



องค์ประกอบทางเคมีกับฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

จากใบนางแดง



โดย

นางสาววิริญญา สุทัศน์วิชานนะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

องค์ประกอบทางเคมีกับฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส
จากใบนางแดง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอินทรีย์
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**CHEMICAL CONSTITUENTS WITH ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORY
ACTIVITY FROM THE LEAVES OF *MITREPHORA TEYSMANNII***



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
Master of Science Program in Organic Chemistry
Department of Chemistry
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2015
Copyright of Graduate School, Silpakorn University**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “องค์ประกอบทางเคมีกับฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสจากใบนางแดง” เสนอโดย นางสาววิรัชญา สุทัศน์วิชานนะ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ชารัทศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกอร ระย้านิล

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วยา พุทธวงศ์)

...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ประยงค์พันธ์)

...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกอร ระย้านิล)

...../...../.....



57302203 : สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

คำสำคัญ : *Mitrephora teysmannii*/ dihydrobenzofuran lignan/ mitredrusin/ α -glucosidase

inhibitory activity

วิทยุญา สุกตน์วิชานนะ : องค์ประกอบทางเคมีกับฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากไบนางแดง. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.กนกอร ระย้านิล. 121 หน้า.

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของไบนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) สามารถแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่ในกลุ่ม dihydrobenzofuran lignan ได้ 1 ตัวคือ mitredrusin (MT-11) และสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เคยมีรายงานมาก่อน 13 ตัว ซึ่งประกอบไปด้วยสารในกลุ่ม dihydrobenzofuran lignan 1 ตัวคือ (-)-3',4-di-O-methylcedrusin (MT-10) สารในกลุ่ม polyacetylenic acids 4 ตัวคือ 13(E),17-octadecadiene-9,11-diynoic acid (MT-1), 13(E)-octadecene-9,11-diynoic acid (MT-2), สารผสม 13(E)-octadecene-9,11-diynoic acid (MT-2) กับ octadeca-9,11,13-triynoic acid (MT-3) และ octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid (MT-4) สารในกลุ่ม lignans 5 ตัวคือ (-)-epieudesmin (MT-5), (-)-phillygenin (MT-6), (-)-eudesmin (MT-7), magnone A (MT-8) และ forsythialan B (MT-9) สารในกลุ่ม megastigmans 2 ตัวคือ (3S,5R,6S,7E,9R)-7-megastigmene-3,6,9-triol (MT-12) และ annoionol A (MT-13) และยังพบสารในกลุ่ม steroids 2 ตัวซึ่งเป็นสารผสมระหว่าง β -sitosterol และ stigmasterol (MT-14) การหาโครงสร้างของสารที่แยกได้ทุกตัวใช้เทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี เมื่อนำสารทุกตัวไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase พบว่า polyacetylenic acids MT-1 และ MT-2 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 59 ± 1.0 และ $53 \pm 1.7 \mu M$ ตามลำดับ มีฤทธิ์ดีกว่า acarbose ที่เป็นยารักษาโรคเบาหวาน ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ $1457 \pm 121.8 \mu M$ ถึง 20 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่า สารผสม MT-14 สารผสม MT-2 กับ MT-3 และสาร MT-4 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 95.48 ± 23.3 , 128 ± 2.5 และ $274 \pm 7.3 \mu M$ ตามลำดับ

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

57302203 : MAJOR ORGANIC CHEMISTRY

KEY WORD : *MITREPHORA TEYSMANNII* / DIHYDROBENZOFURAN LIGNAN /
MITREDRUSIN / α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY

WIRUNYA SUTASSANAWICHANNA : CHEMICAL CONSTITUENTS WITH
ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY FROM THE LEAVES OF *MITREPHORA*
TEYSMANNII. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. KANOK-ON RAYANIL, Ph.D. 121 pp.

