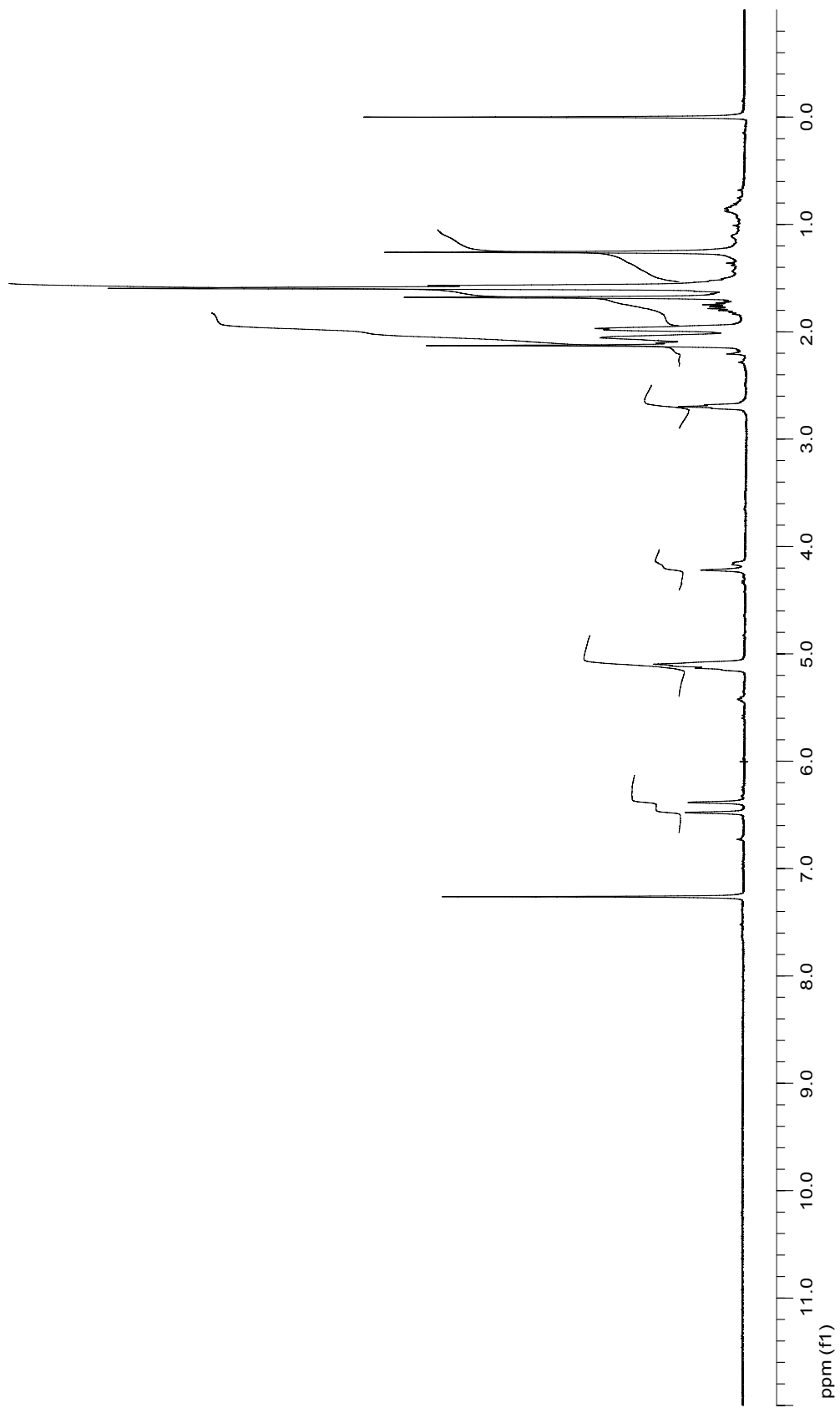


ภาพที่ 38 HMBC spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)



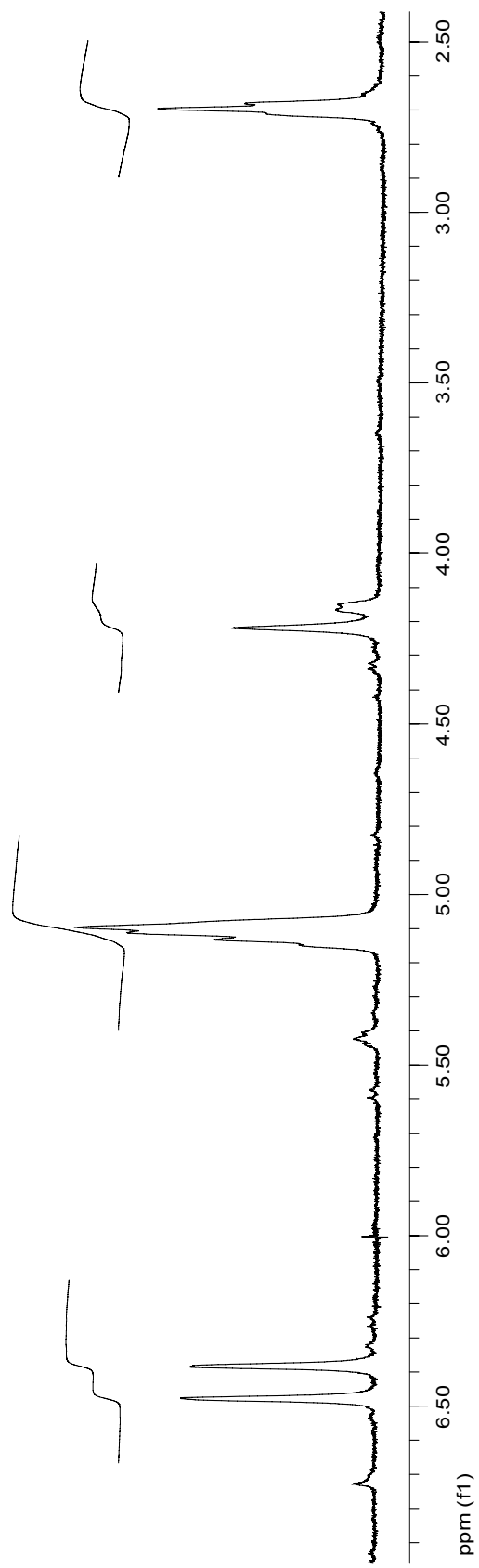


ภาพที่ 40 HMBN spectrum of  $\gamma$ -tocotrienol (CF2)

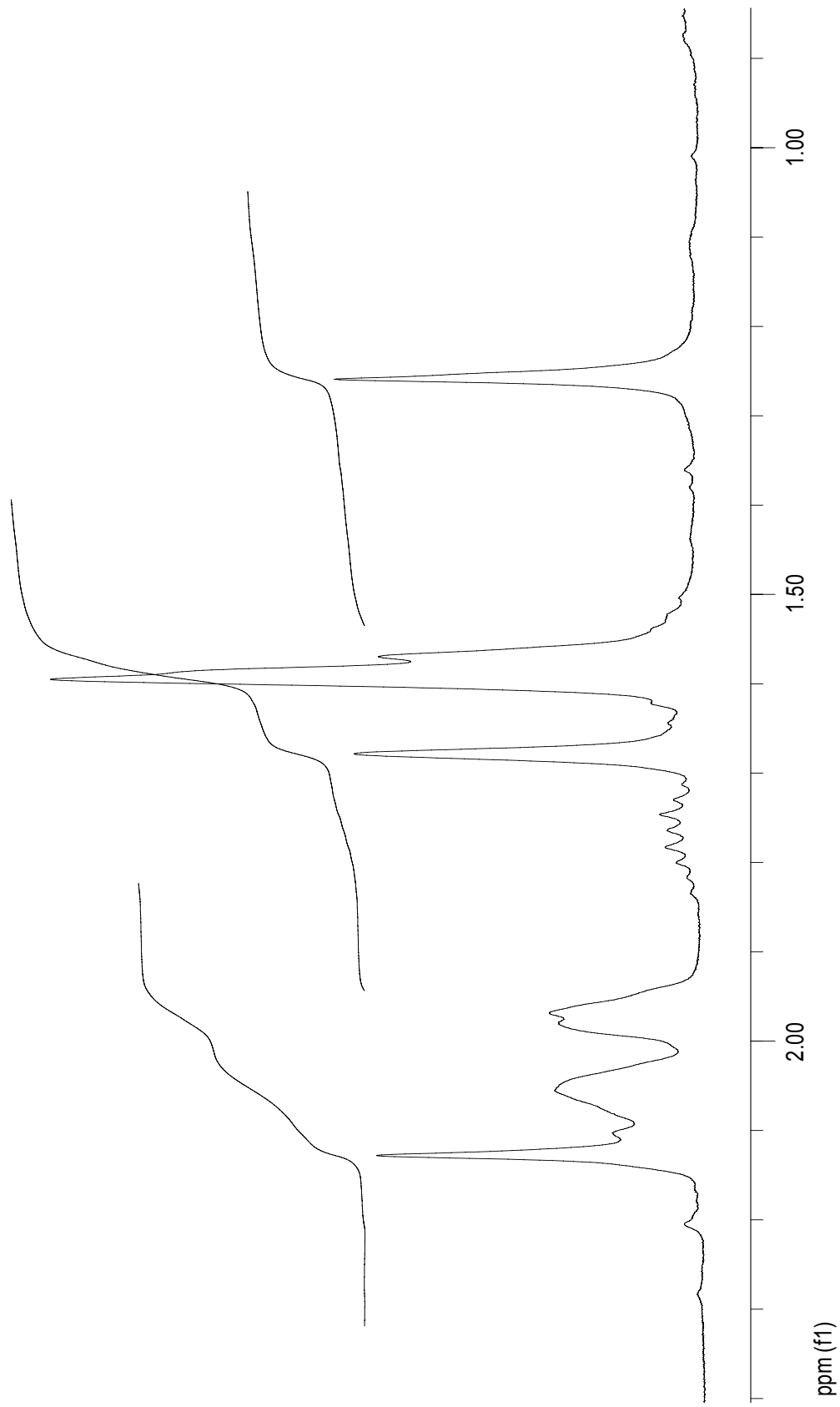


ภาพที่ 41  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\delta$ -tocotrienol (CF3)

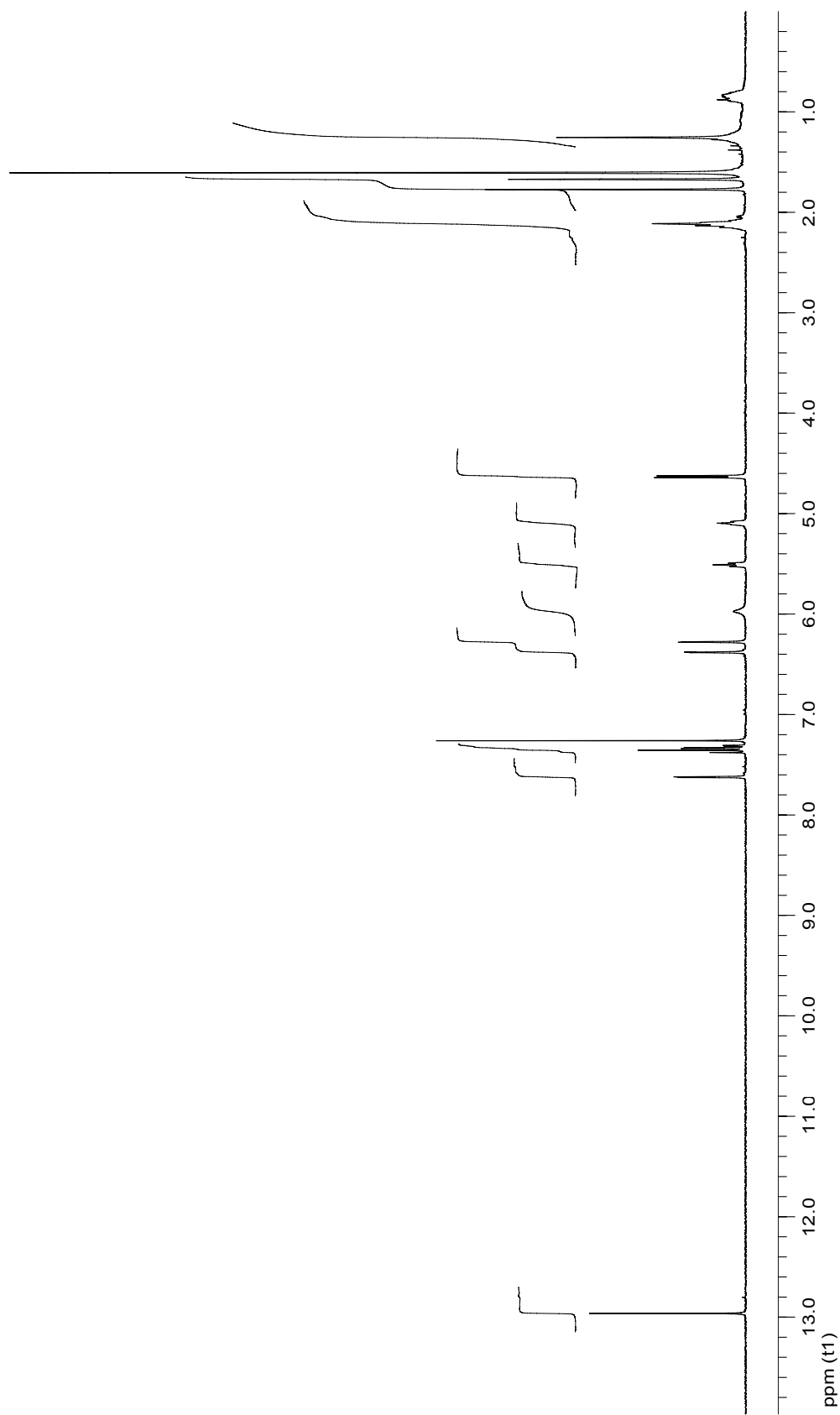




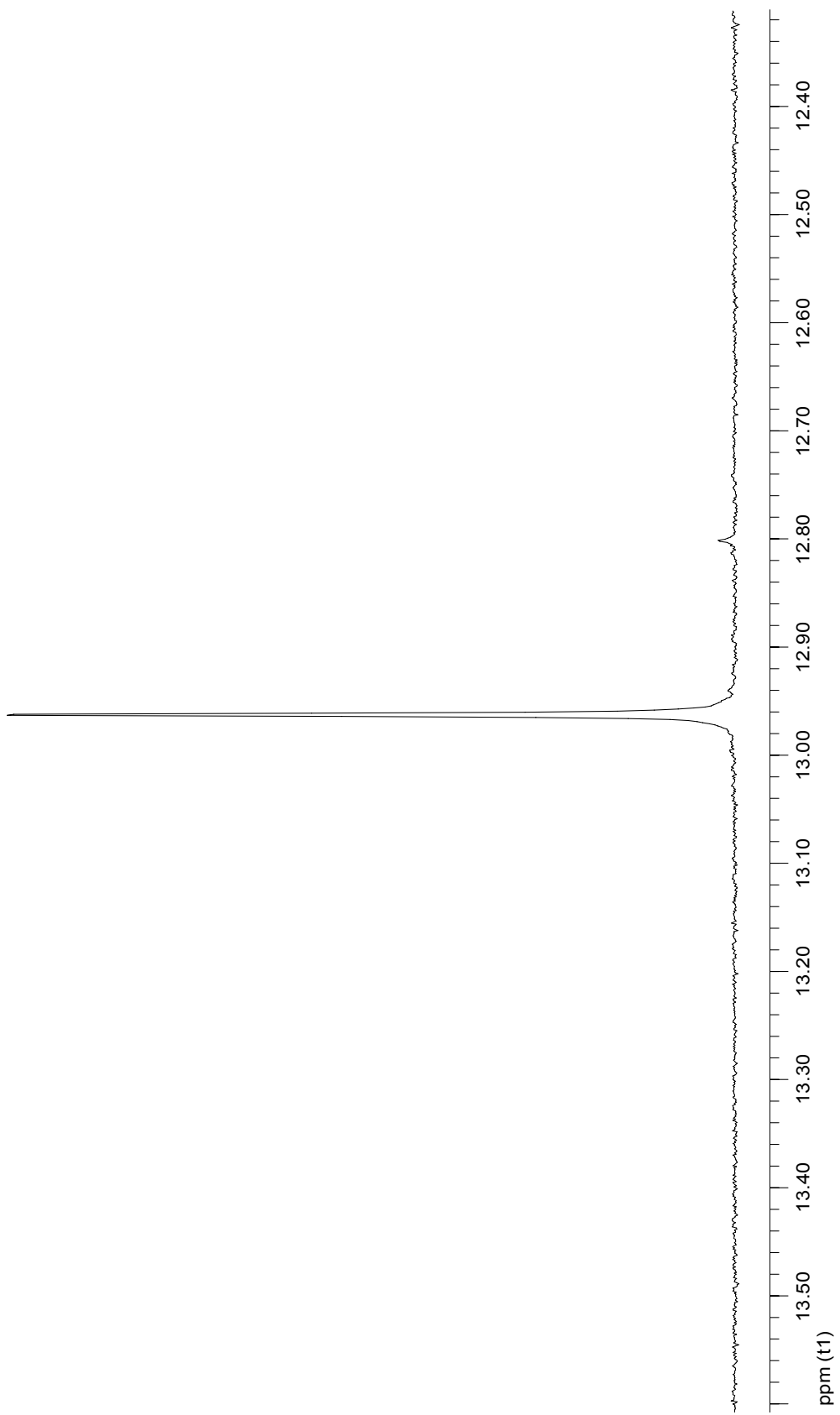
ภาพที่ 42  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\delta$ -tocotrienol (CF3)



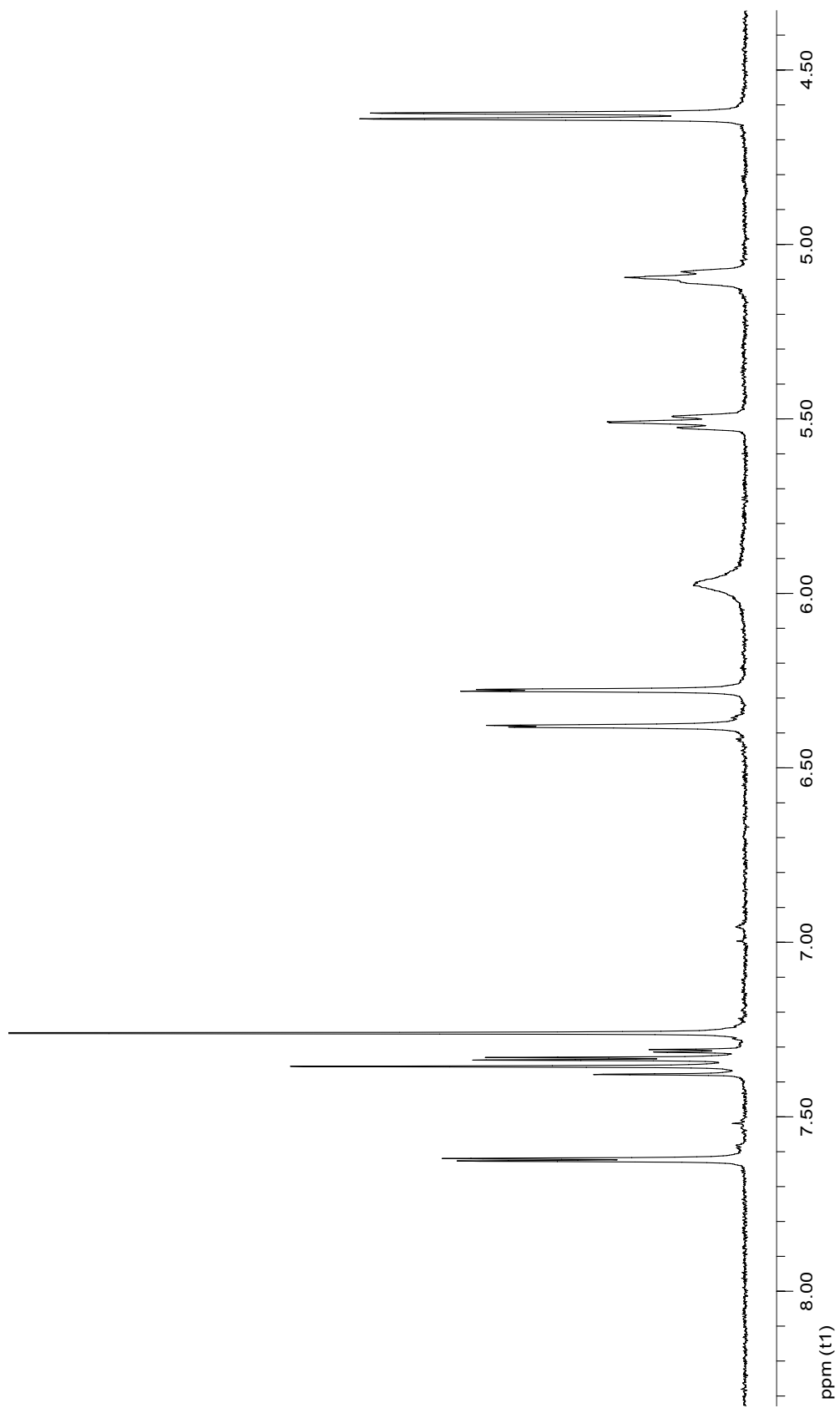
ภาพที่ 43  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\delta$ -tocotrienol (CF3)



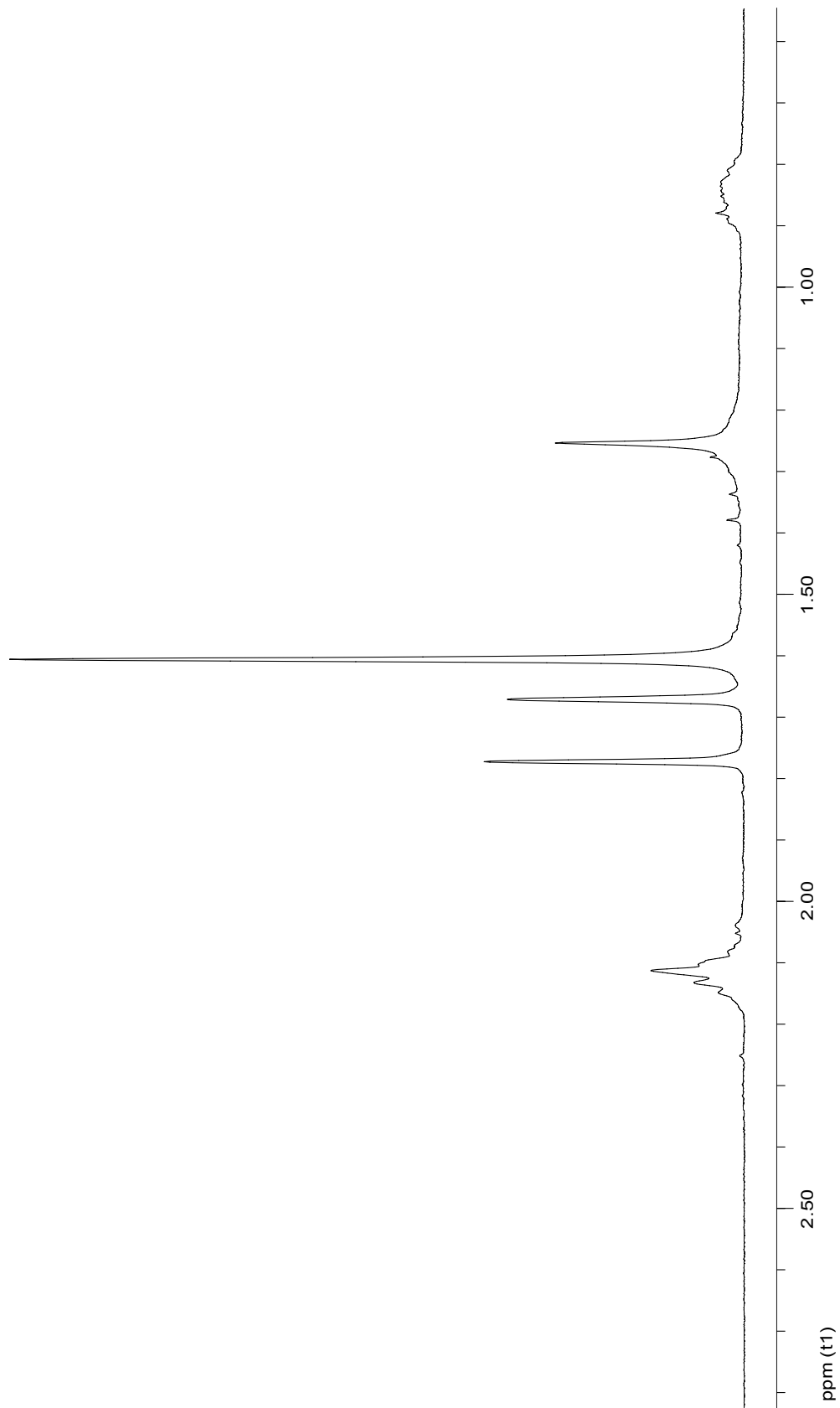
ภาพที่ 44  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)