Chemical investigation of the leaves of *Mitrephora teysmannii* led to the isolation of a new dihydrobenzofuran lignan: mitredrusin (**MT-11**) together with thirteen known compounds including a related dihydrobenzofuran lignan: (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin (**MT-10**), four polyacetylenic acids: 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid (**MT-1**), 13(*E*)-octadecene-9,11-diyonic acid (**MT-2**), a mixture of 13(*E*)-octadecene-9,11-diyonic acid (**MT-2**) and octadeca-9,11,13-triynoic acid (**MT-3**) and octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid (**MT-4**), five lignans: (-)-epieudesmin (**MT-5**), (-)-phillygenin (**MT-6**), (-)-eudesmin (**MT-7**), magnone A (**MT-8**) and forsythialan B (**MT-9**), two megastigmans: (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7- megastigmene-3,6,9-triol (**MT-12**) and annoionol A (**MT-13**) and a mixture of 2 steroids: β -sitosterol and stigmasterol (**MT-14**). The chemical structures of these compounds were established on the basis of their 1D and 2D NMR spectroscopic data. All compounds were evaluated for their α -glucosidase inhibitory activity. Among these isolates, polyacetylenic acids **MT-1** and **MT-2** showed IC_{50} values of 59 ± 1.0 and $53 \pm 1.7 \mu M$ with more than 20-fold higher activity compared with that of the antidiabetic drug acarbose ($IC_{50} 1457 \pm 121.8 \mu M$). The mixture of compounds **MT-14**, **MT-2** with **MT-3** and the compound **MT-4** also showed α -glucosidase inhibitory activity with IC_{50} values of 95.48 ± 23.3 , 128 ± 2.5 and $274 \pm 7.3 \mu M$ respectively.

Department of Chemistry

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature

Academic Year 2015

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิจัยครั้งนี้ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกอร ระย้านิล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษาในการทำงานวิจัย การเรียนและการดำเนินชีวิต ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วยา พุททวงศ์ ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ประยงค์พันธ์ กรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้แนวคิด คำแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย นิมิจิรวัดน์ ที่กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมไปถึงความเมตตา คำแนะนำและความช่วยเหลือทุกๆ อย่างในเรื่องการเรียน และการดำเนินชีวิต

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. อัญชรี รูปตาก้อง ที่กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมไปถึงการสนับสนุน ความช่วยเหลือทุกๆ อย่าง และความเมตตาที่อาจารย์มีให้มาตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.ปิยะ เฉลิมกลิ่น ผู้เชี่ยวชาญพิเศษฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้ความช่วยเหลือในการยืนยันต้นไม้มที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ฉันทนา วัฒนพิรุณย์ ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท

ขอขอบคุณ นางสาวชลธิชา เปรมปรีดิ์ สำหรับคำแนะนำในเรื่องการเรียน และความช่วยเหลือทุกๆ อย่าง

ขอขอบคุณ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น รวมทั้งเจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้คำแนะนำ และแจ้งข่าวสารต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัยตลอดการเรียน

ขอขอบคุณ อาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ ป้า แม่ และครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนทุกๆ อย่าง จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญแผนภาพ	ฐ
บทที่	
1 บทนำ	1
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับ โรคเบาหวาน	1
ประเภทของเบาหวาน	1
ลักษณะของโรคเบาหวานประเภทที่ 1 และ 2	3
กลไกการเกิดโรคเบาหวาน	4
กลุ่มยารักษาโรคเบาหวาน	5
ยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase	7
ผลกระทบจากโรคเบาหวาน	8
แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน	9
พืชสกุลมหาพรหม (<i>Mitrephora</i>)	11
รายละเอียดต้นไม้ที่ทำการศึกษา	
นางแดง (<i>Mitrephora teysmannii</i>)	12
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการศึกษางค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุลมหาพรหม (<i>Mitrephora</i>)	
งานวิจัยสำหรับพืชสกุล <i>Mitrephora</i> อื่นๆ	13
งานวิจัยสำหรับพืช <i>Mitrephora teysmannii</i> หรือ <i>Mitrephora maingayi</i>	23
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	25
2 การทดลอง	
เครื่องมือและสารเคมี	26
พืชที่ใช้ในงานวิจัย	26

	หน้า
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	
การเตรียมส่วนสกัดหยาบใบนางแดง (crude extract).....	27
การสกัดลำดับส่วน (sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบ ใบนางแดง.....	27
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบ hexane จาก ใบนางแดง.....	29
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate จาก ใบนางแดง.....	41
ปฏิกิริยา hydrolysis ของ mitredrusin (MT-11).....	74
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase.....	74
การคำนวณหาค่า IC ₅₀	77
3 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	79
การประเมินผลฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase.....	97
รายการอ้างอิง	98
ภาคผนวก.....	104
ภาคผนวก ก ตัวอย่างและสัญลักษณ์	105
ภาคผนวก ข Supporting Information	108
ผลงานที่เผยแพร่	120
ประวัติผู้วิจัย	121