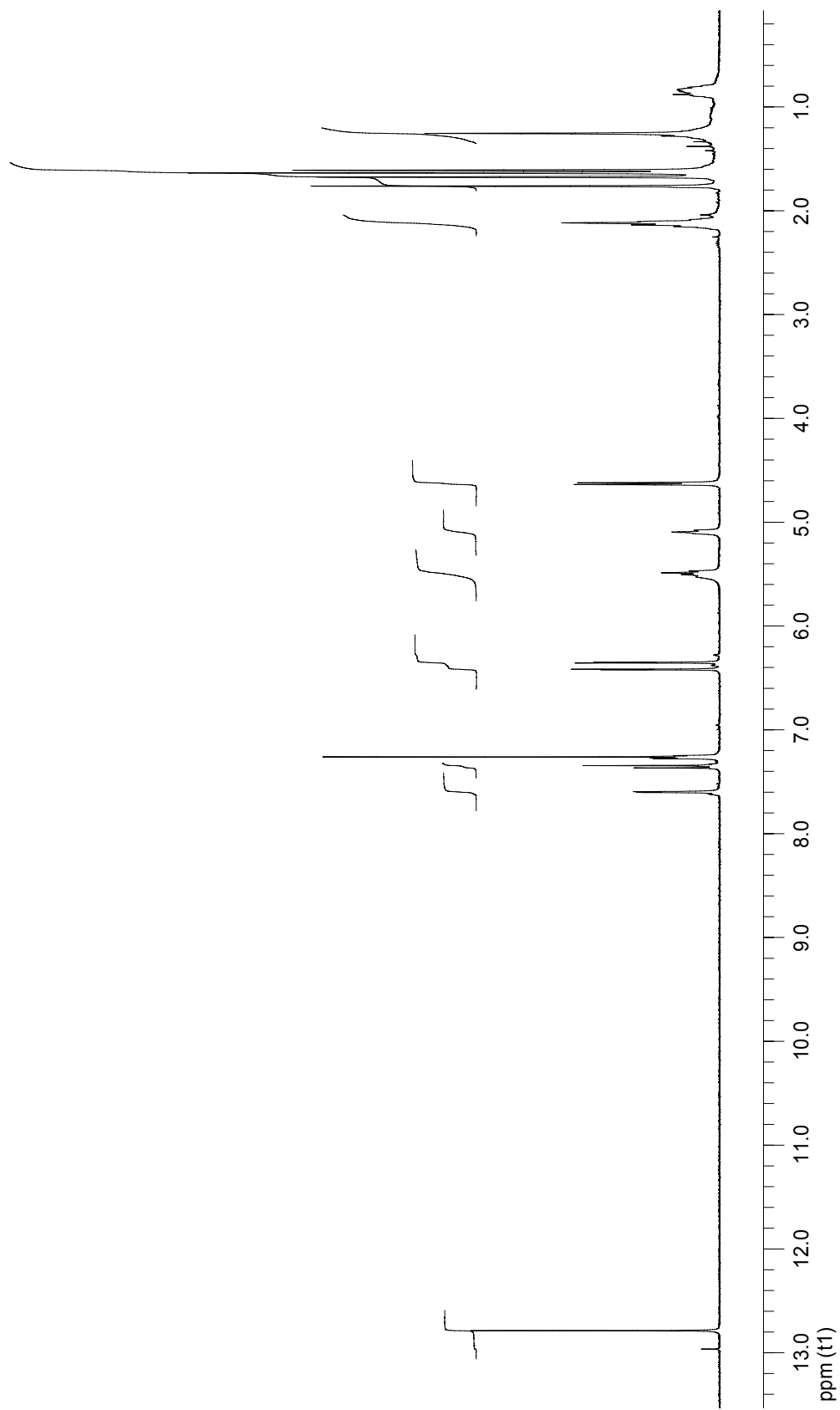
ภาพที่ 45 <sup>1</sup>H NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)



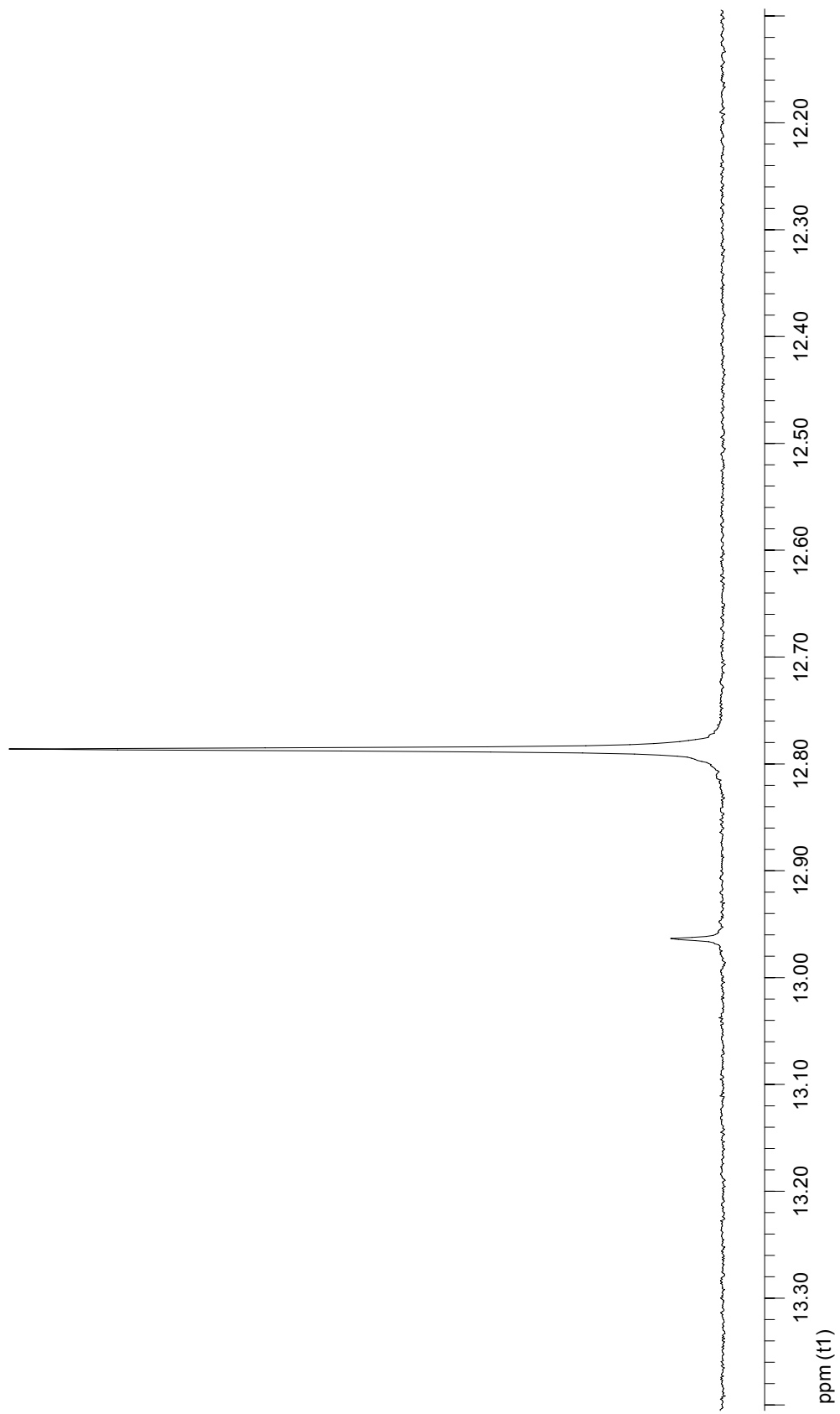
ภาพที่ 46  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)



ภาพที่ 47 <sup>1</sup>H NMR spectrum of 7-geranyloxy-1,3-dihydroxyxanthone (CF4)

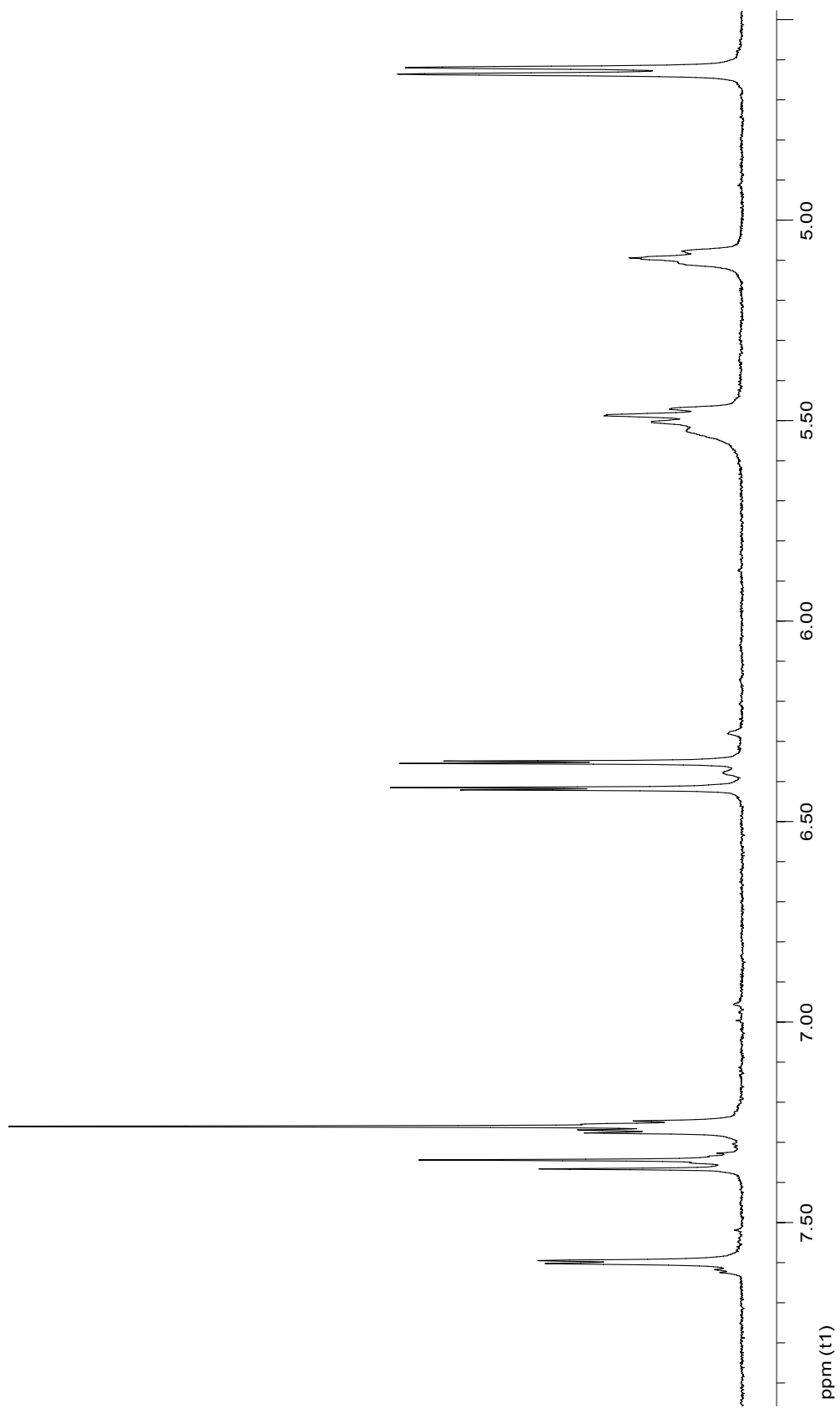


ภาพที่ 48  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinquinone G (CF5)

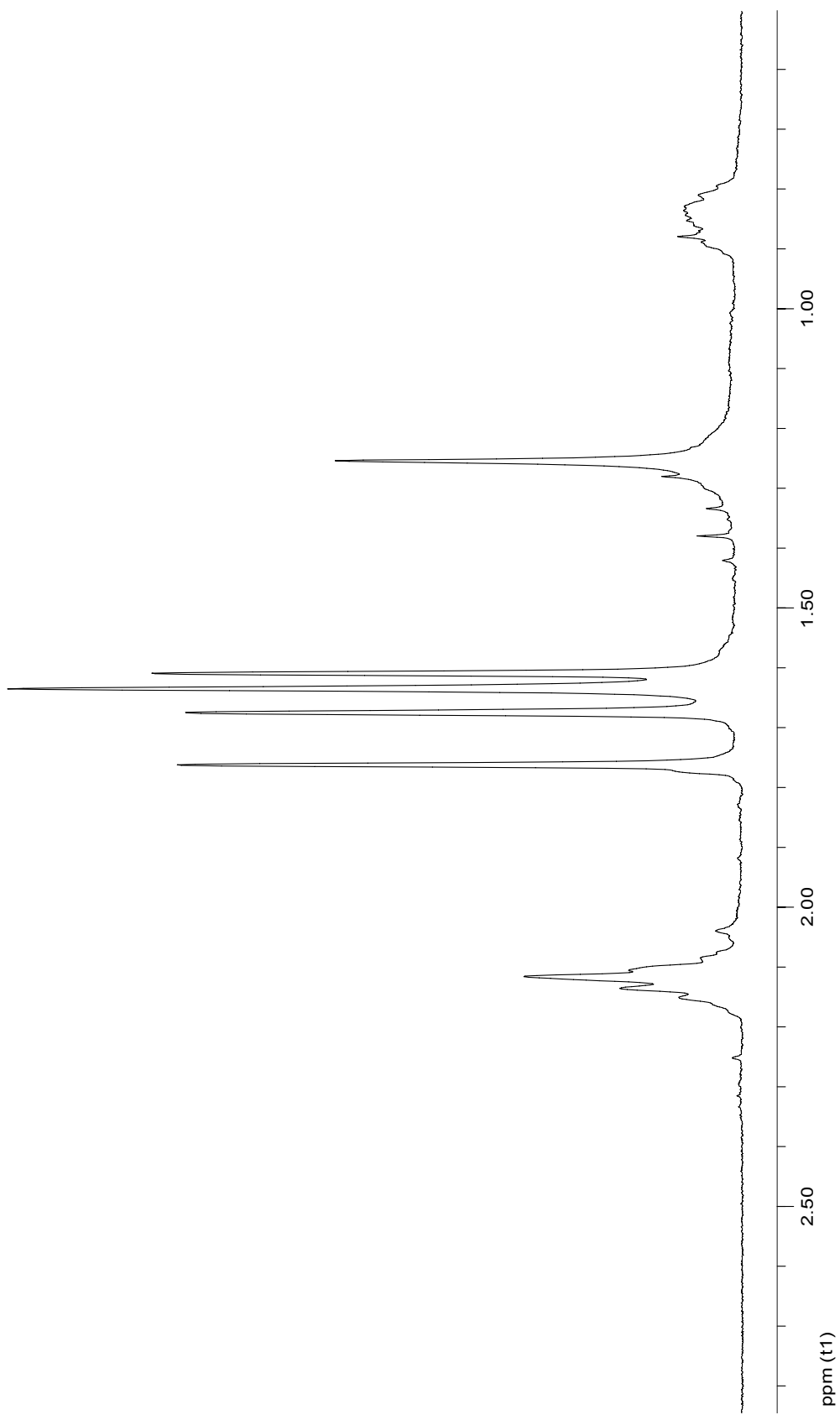


ภาพที่ 49  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinquinone G (CF5)

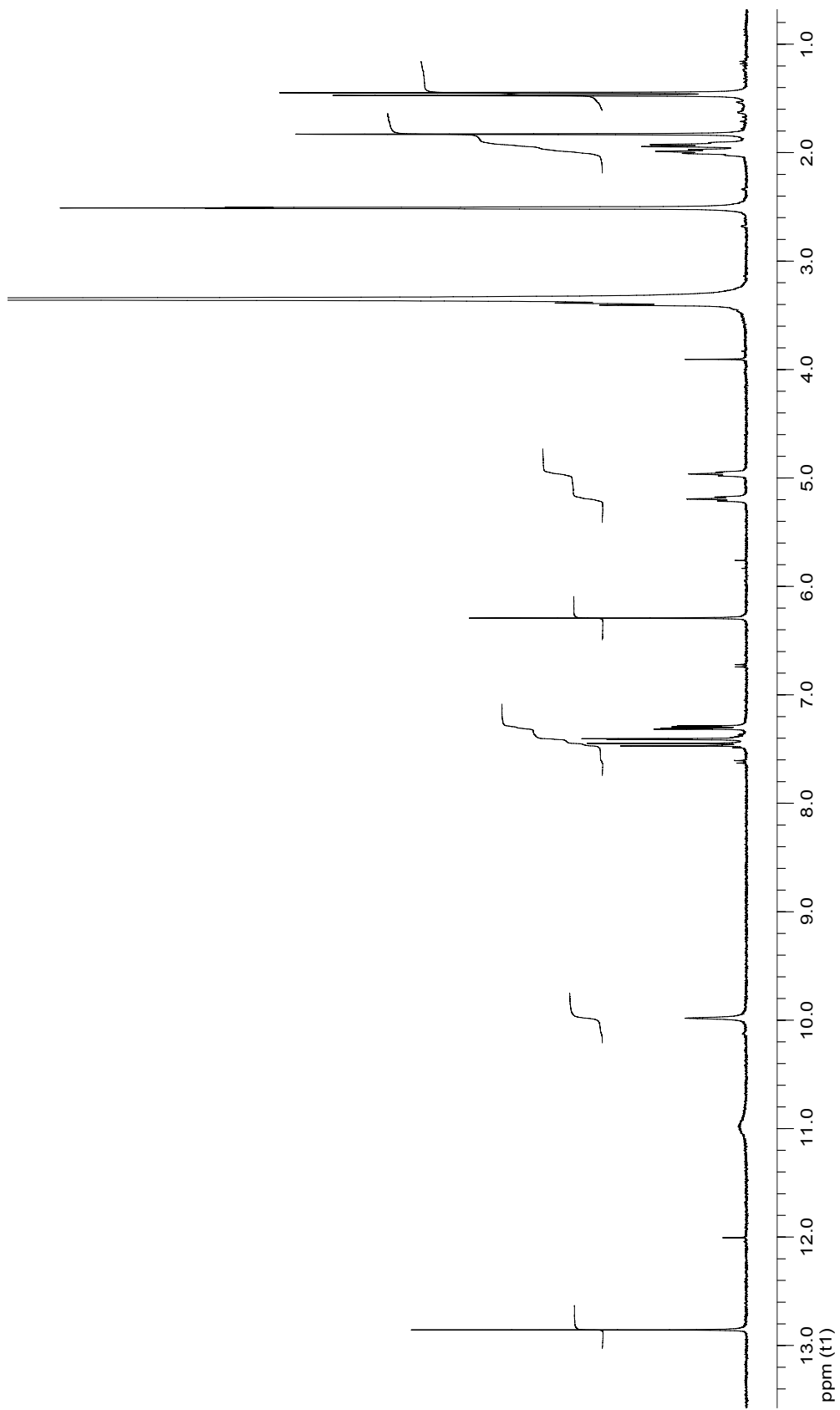




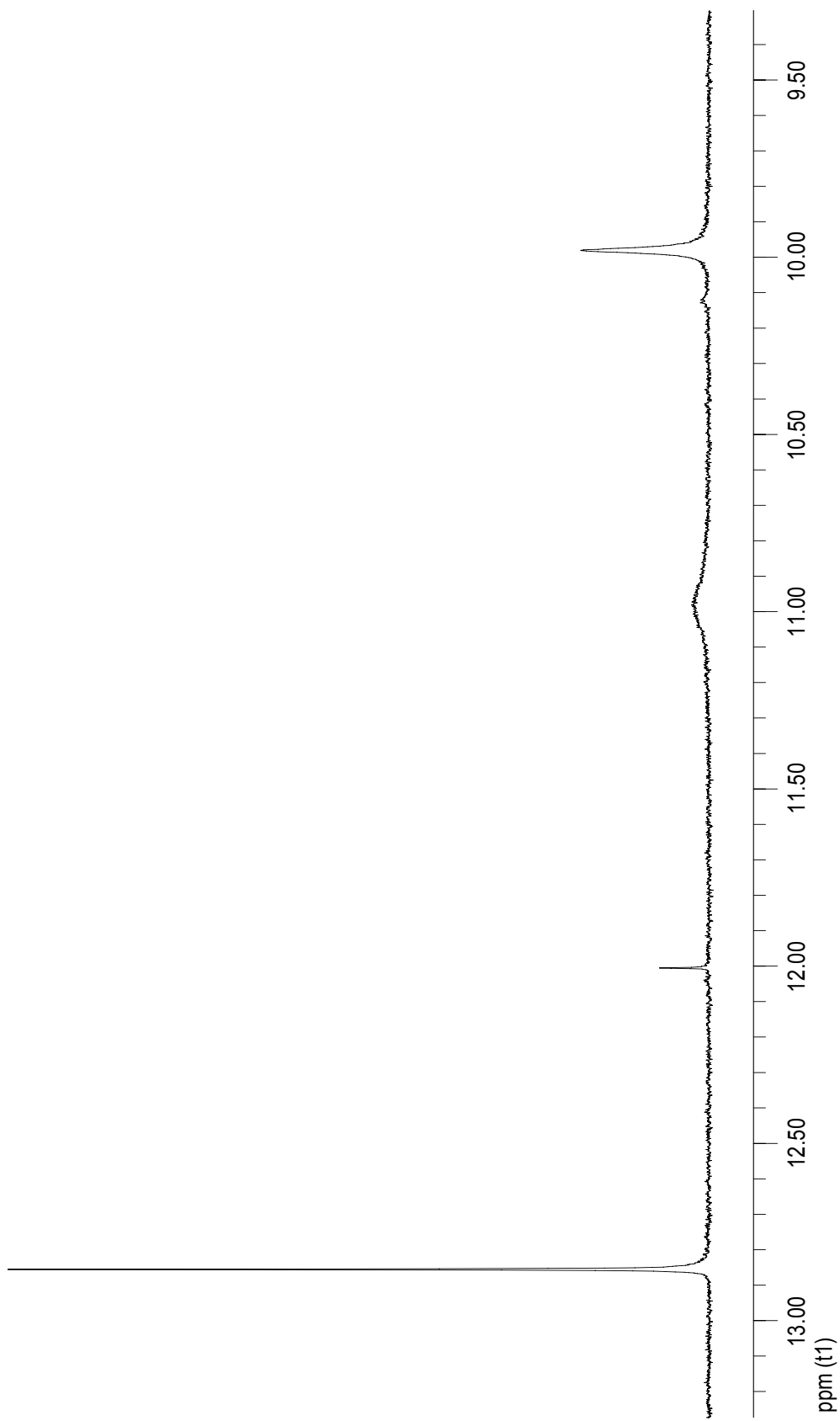
ภาพที่ 50  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinonone G (CF5)



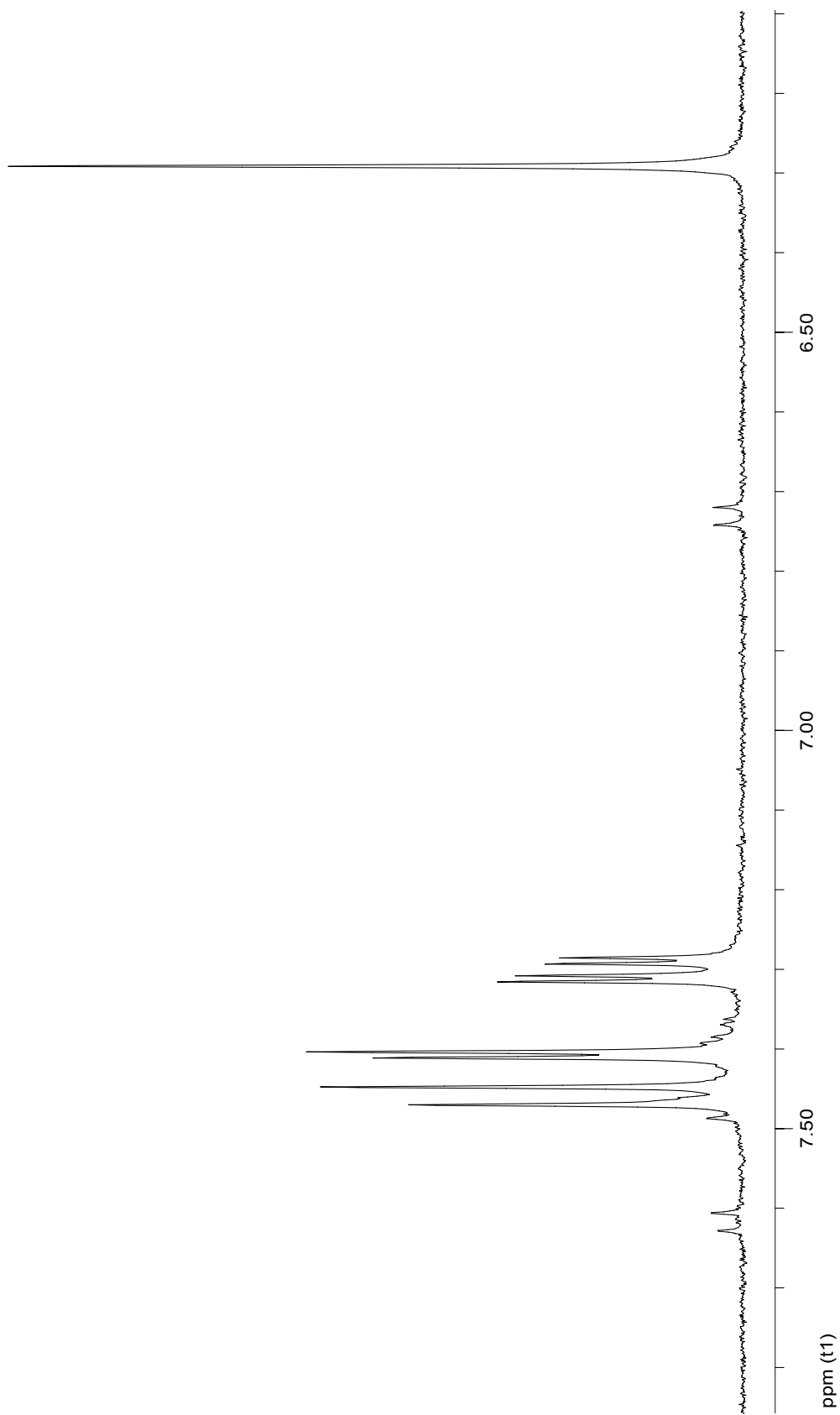
ภาพที่ 51  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinonone G (CF5)



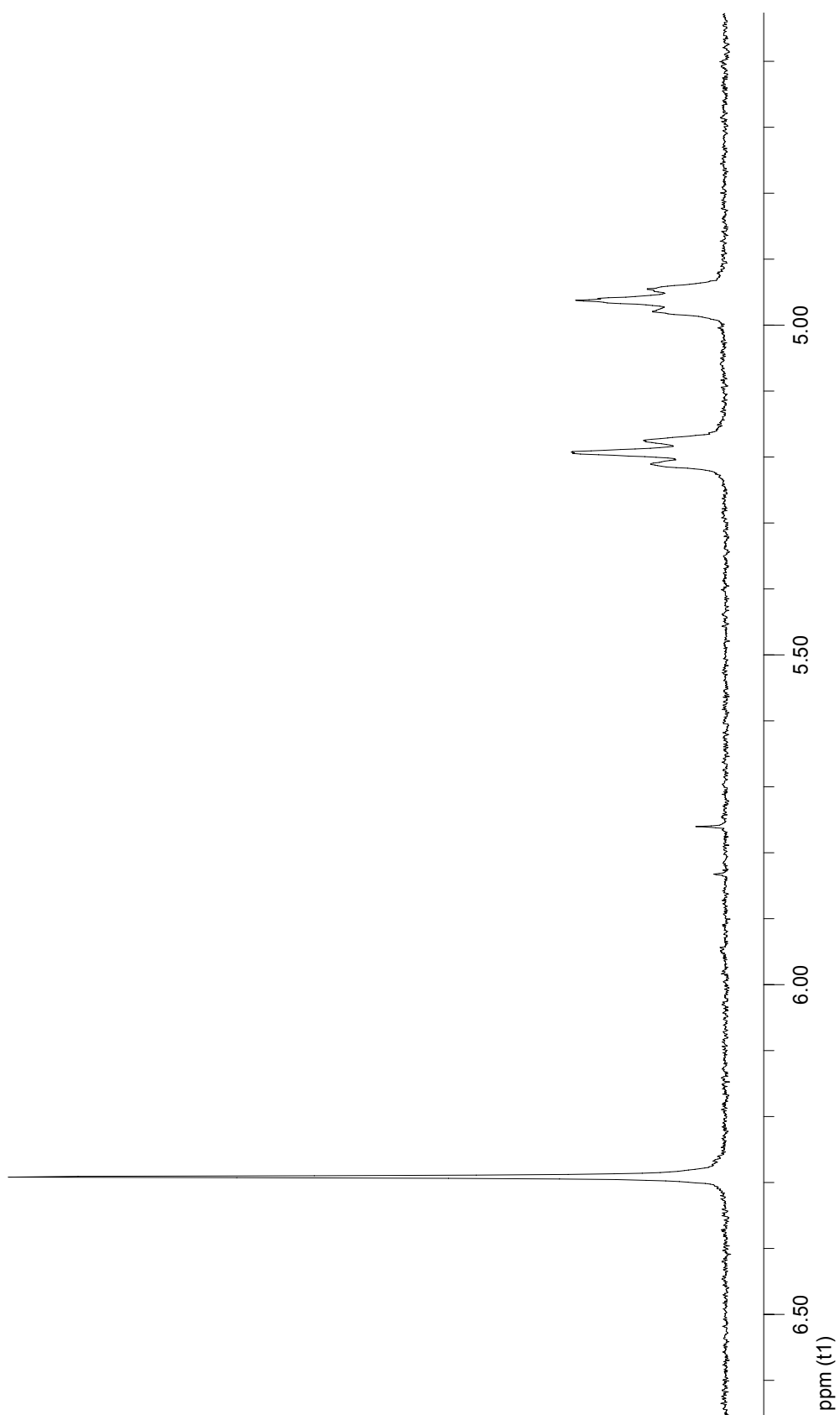
ภาพที่ 52  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



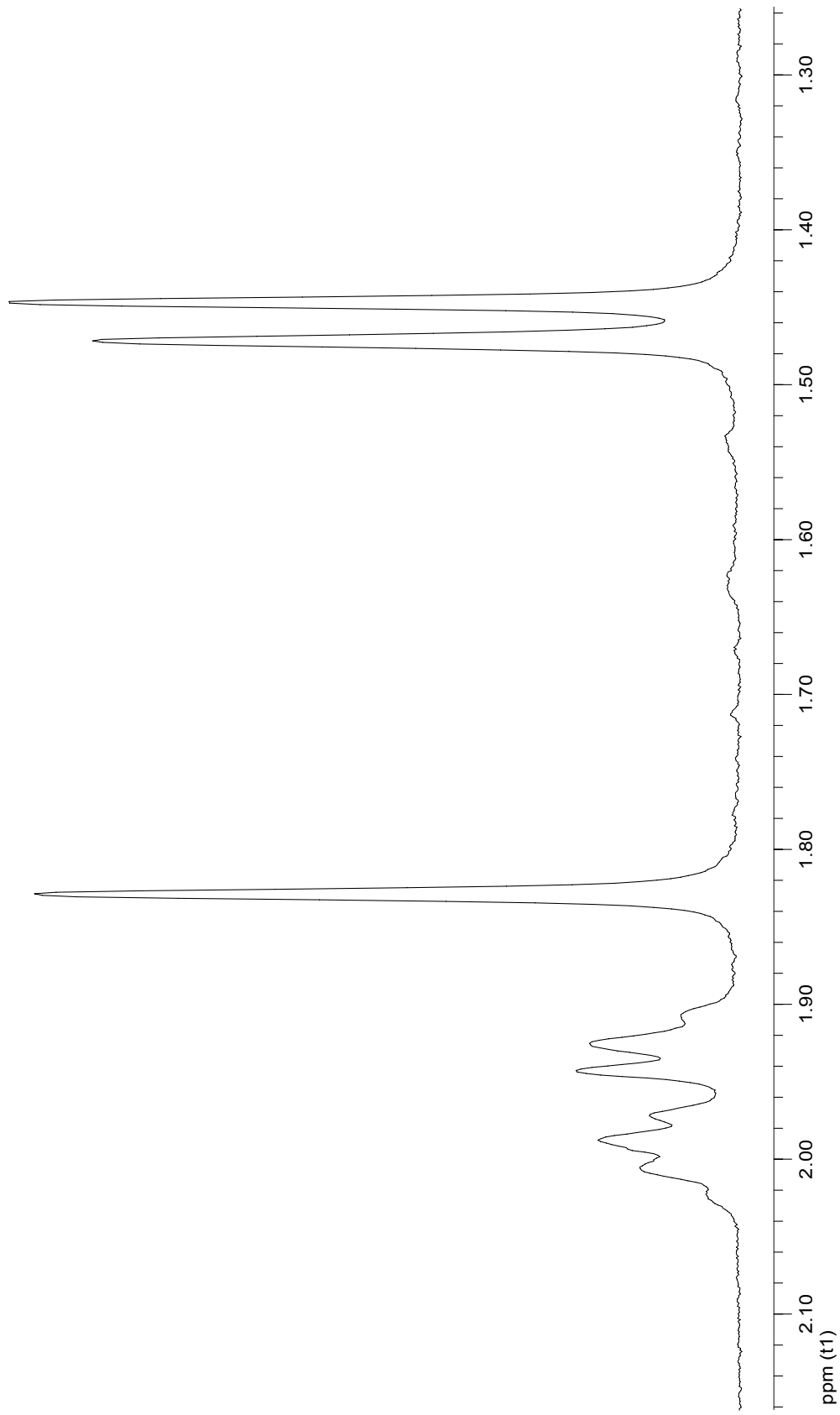
ภาพที่ 53  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



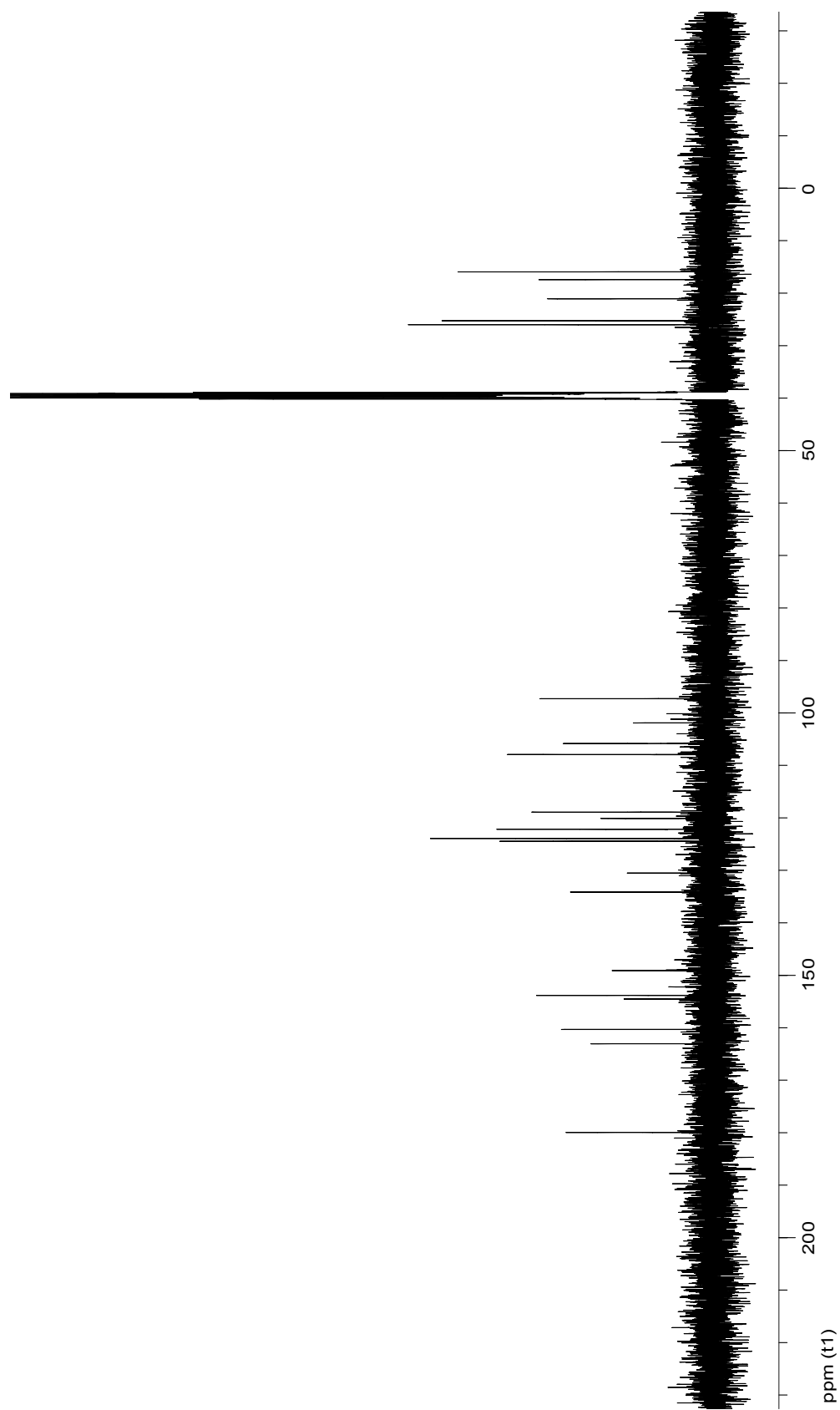
ภาพที่ 54  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



ภาพที่ 55  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

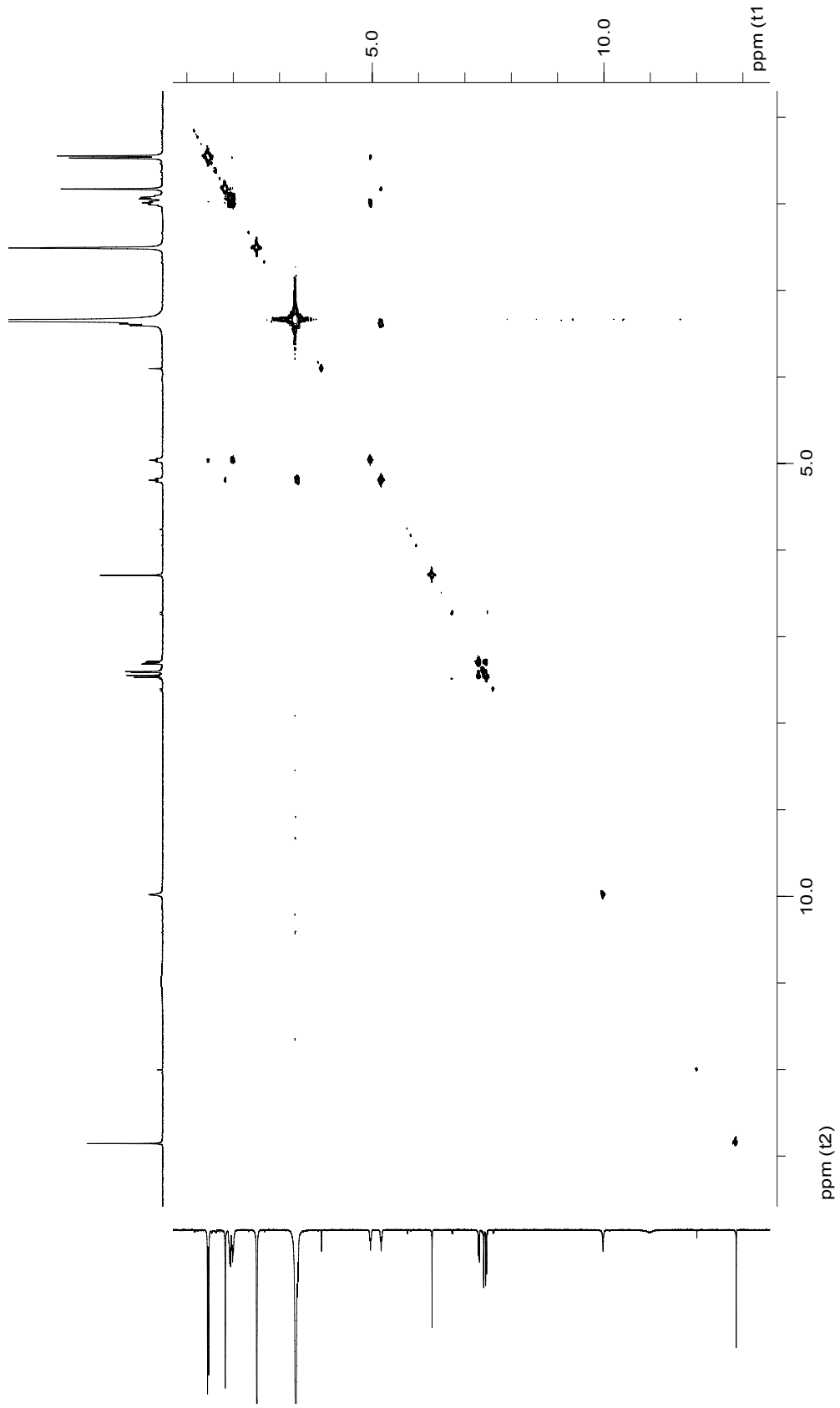


ภาพที่ 56  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

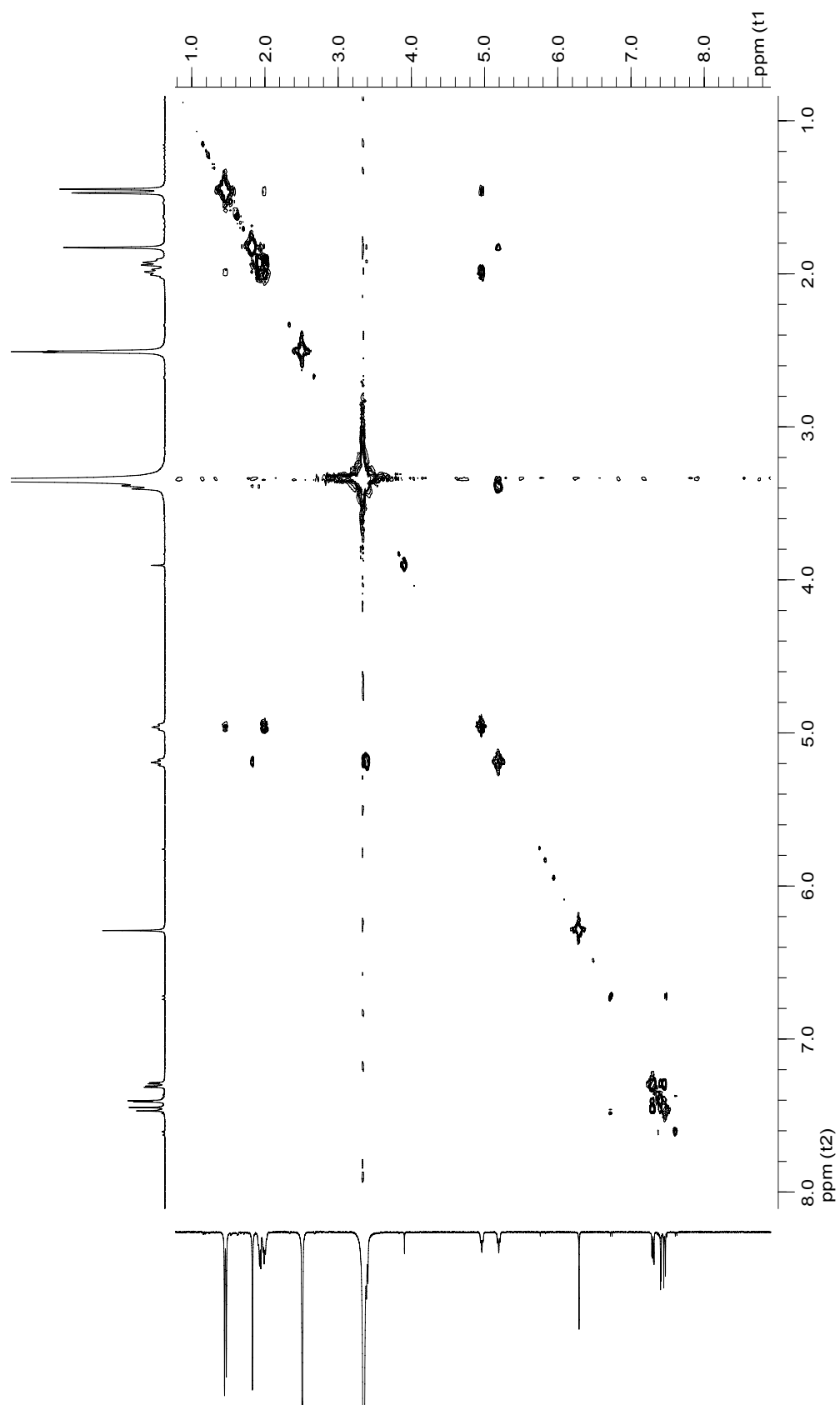


ภาพที่ 57  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

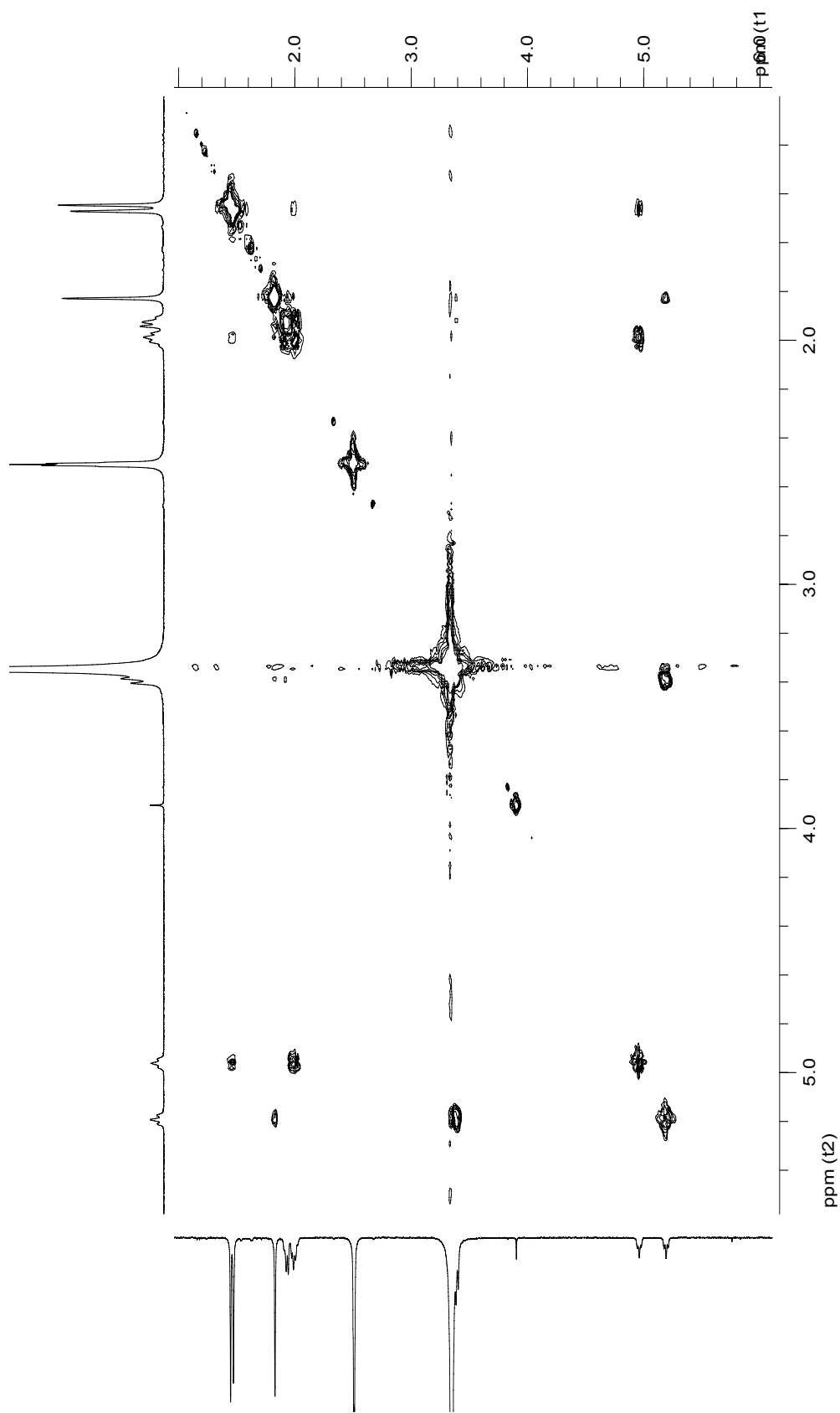




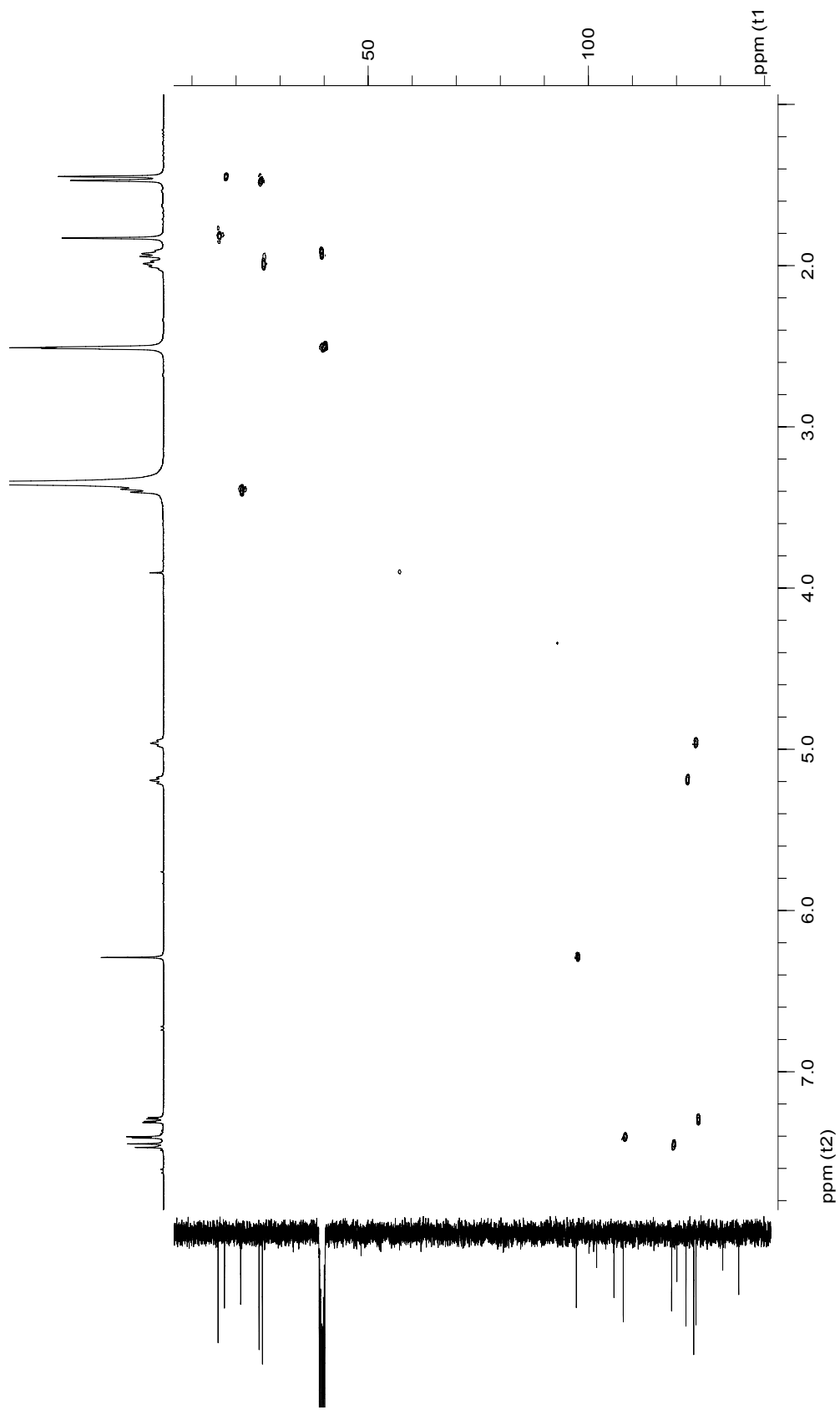
ภาพที่ 58 COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



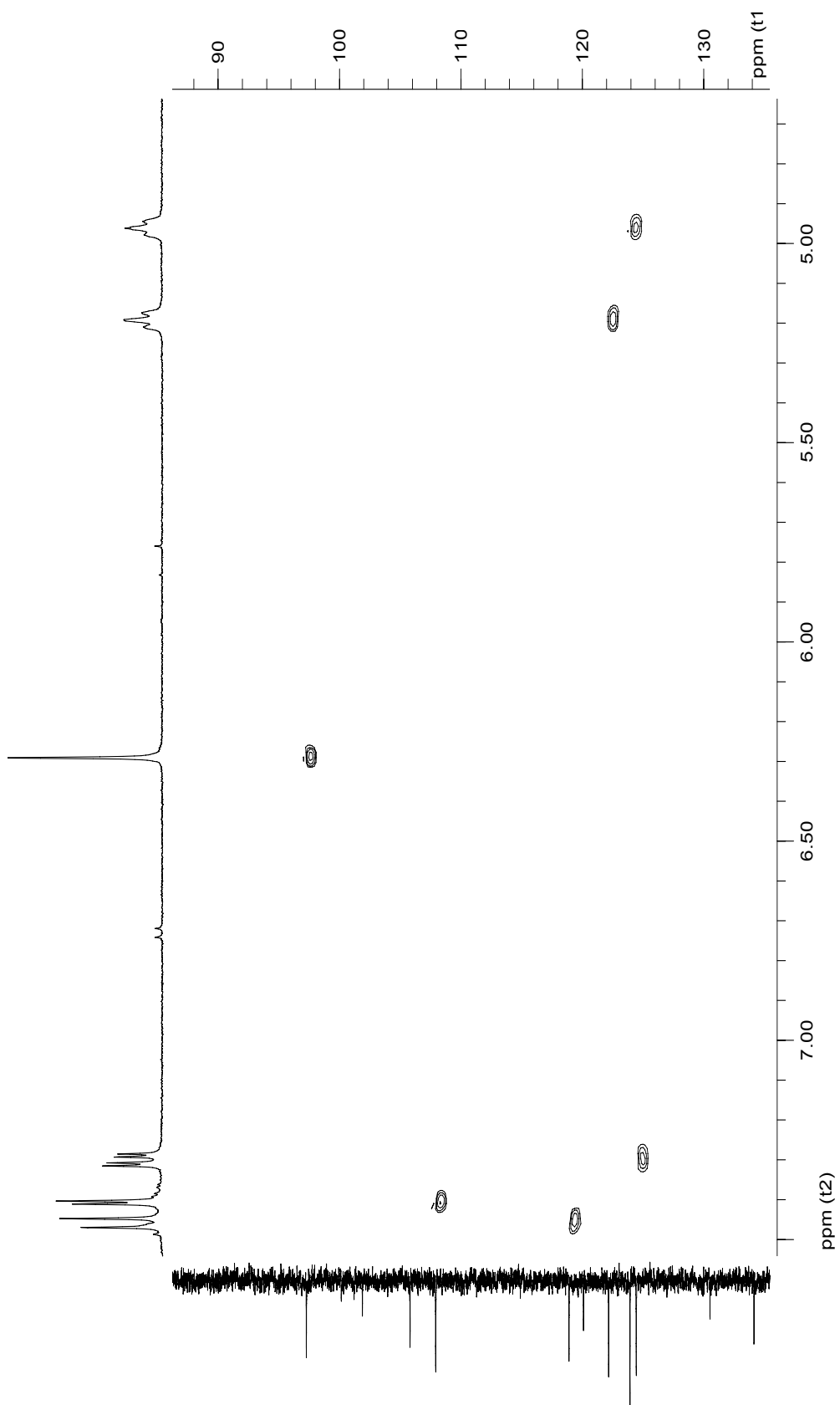
ภาพที่ 59 COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



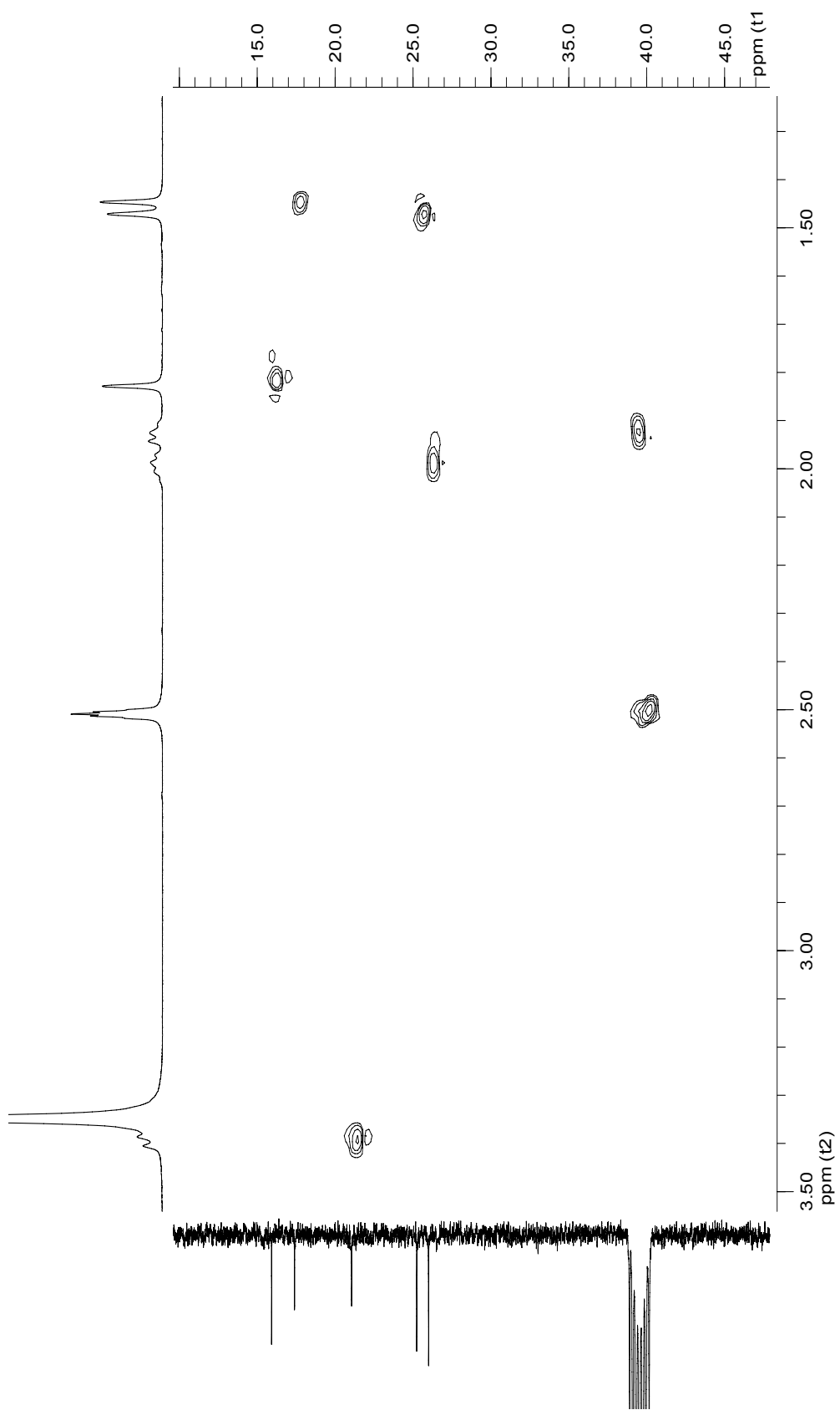
ภาพที่ 60 COSY spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



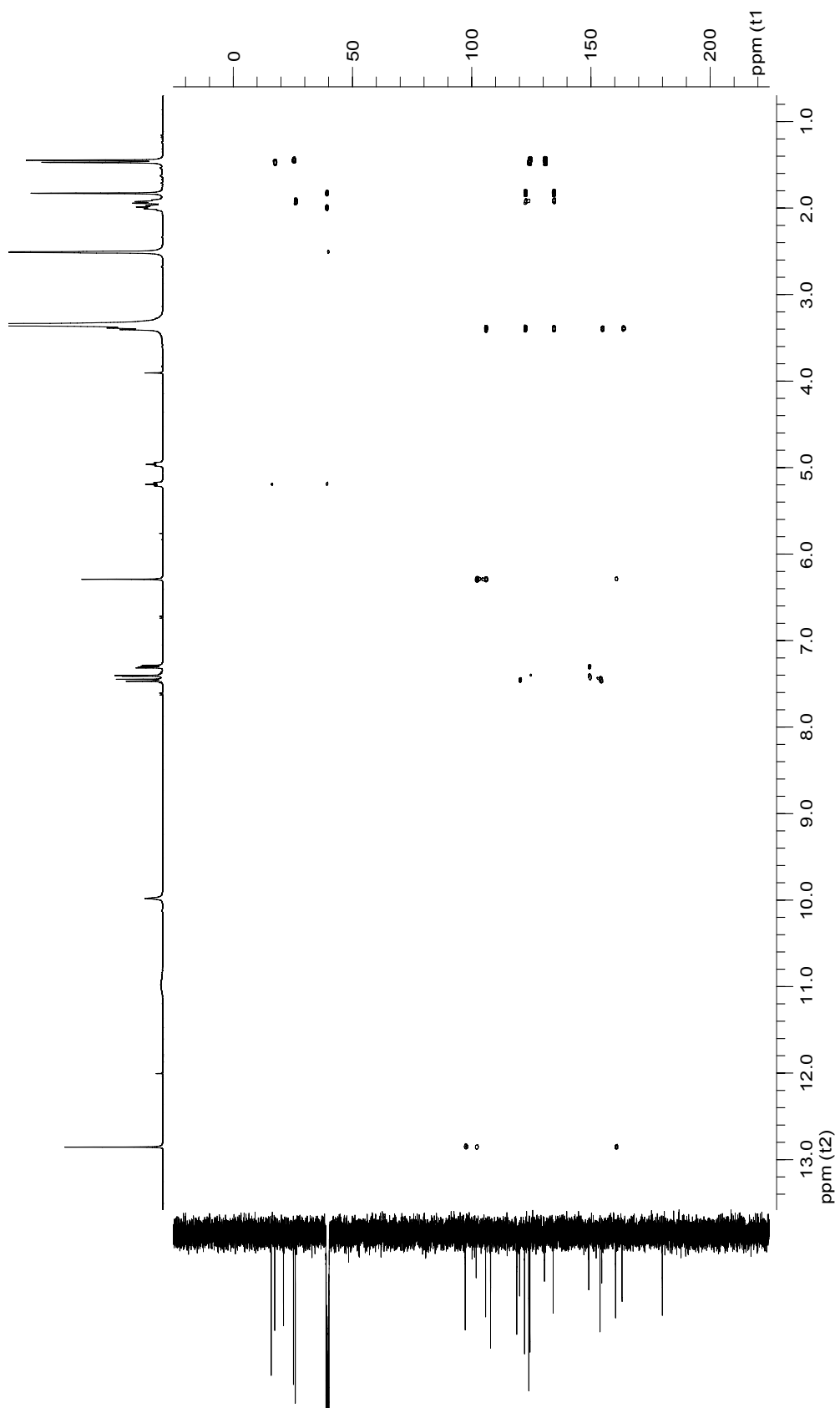
ภาพที่ 61 HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



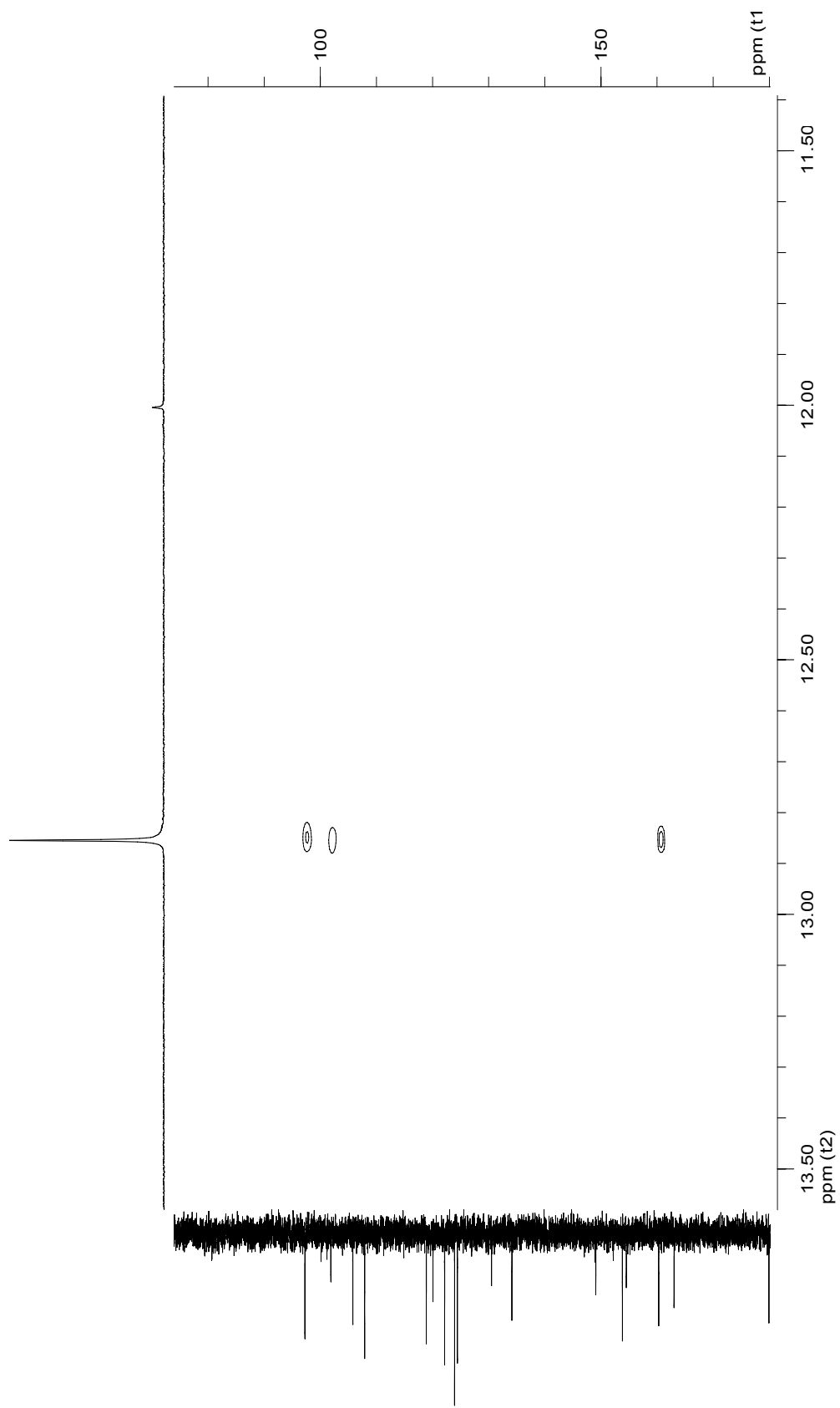
ภาพที่ 62 HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



ภาพที่ 63 HSQC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

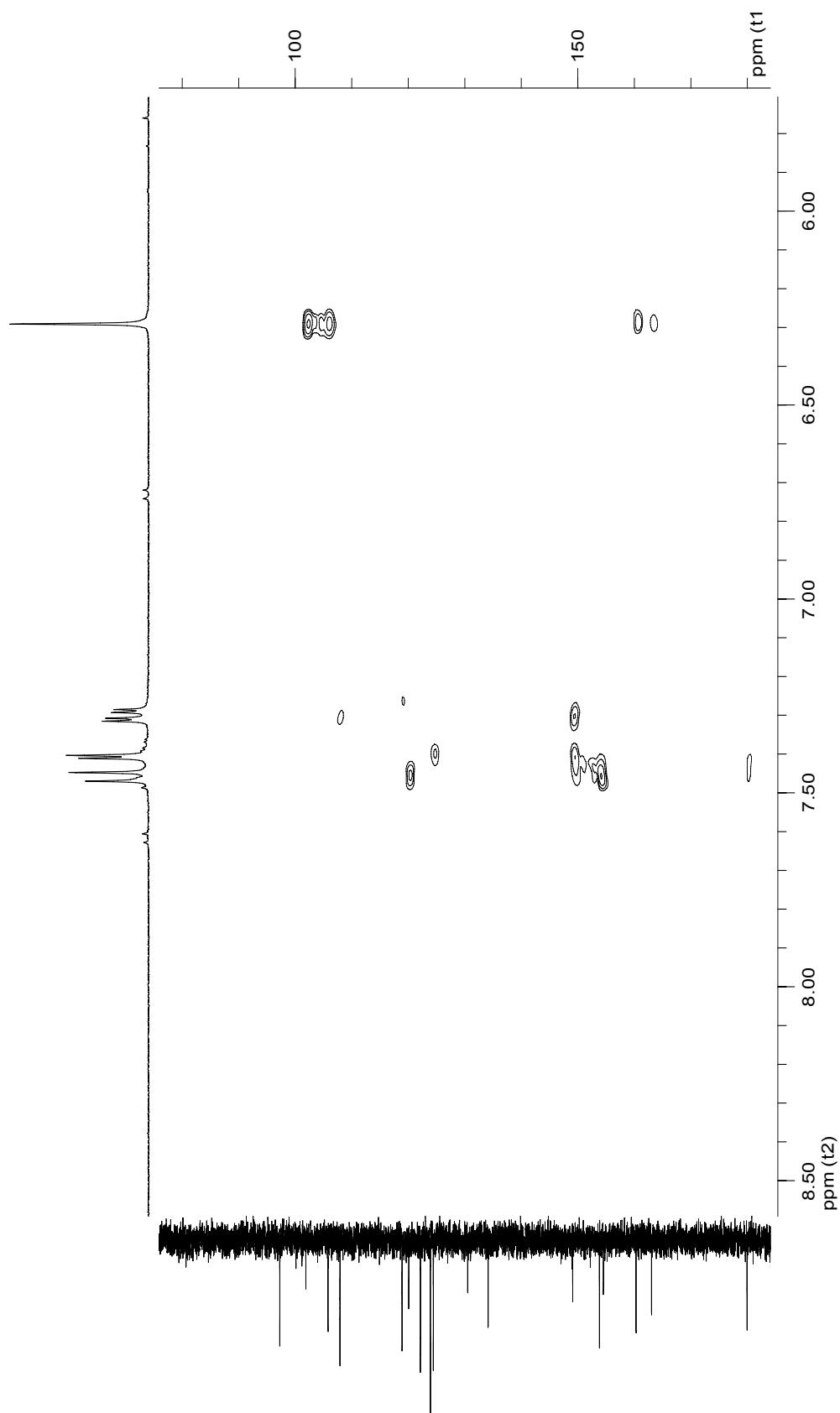


ภาพที่ 64 HIMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

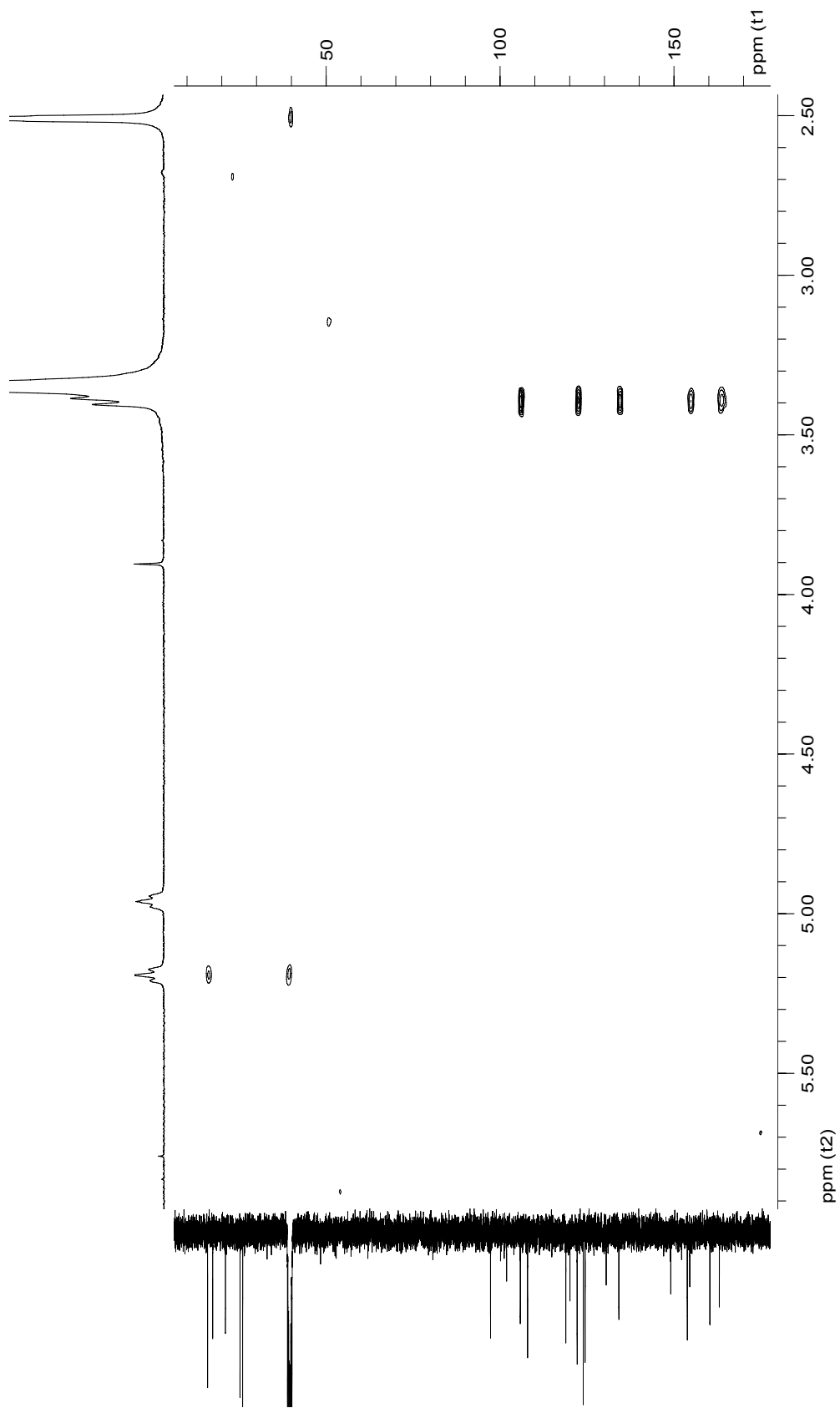


ภาพที่ 65 HMBBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)

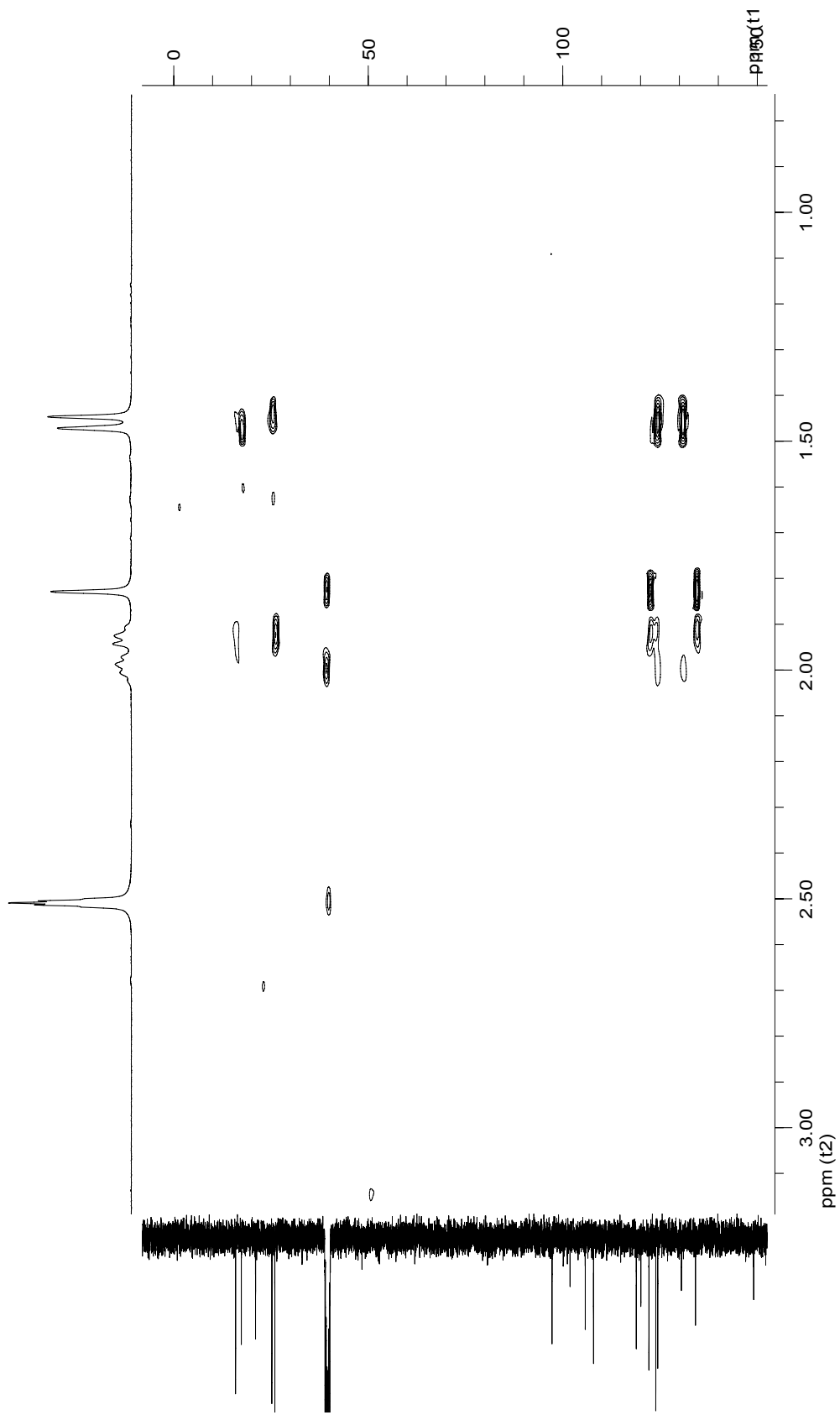




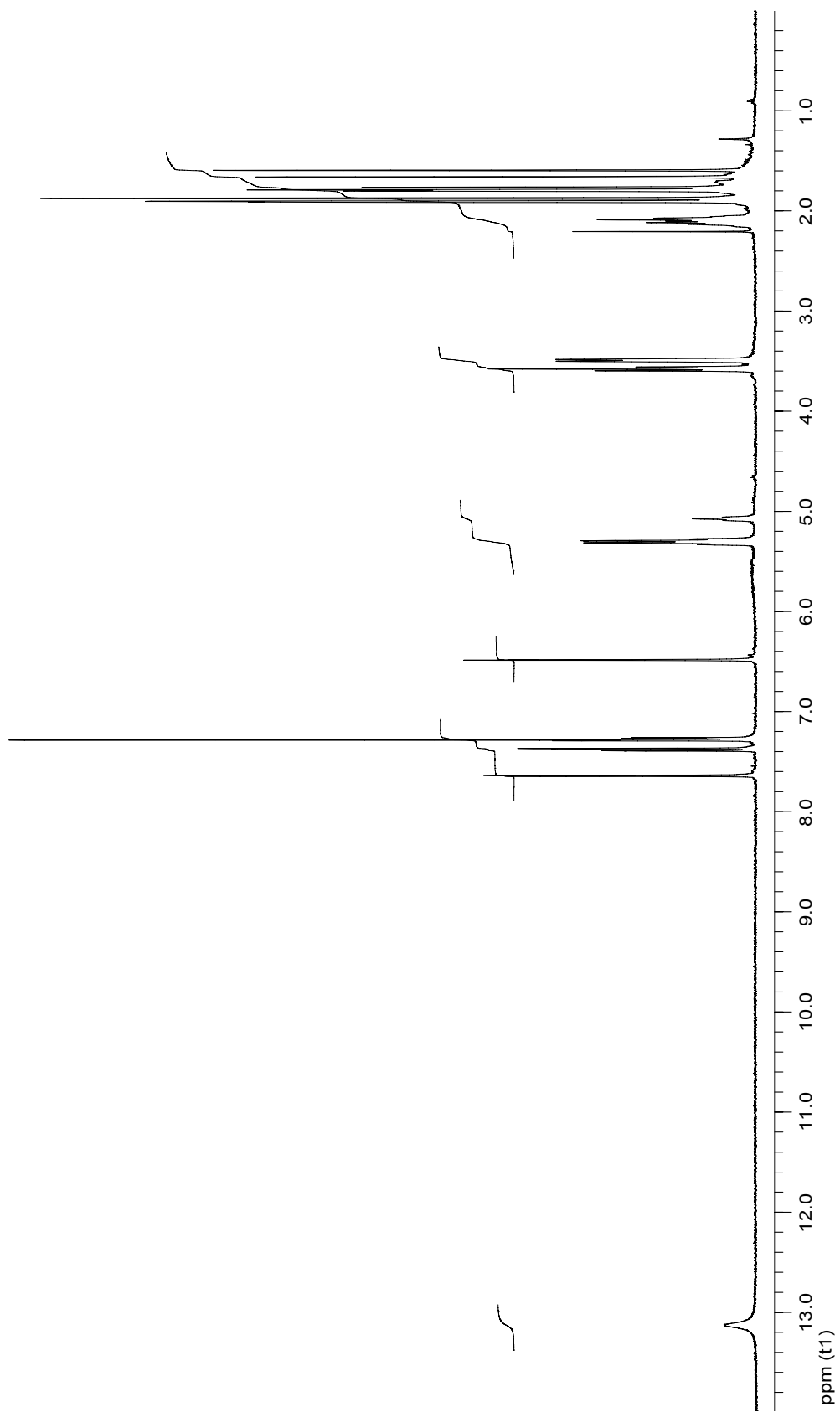
ภาพที่ 66 HIMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



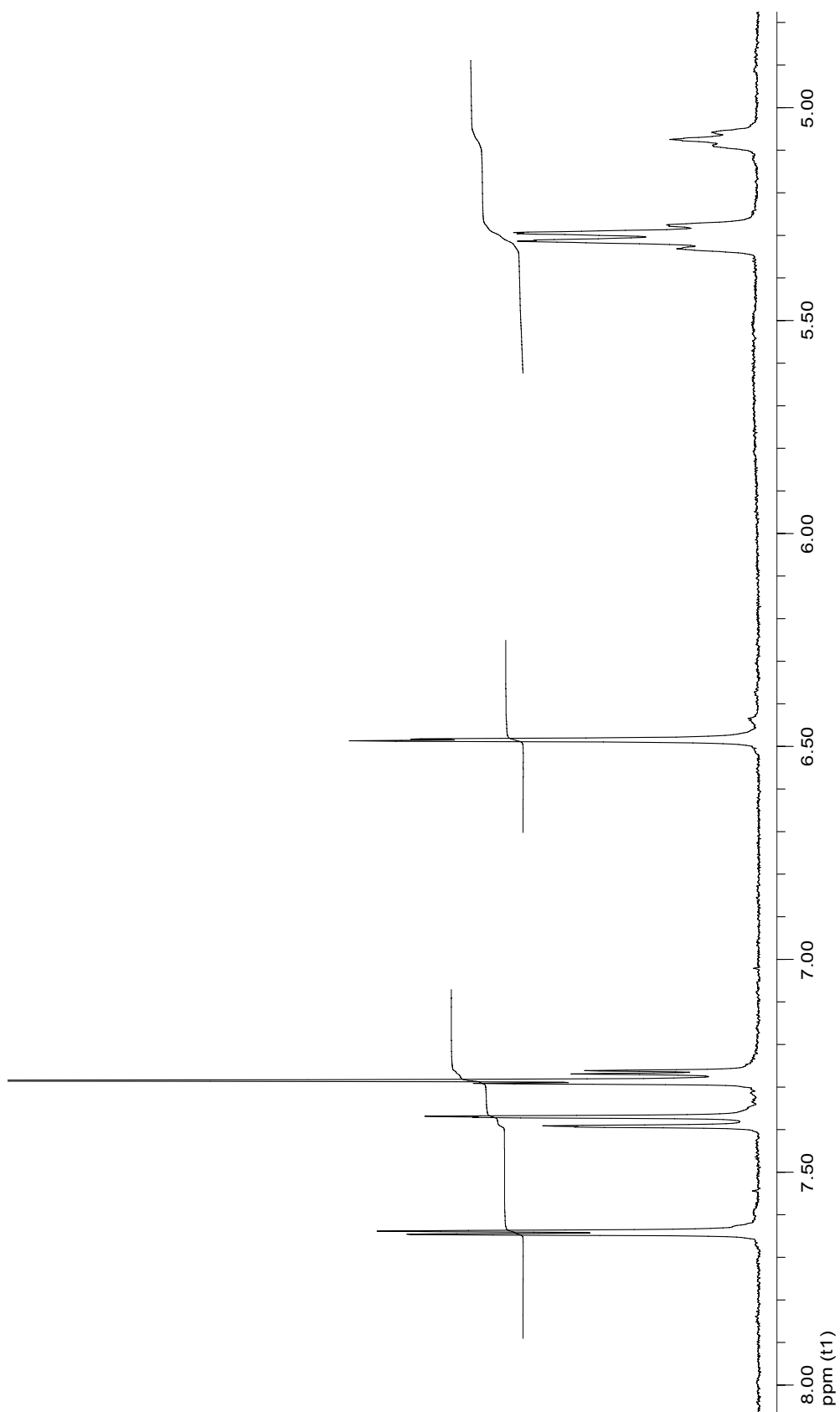
ภาพที่ 67 HIMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



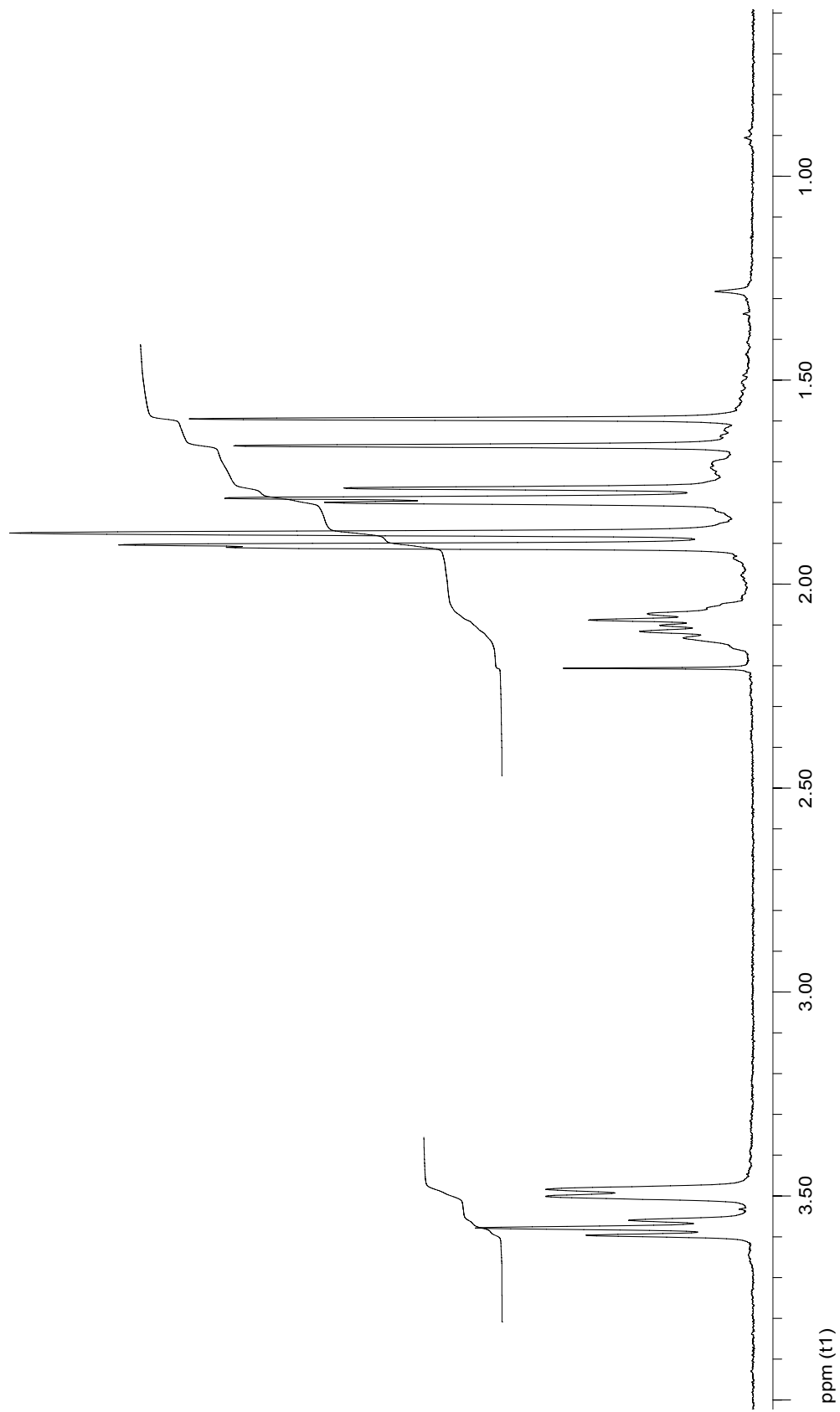
ภาพที่ 68 HIMBC spectrum of Fuscaxanthone E (CF6)



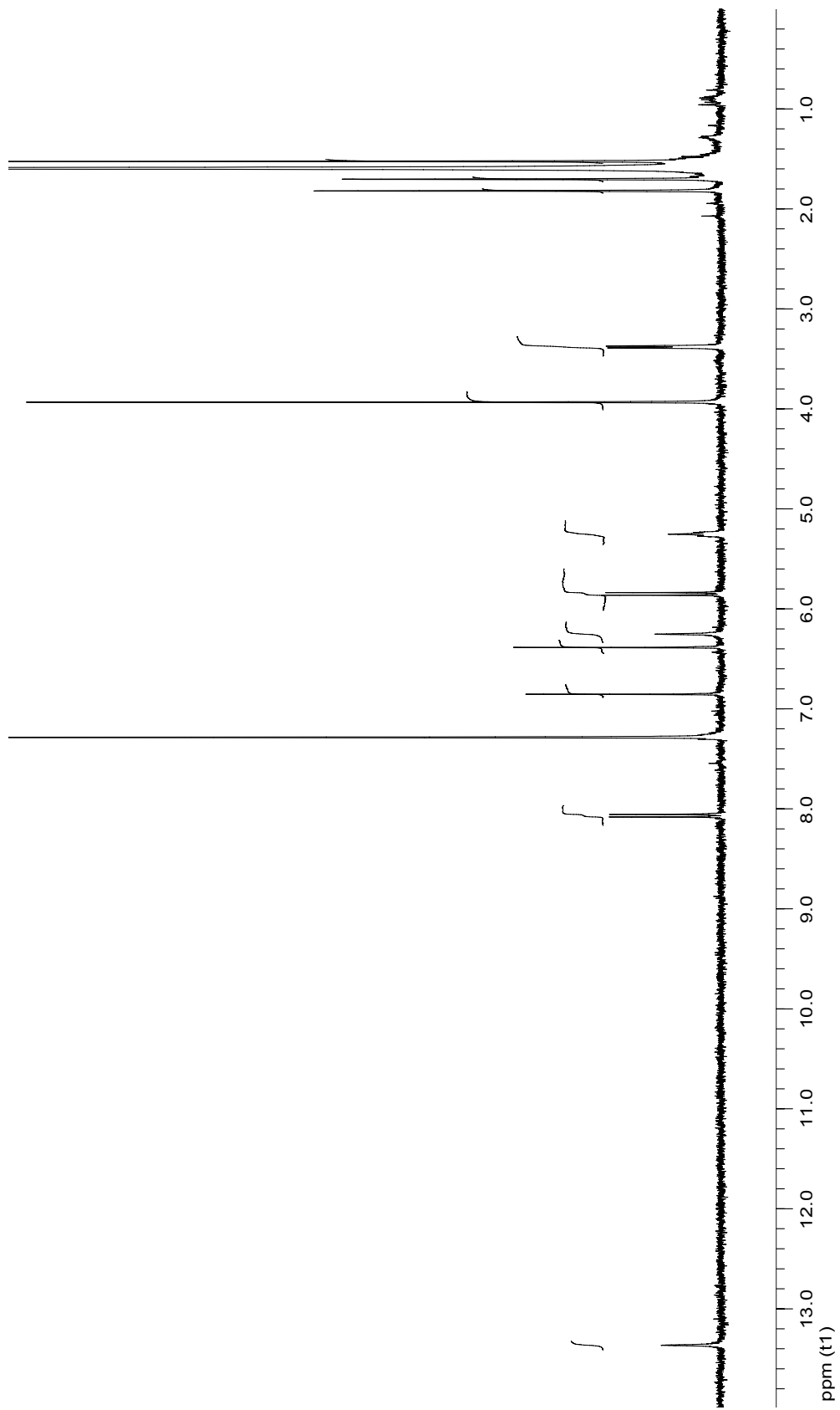
ภาพที่ 69 <sup>1</sup>H NMR spectrum of Cochinquinone A (CT1)



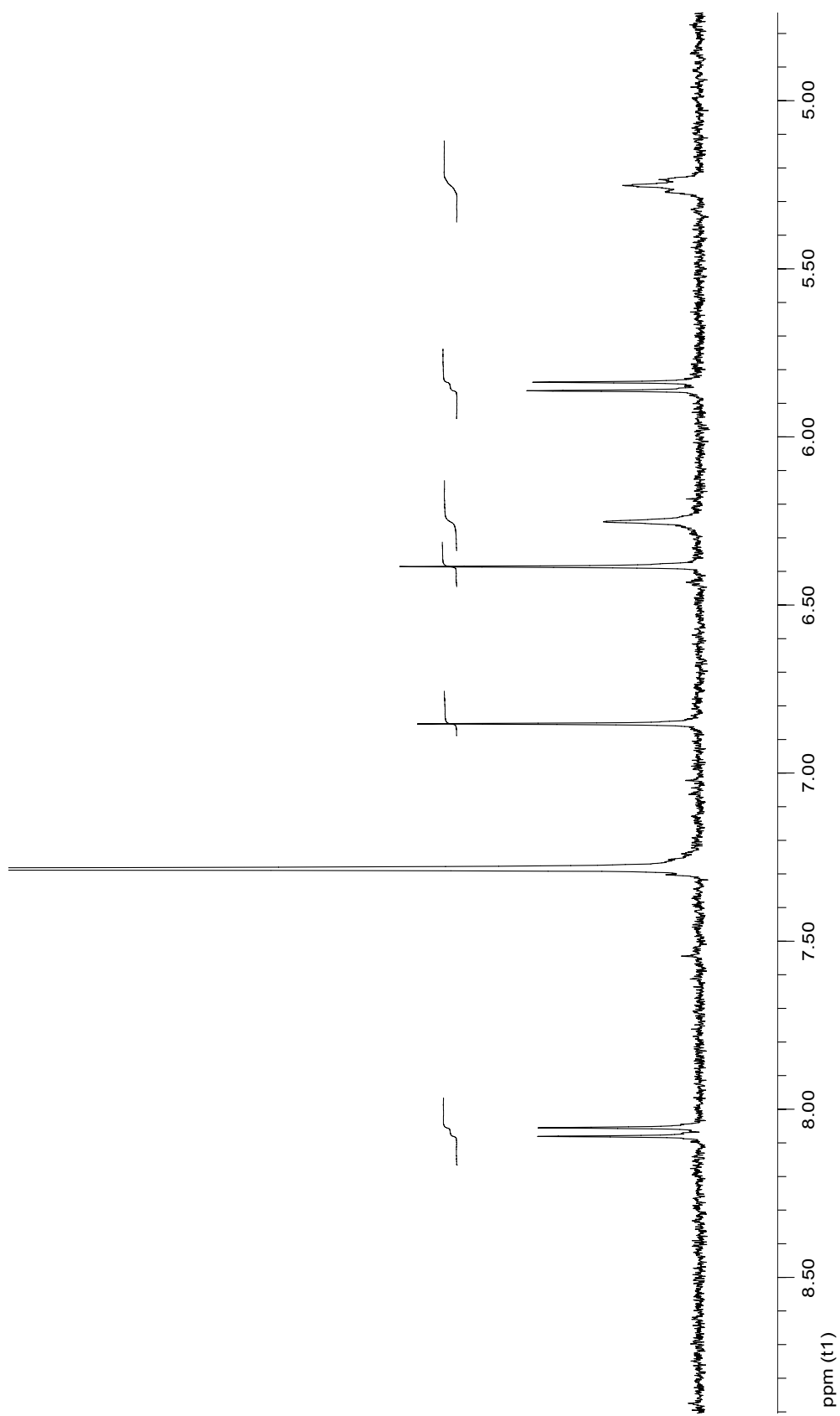
ภาพที่ 70  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinquinone A (CT1)



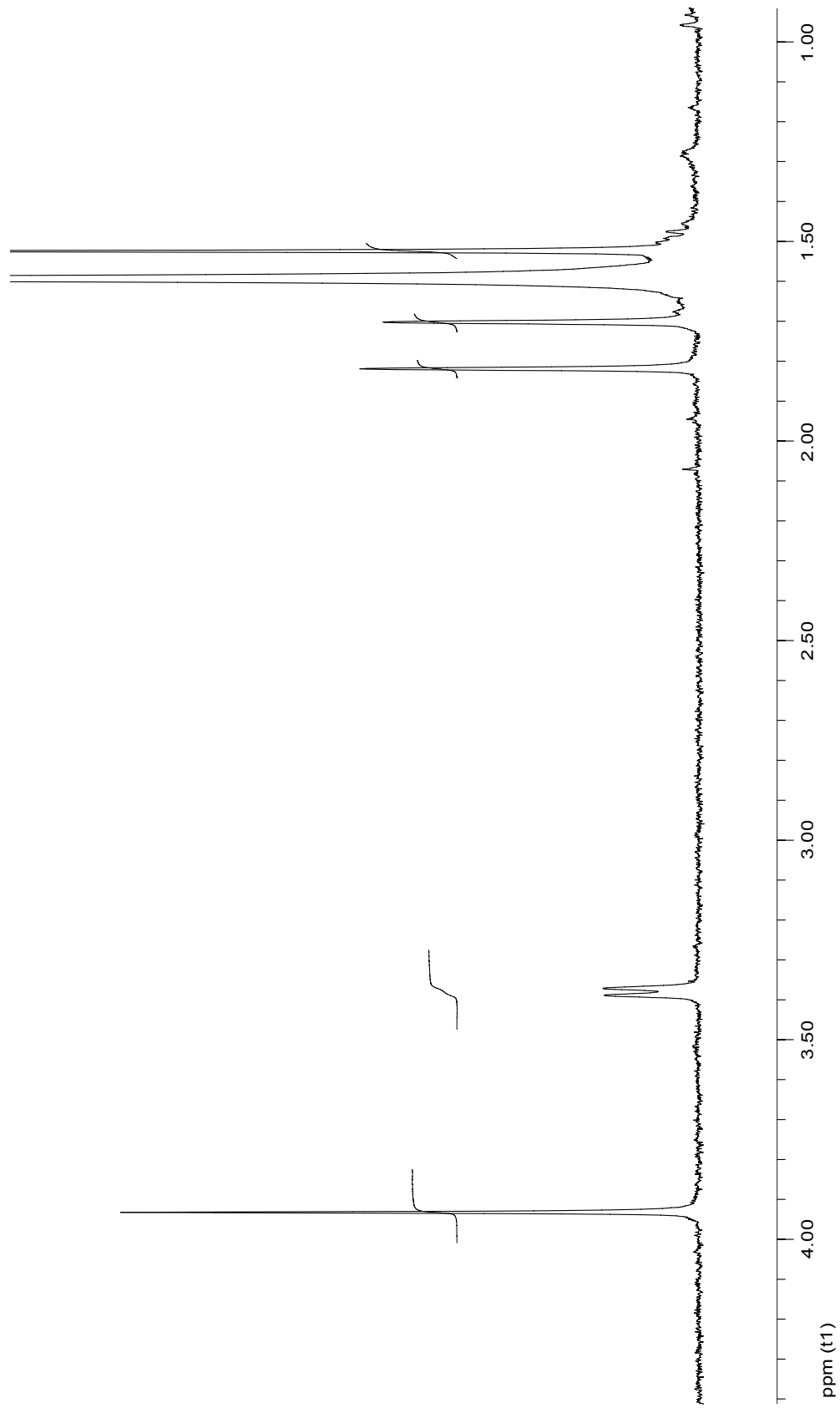
ภาพที่ 71  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Cochinquinone A (CT1)



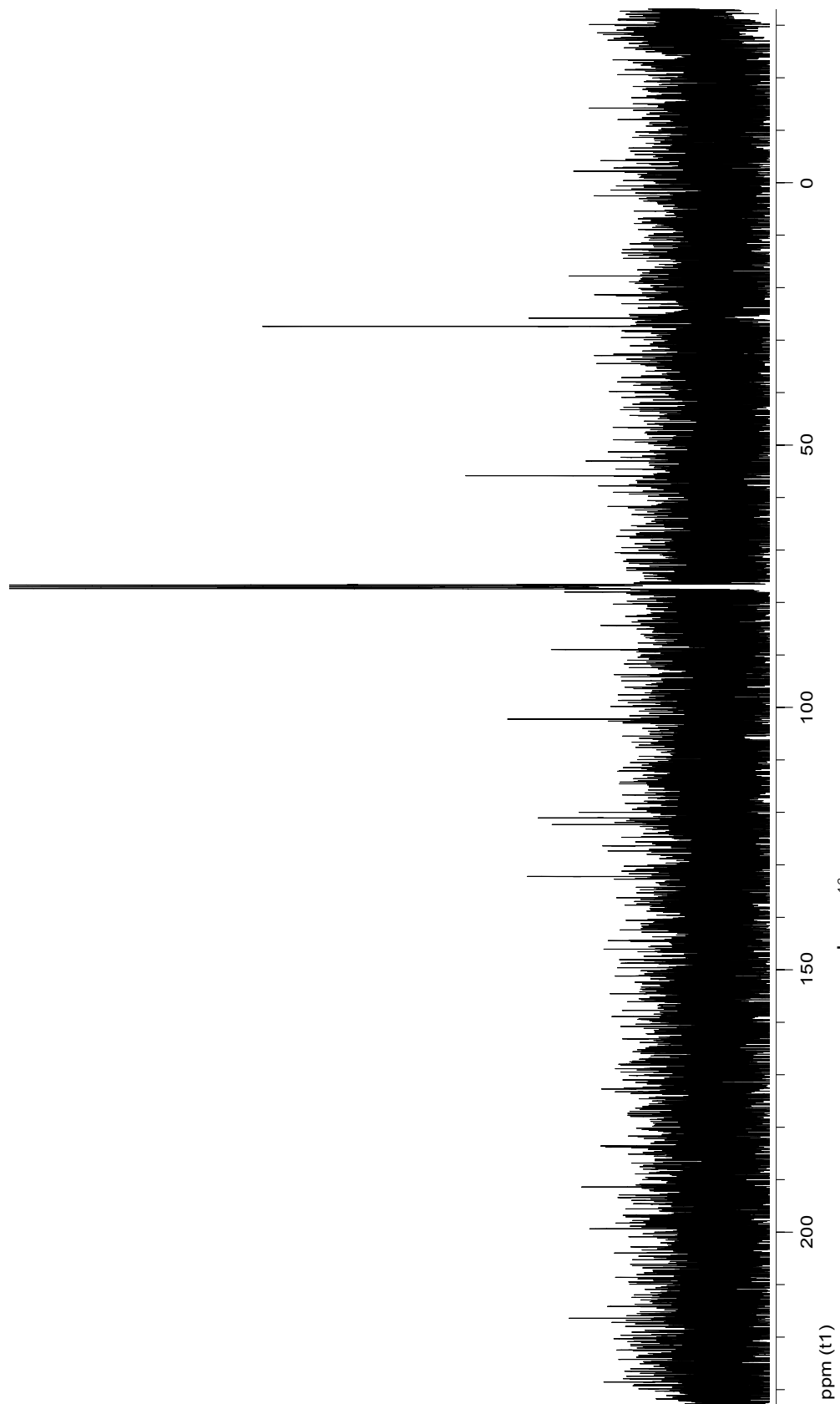
ภาพที่ 72  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Dulcisanthone F (CT2)

ภาพที่ 73  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Dulcisanthone F (CT2)

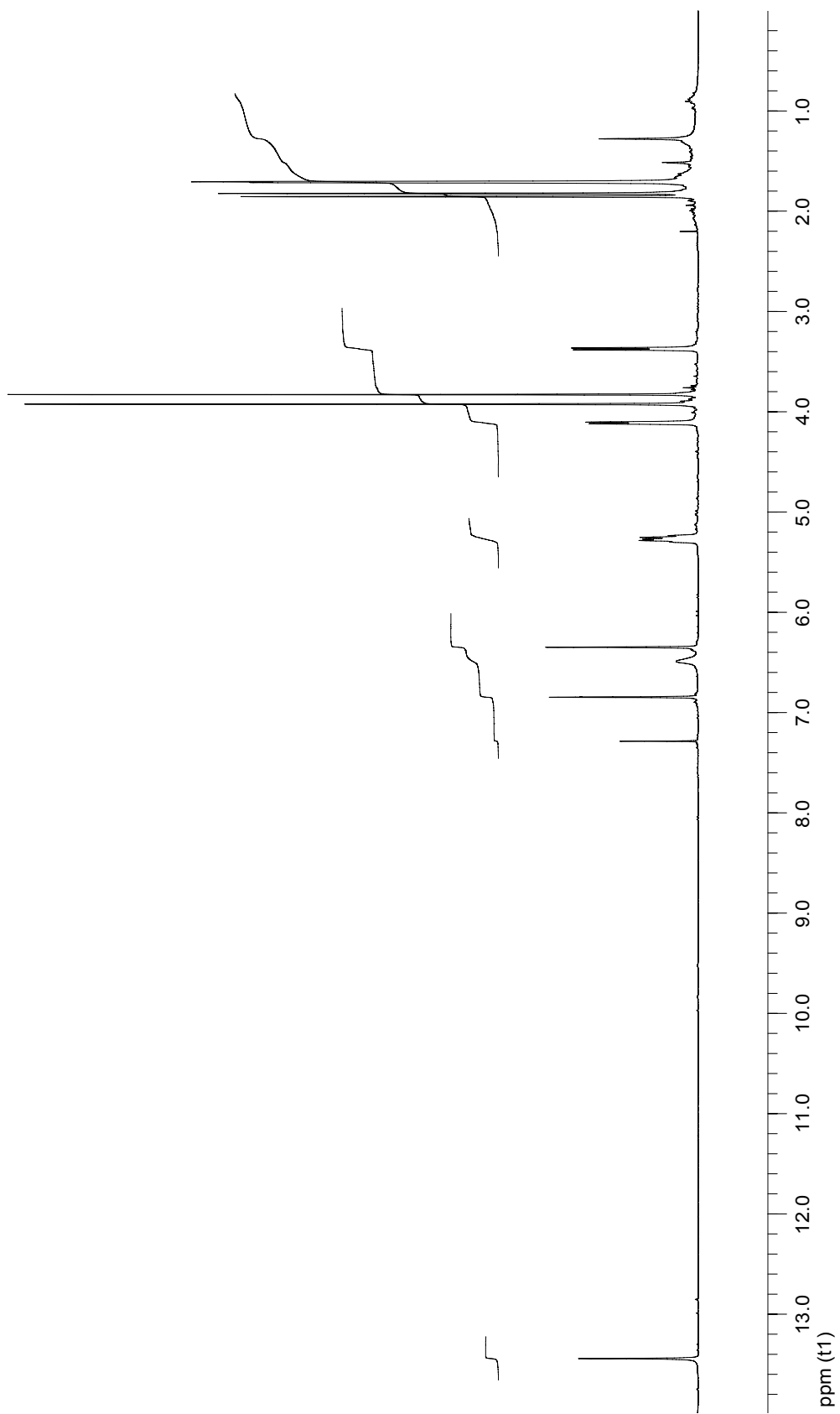




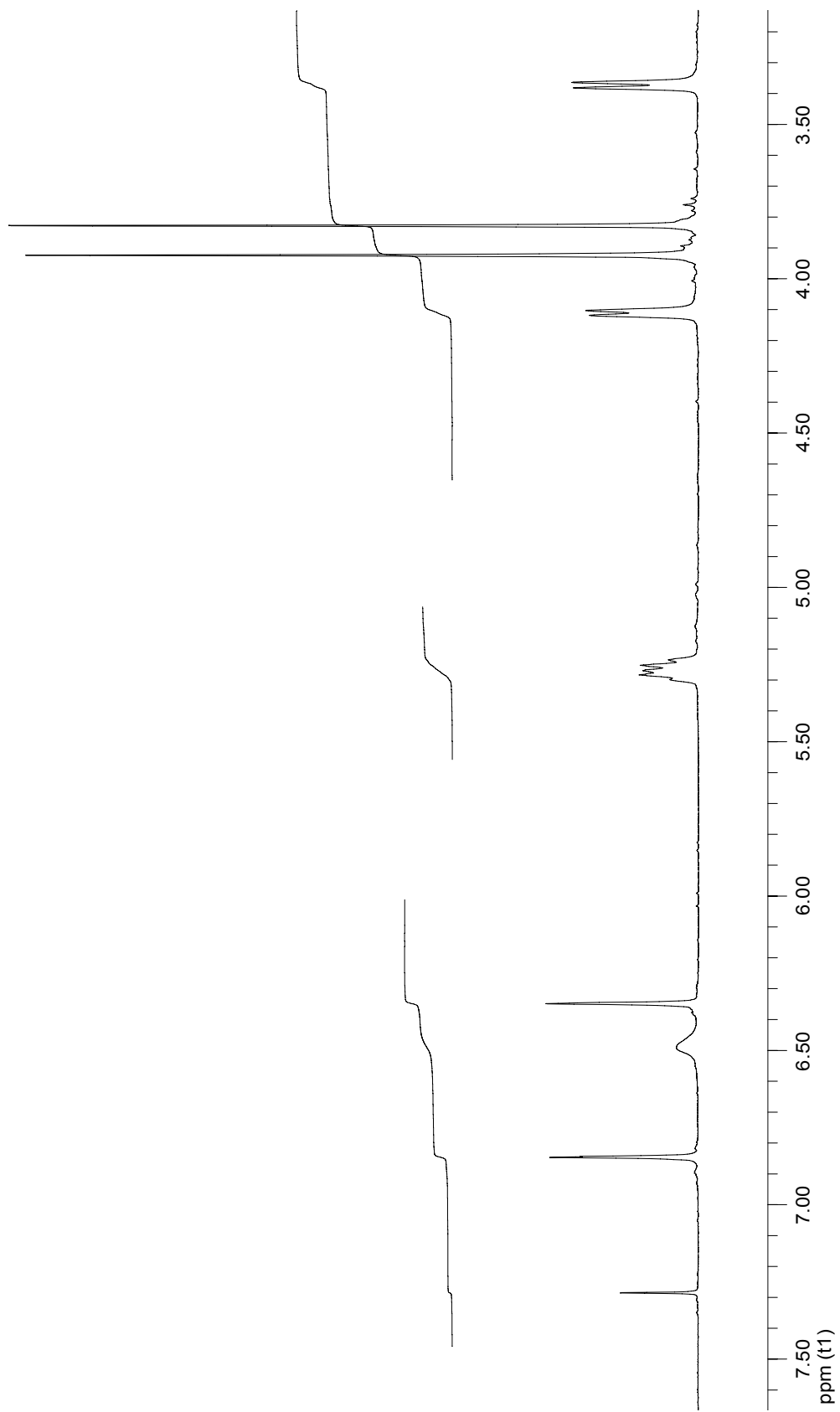
ภาพที่ 74  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Dulcisanthone F (CT2)



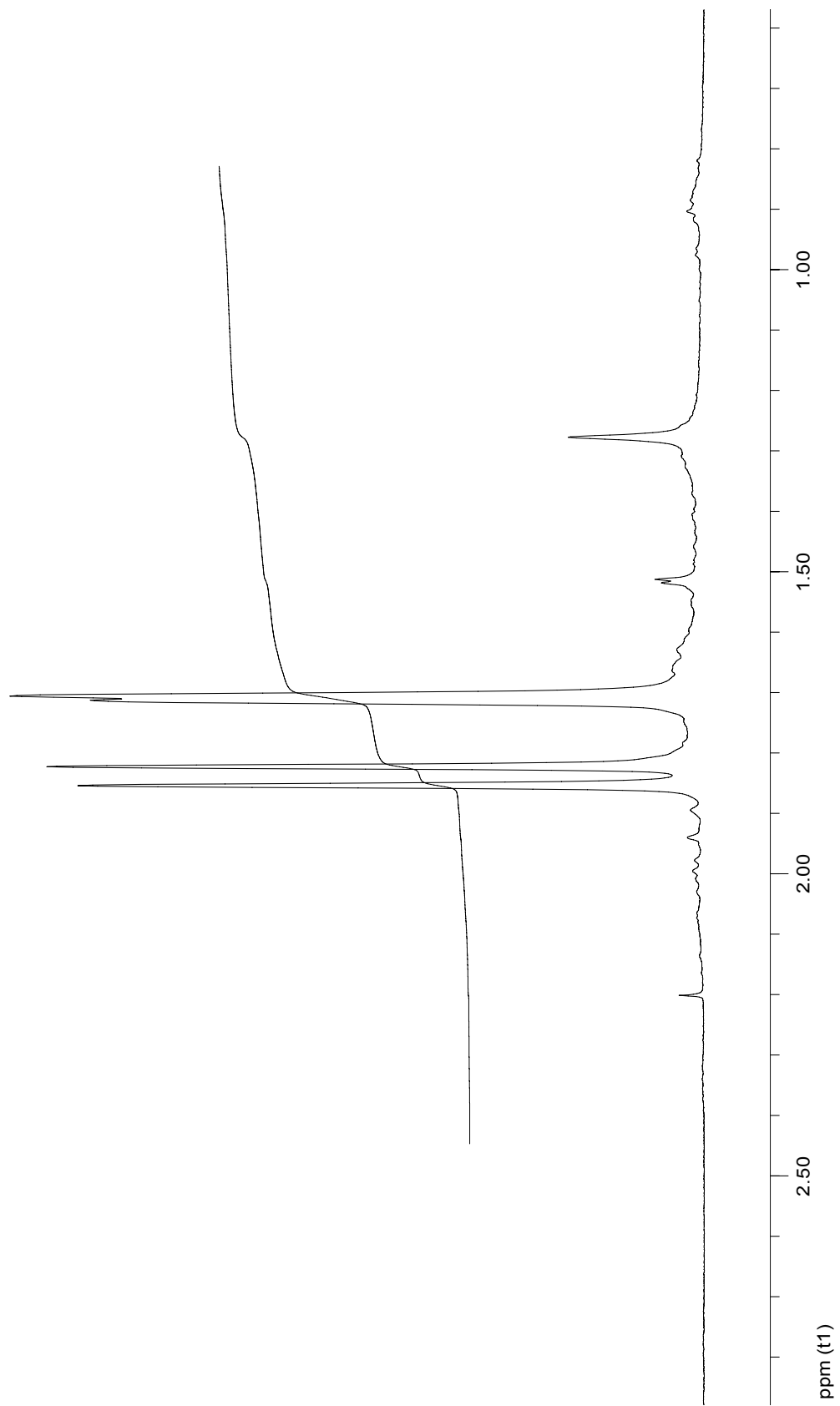
ภาพที่ 75  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of Dulcisxanthone F (CT2)



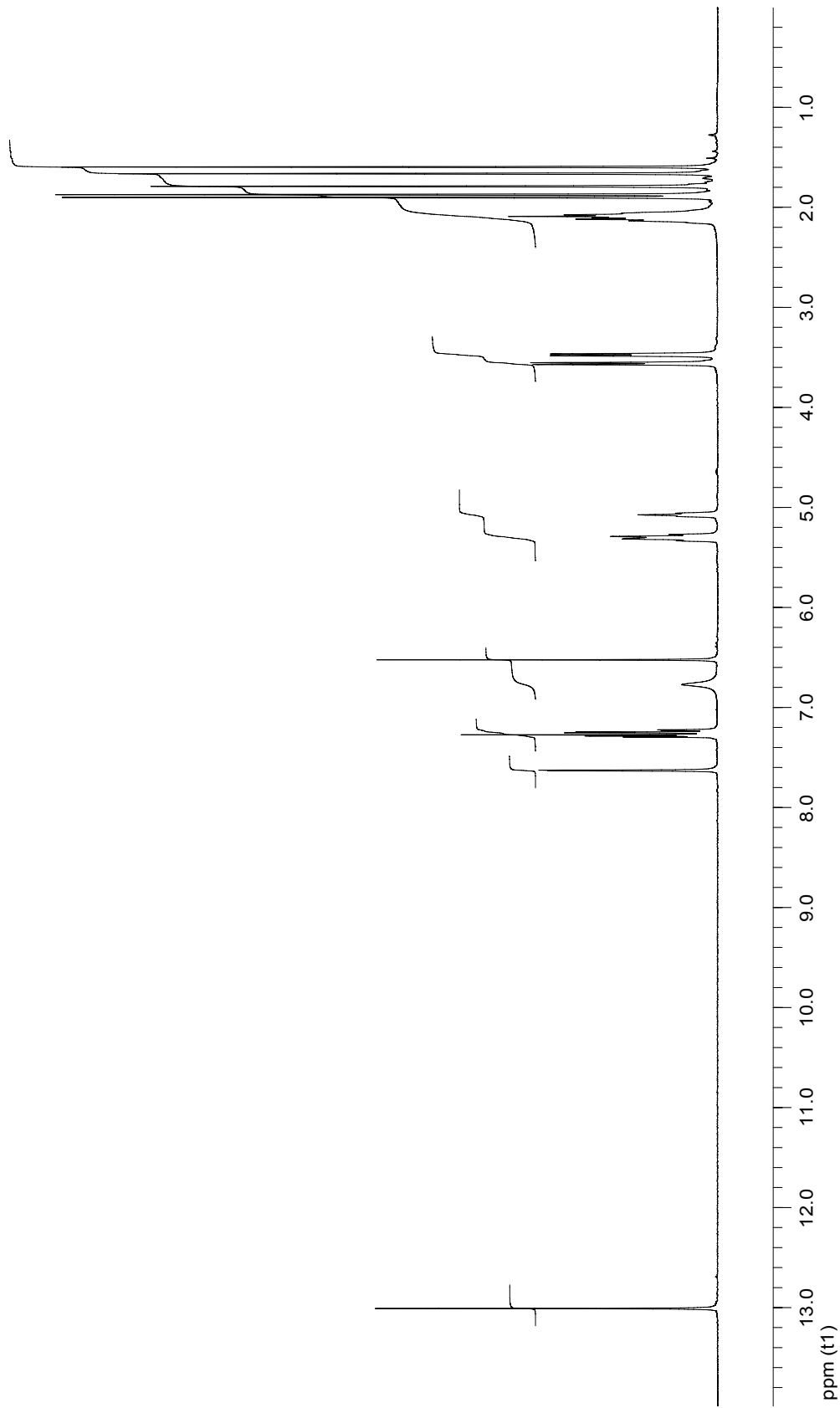
ภาพที่ 76  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\beta$ -magostin (CT3)



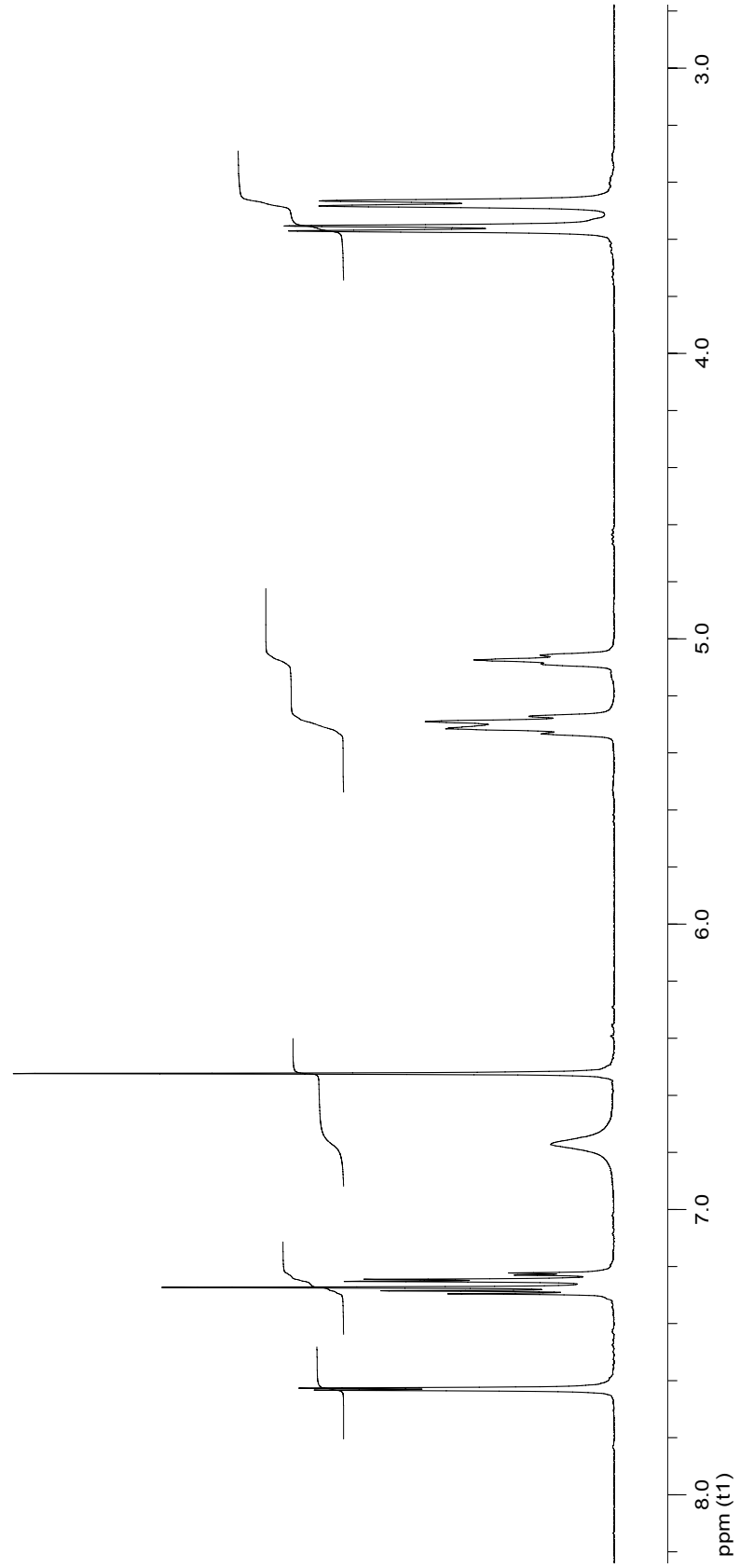
ภาพที่ 77  $^1\text{H}$  NMR spectrum of  $\beta$ -magostin (CT3)



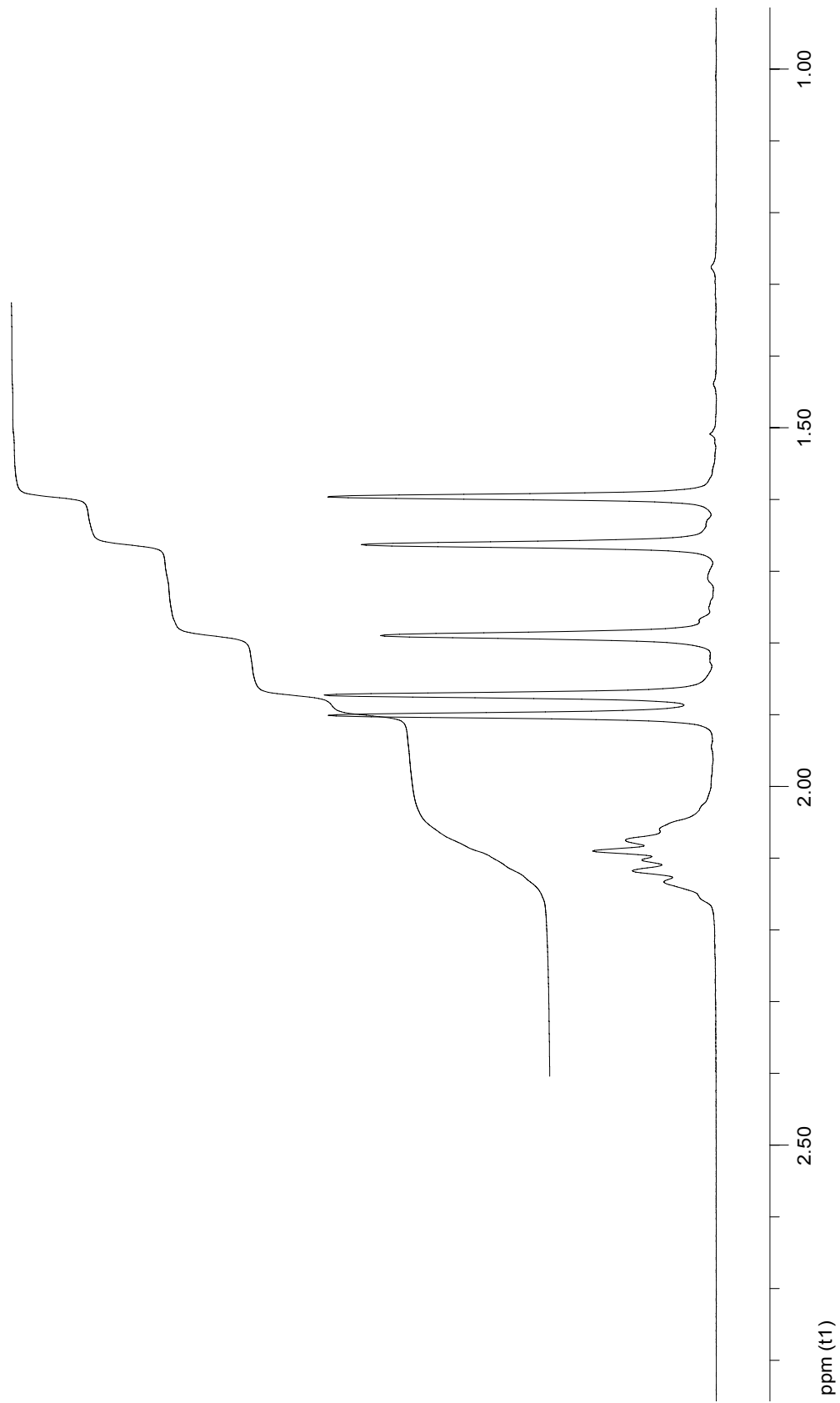
ภาพที่ 78 <sup>1</sup>H NMR spectrum of β-magostin (CT3)



ภาพที่ 79  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)

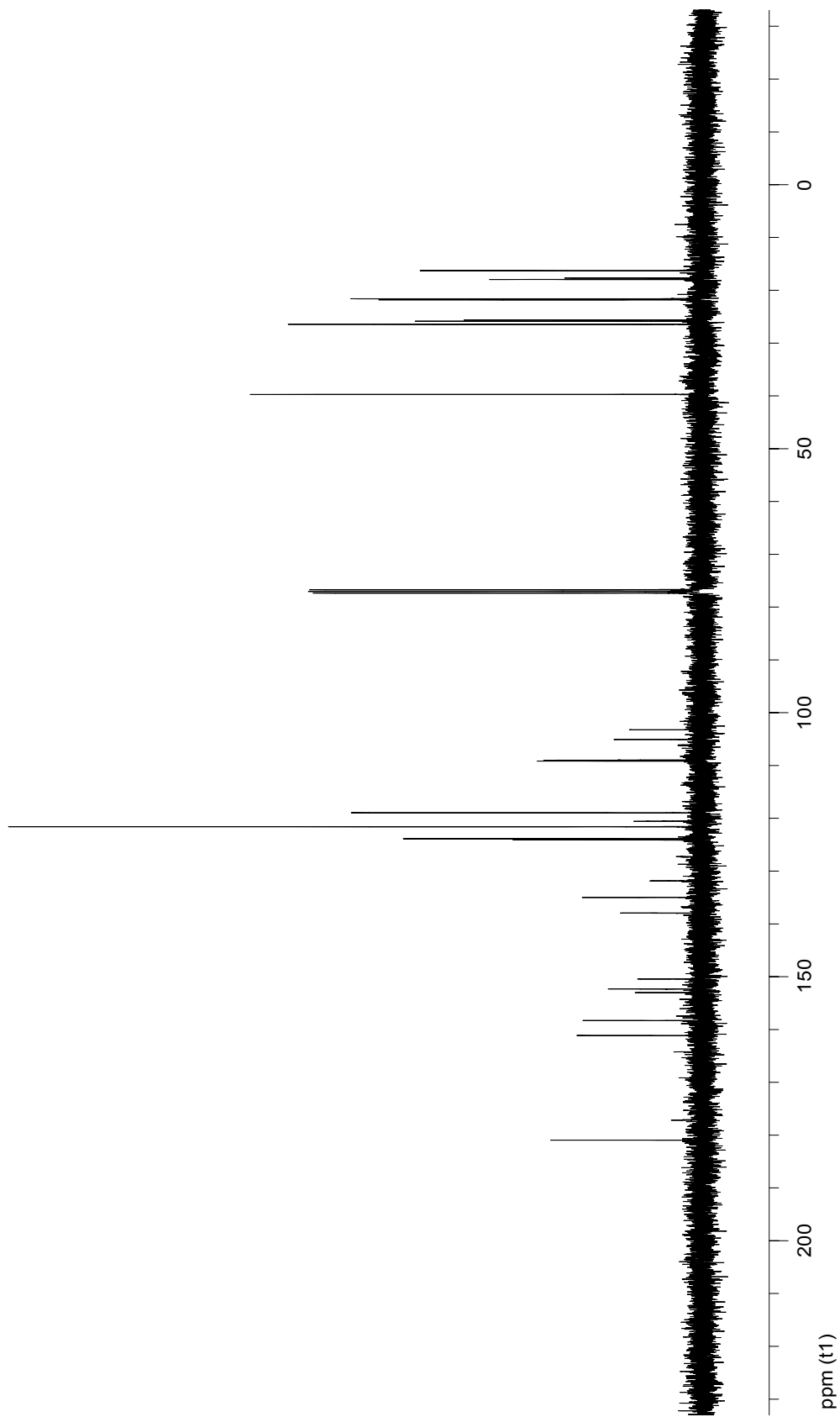


ภาพที่ 80  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)

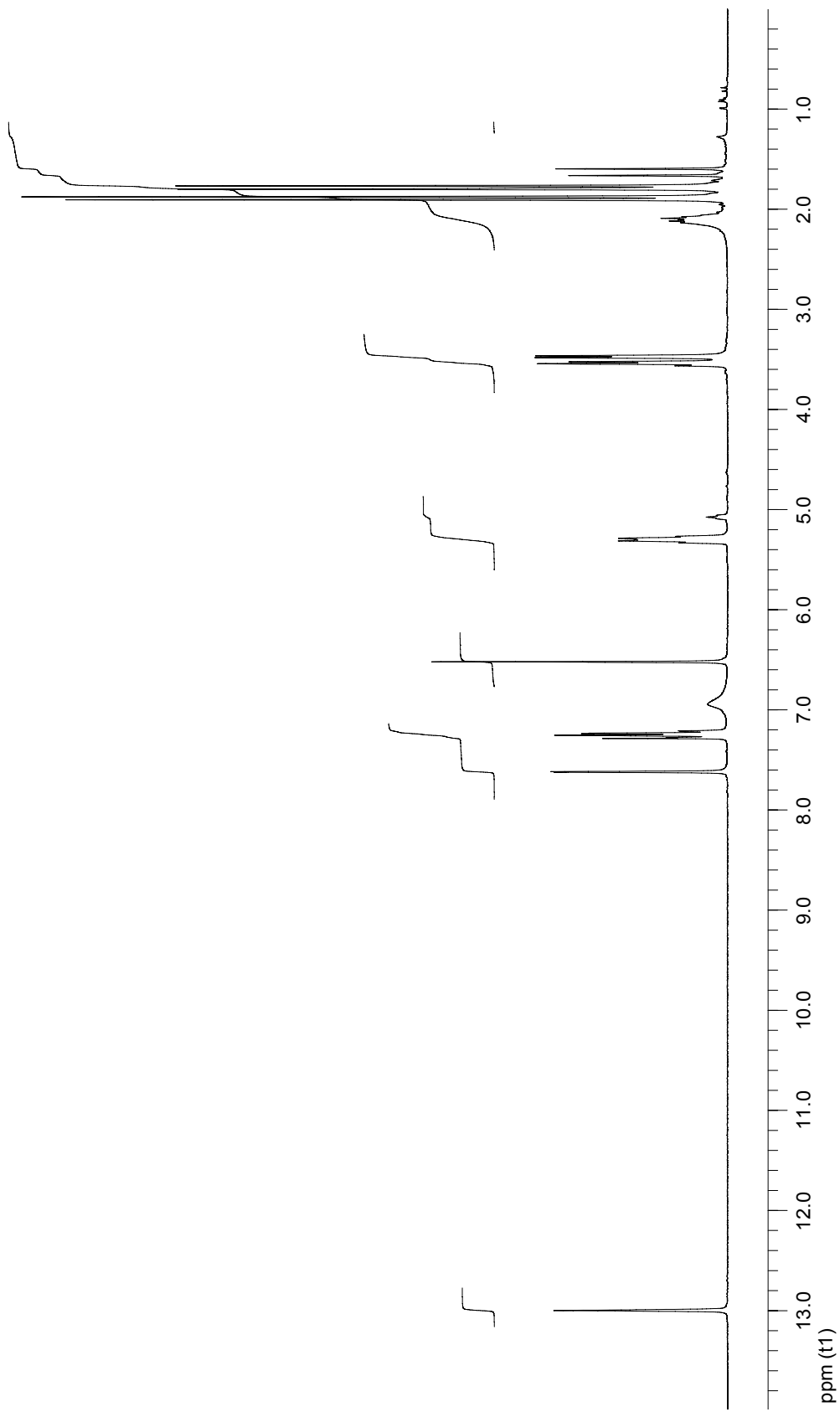


ภาพที่ 81  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)

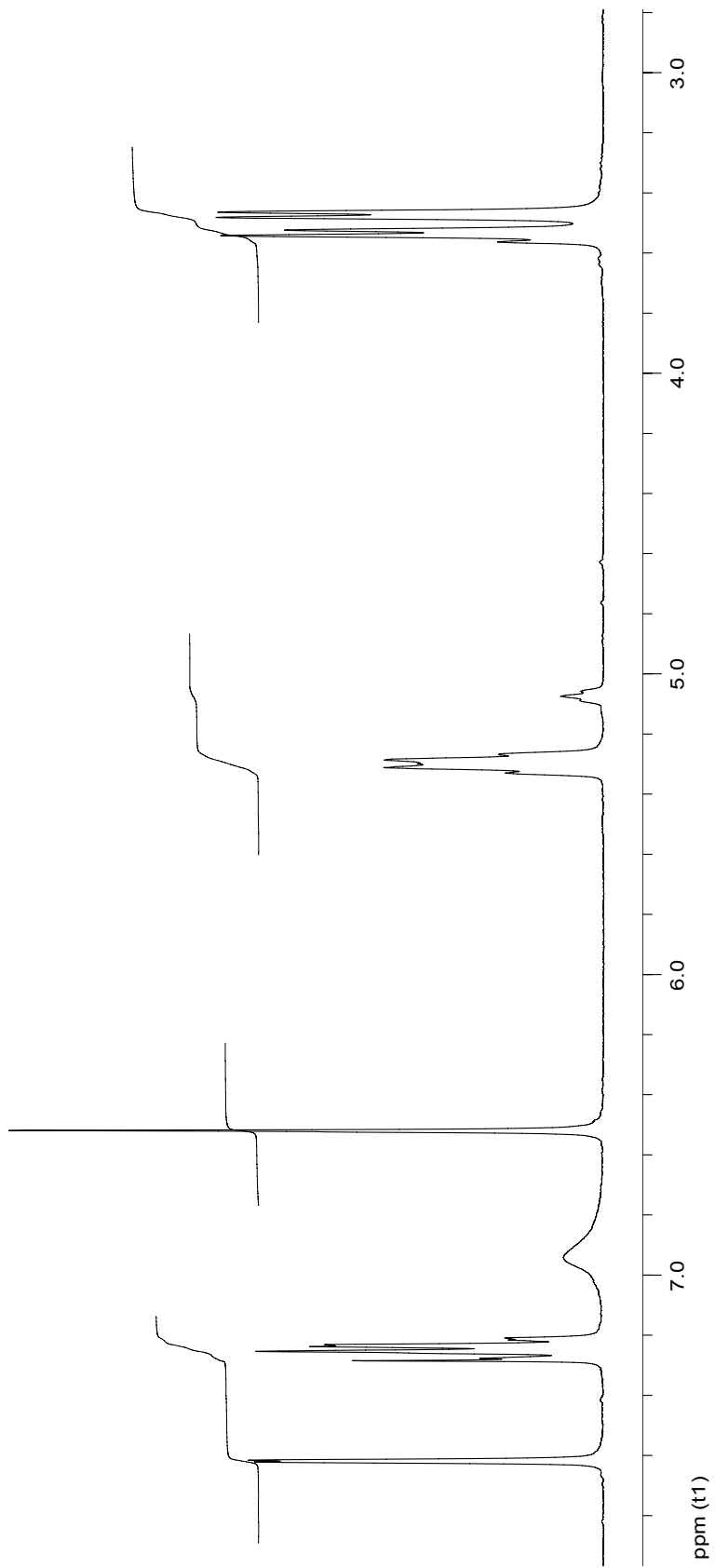




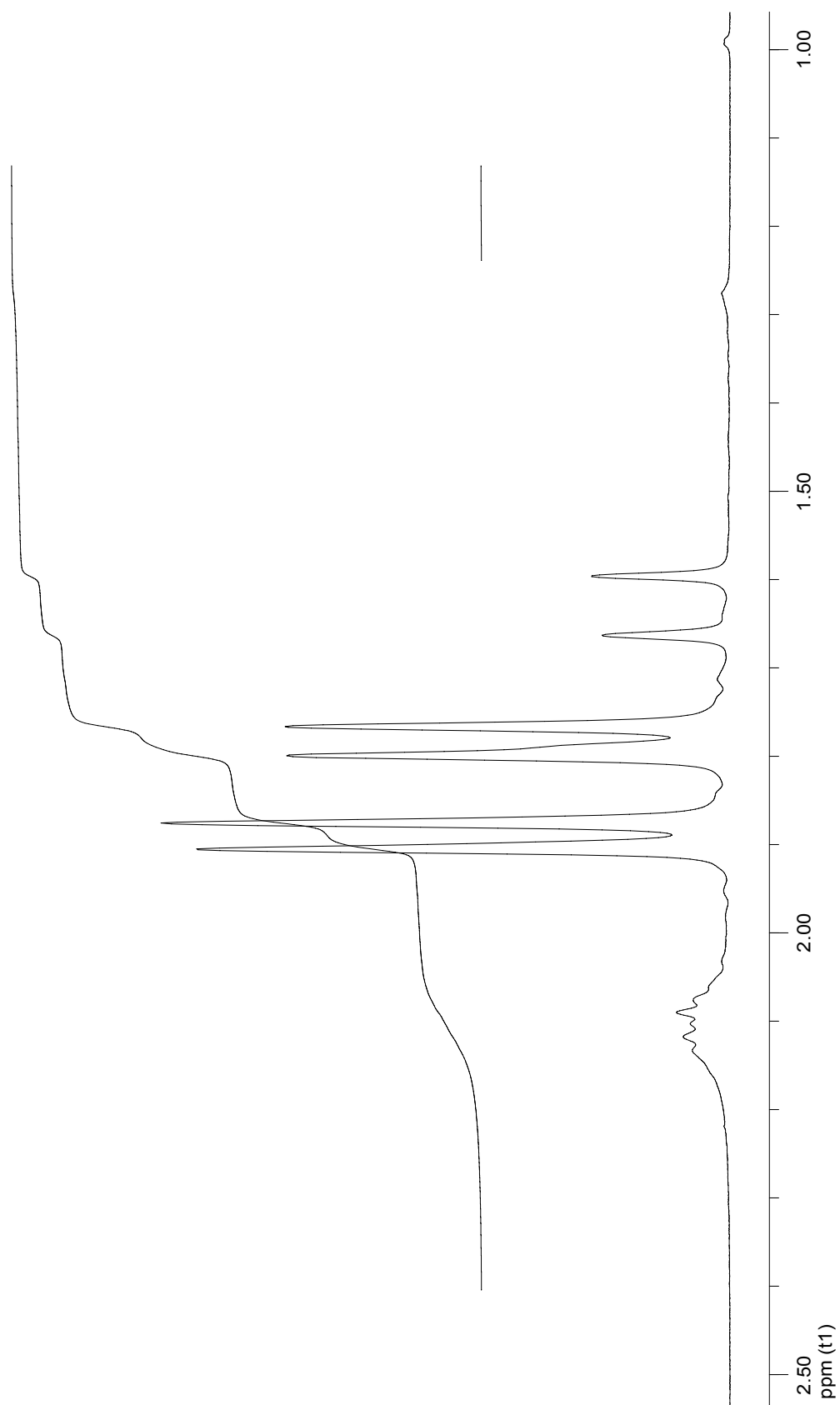
ภาพที่ 82  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of 2-geranyl-1,3,7-trihydroxy-4-(3,3-dimethylallyl)-xanthone (CT4)



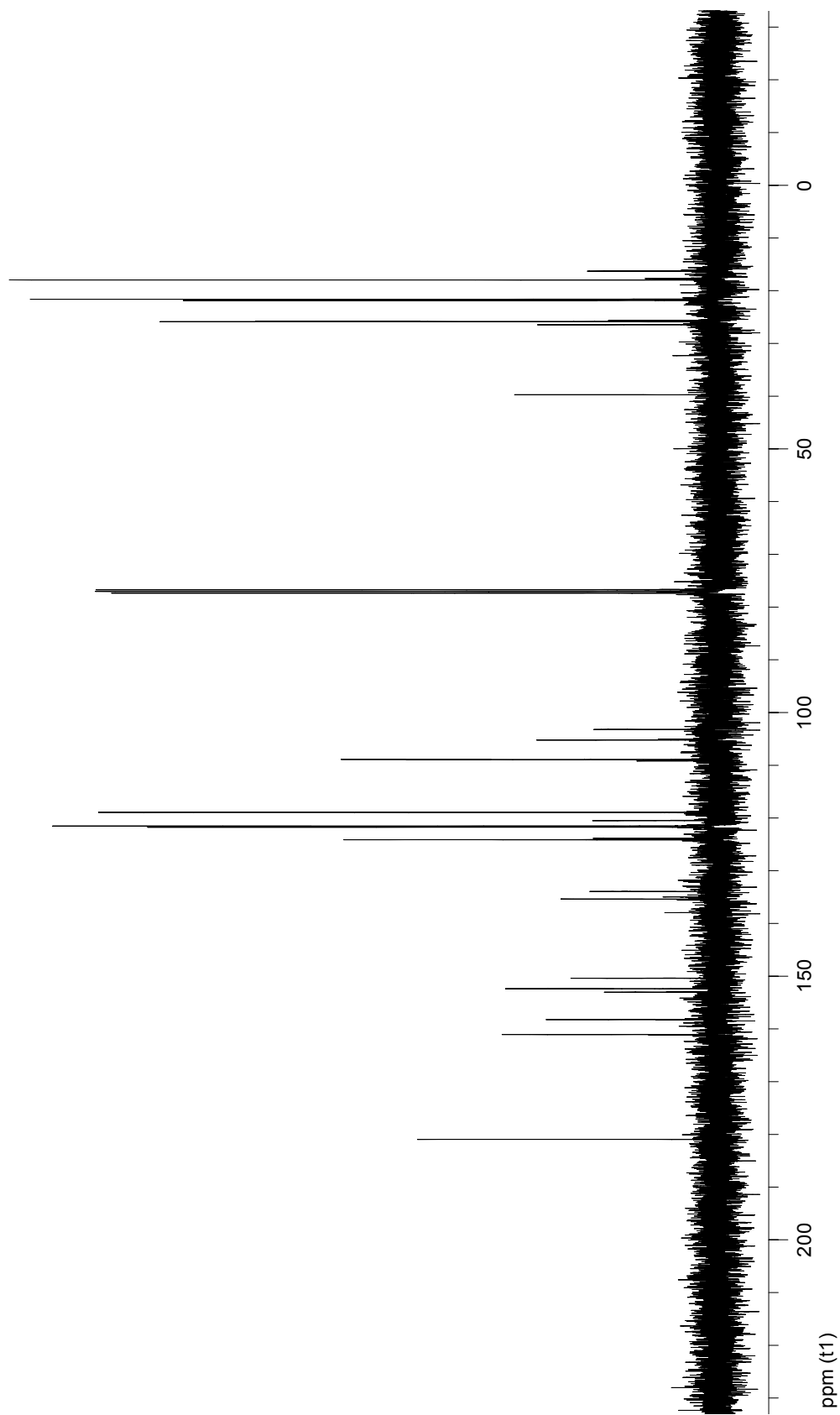
ภาพที่ 83  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)



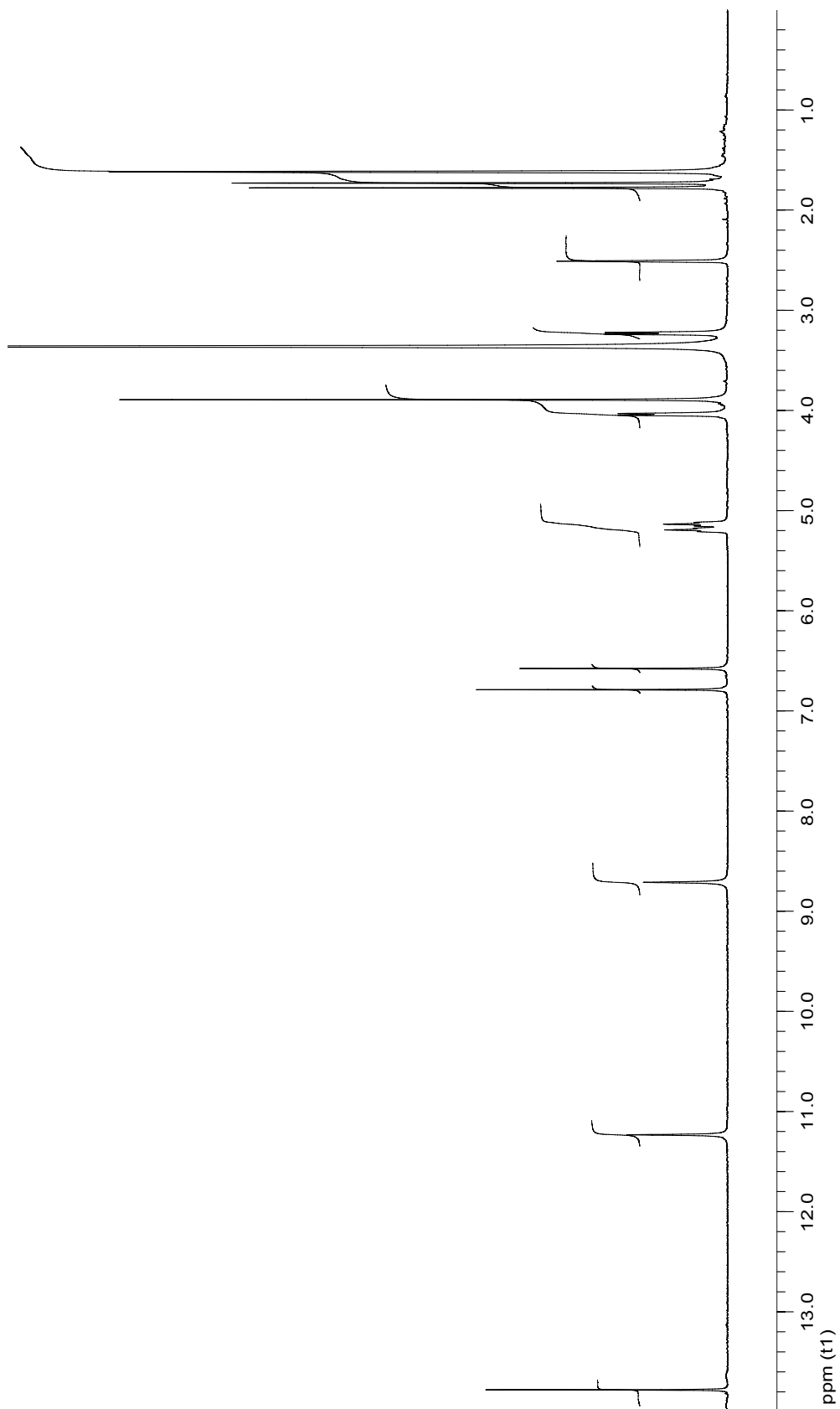
ภาพที่ 84 <sup>1</sup>H NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)



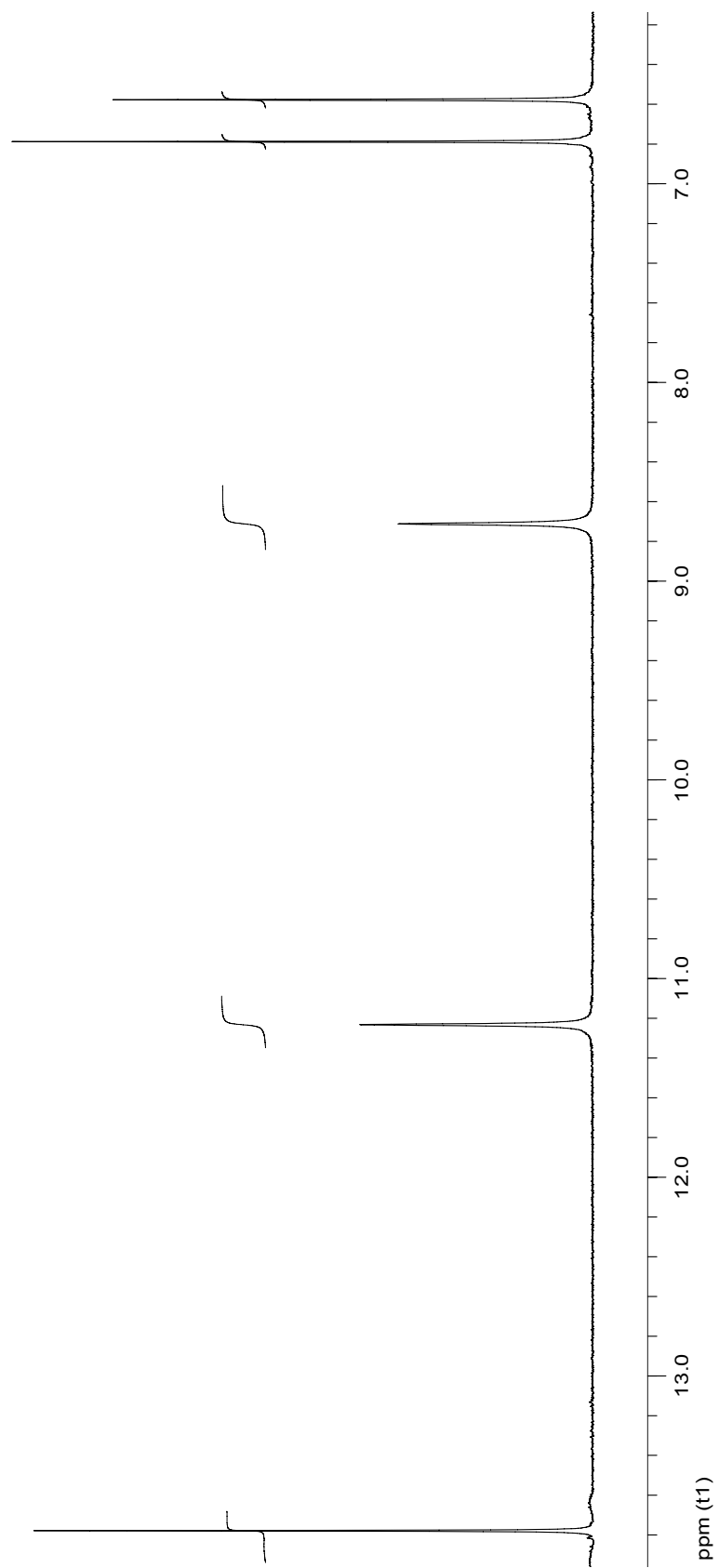
ภาพที่ 85  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)



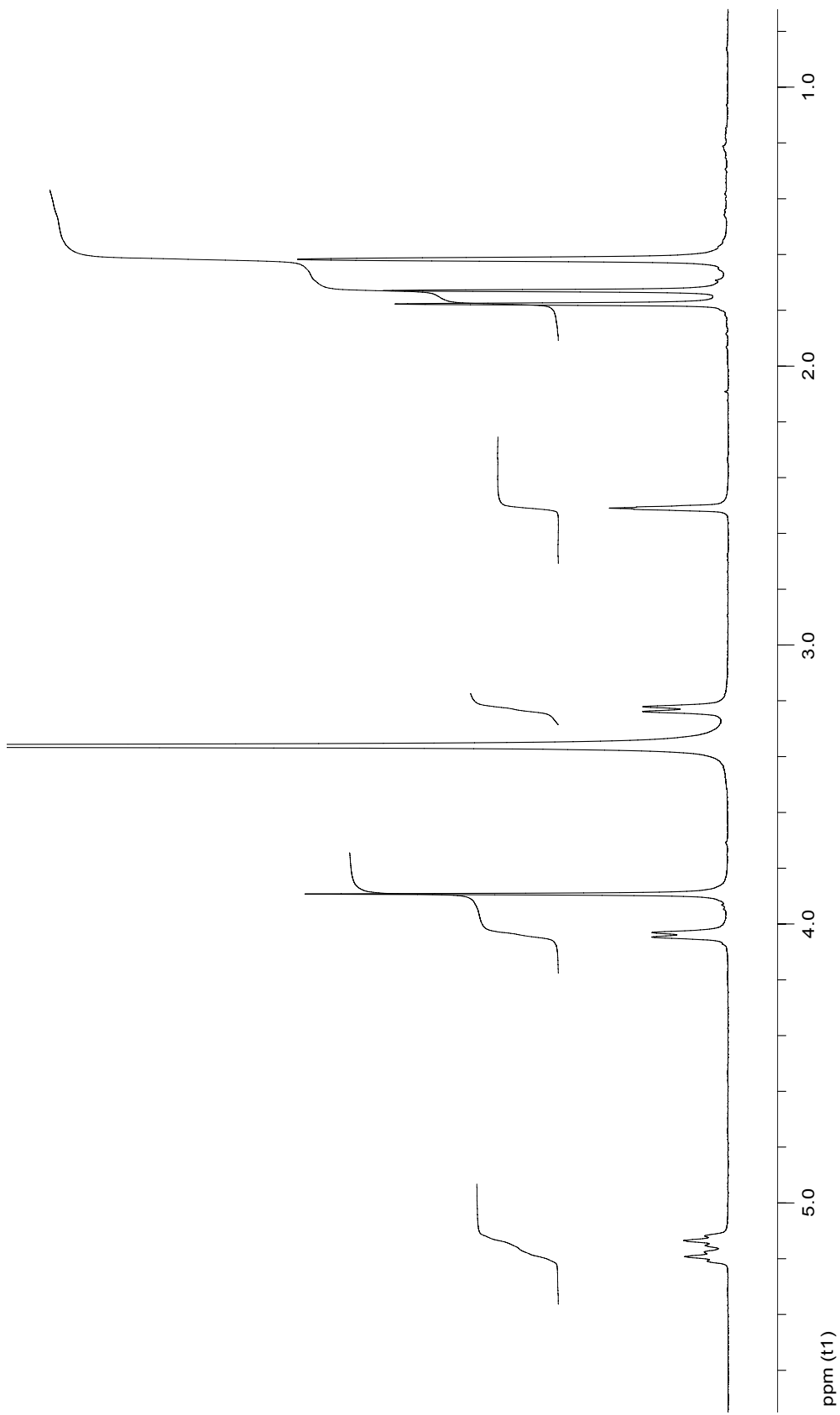
ภาพที่ 86 <sup>13</sup>C NMR spectrum of 1,3,7-trihydroxy-2,4-diisoprenylxanthone (CT5)



ภาพที่ 87 <sup>1</sup>H NMR spectrum of Dulcisanthone B (CT6)

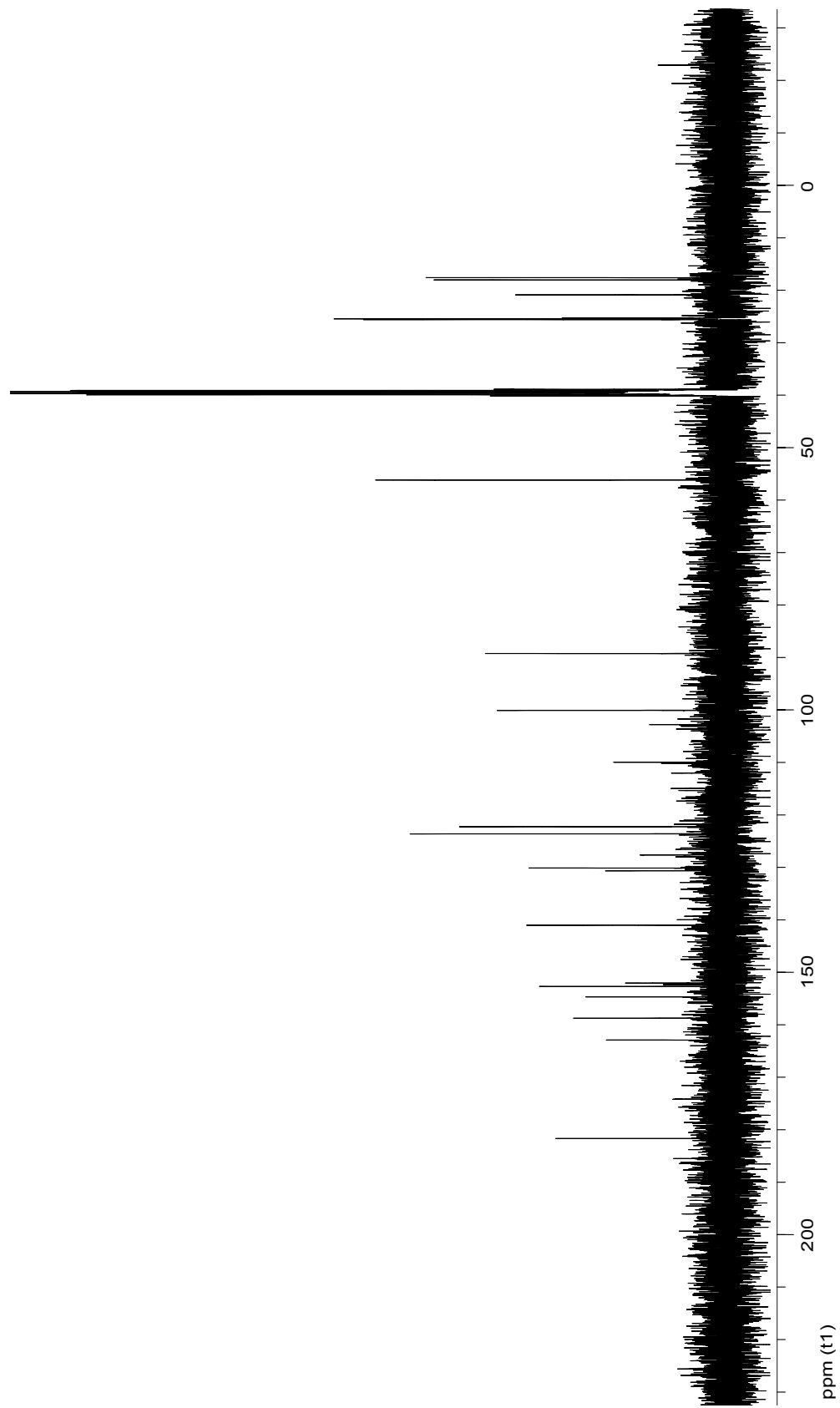


ภาพที่ 88  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Dulcisanthone B (CT6)



ภาพที่ 89  $^1\text{H}$  NMR spectrum of Dulcisanthone B (CT6)





ภาพที่ 90  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of Dulcisxanthone B (CT6)

## ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - สกุล ดร.ธเนศวร นวลไย

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานที่สามารถติดต่อได้

คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล ถนนเพชรเกษม ตำบลหนองแก อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77110

โทรศัพท์ 032-618-800 ต่อ 4805, โทรสาร 032-618-570,

โทรศัพท์มือถือ 081-444-9908,

e-mail: Thanesian.Nua@rmutr.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วท.ด.(เคมี) สาขาเคมีอินทรีย์, “2555”

ปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วท.บ.(เคมี) สาขาเคมี, “2547”

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ เคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและเคมีเครื่องสำอาง

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย -ไม่มี-