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงลักษณะอาการของโรคเบาหวานประเภทที่ 1 และ 2.....	3
2.1 แสดง fraction MT-L-H1 ถึง MT-L-H30 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ hexane (MT-L-H).....	29
2.2 แสดง fraction MT-L-H13-1 ถึง MT-L-H13-19 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13	31
2.3 แสดง fraction MT-L-H13-7-1 ถึง MT-L-H13-7-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13-7.....	32
2.4 แสดง fraction MT-L-H13-9-1 ถึง MT-L-H13-9-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13-9.....	33
2.5 แสดง fraction MT-L-H18-1 ถึง MT-L-H18-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18.....	33
2.6 แสดง fraction MT-L-H18-11-1 ถึง MT-L-H18-11-4 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18-11.....	34
2.7 แสดง fraction MT-L-H25-1 ถึง MT-L-H25-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25.....	35
2.8 แสดง fraction MT-L-H25-15-1 ถึง MT-L-H25-15-9 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25-15.....	36
2.9 แสดง fraction MT-L-H30-1 ถึง MT-L-H30-44 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30.....	37
2.10 แสดง fraction MT-L-H30-21-1 ถึง MT-L-H30-21-6 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30-21.....	40
2.11 แสดง fraction MT-L-H30-23-1 ถึง MT-L-H30-23-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30-23.....	40
2.12 แสดง fraction MT-L-E1 ถึง MT-L-E25 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate (MT-L-E).....	41
2.13 แสดง fraction MT-L-E19-1 ถึง MT-L-E19-27 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19.....	43

ตารางที่	หน้า
2.14 แสดง fraction MT-L-E19-8-1 ถึง MT-L-E19-8-4 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19-8.....	44
2.15 แสดง fraction MT-L-E19-23-1 ถึง MT-L-E19-23-6 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19-23.....	45
2.16 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-1 (CDCl_3).....	50
2.17 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-2 (CDCl_3).....	51
2.18 ข้อมูล ^1H NMR spectrum ของสารผสม MT-2 กับ MT-3 (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references.....	52
2.19 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum ของสารผสม MT-2 กับ MT-3 (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references.....	53
2.20 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-4 (CD_3OD).....	54
2.21 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-5 (CDCl_3).....	55
2.22 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-6 (CDCl_3).....	57
2.23 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-7 (CDCl_3).....	59
2.24 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-8 (CDCl_3).....	61
2.25 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-9 (CDCl_3).....	63
2.26 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-10 (CDCl_3).....	65
2.27 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-11 (CDCl_3).....	66
2.28 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-12 (CD_3OD).....	68
2.29 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-13 (CD_3OD).....	69
2.30 ข้อมูล ^1H NMR spectrum ของสารผสม MT-14 (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references.....	70
2.31 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum ของสารผสม MT-14 (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references.....	72
2.32 แสดงสารละลายที่ใช้ในการทดสอบเพื่อหา % inhibition.....	76
2.33 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ของ MT-1 ถึง MT-14	78

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 รูปแสดงอาการที่สำคัญของโรคเบาหวาน	3
1.2 รูปแสดงการทำงานของอินซูลินในร่างกาย.....	4
1.3 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อน ให้สร้างอินซูลิน.....	5
1.4 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยาที่ส่งเสริมการทำงานของอินซูลิน.....	6
1.5 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยาที่ยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase	6
1.6 รูปแสดงลักษณะพืชที่มีสารยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase.....	7
1.7 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Annonaceae.....	10
1.8 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ debilisone C (11), asimilobine (12), metrephorone A (13) และ lawinal (14).....	11
1.9 รูปแสดงลักษณะต้นและใบของนางแดง (<i>Mitrephora teysmannii</i>).....	12
1.10 รูปแสดงลักษณะดอกและผลของนางแดง (<i>Mitrephora teysmannii</i>).....	13
1.11 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 13(E),17-octadecadiene-9,11-dienoic acid (15) และ 17-octadecene-9,11,13-trienoic acid (16).....	14
1.12 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ diterpenes 17-20 ที่แยกได้จากเปลือกของลำต้น <i>Mitrephora celebica</i>	15
1.13 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid (21).....	15
1.14 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ metrephorone A-C (22-24).....	16
1.15 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ clerodane diterpenes.....	16
1.16 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ thoreliamides A-C (27-29) และ thorelinin (30)	17
1.17 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ Azafluorenone alkaloids.....	18
1.18 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม ent-kaurenoid (33-35) สารกลุ่ม polyacetylenic acids/ester (36-40) และสารกลุ่ม aporphine alkaloid (41)..	19
1.19 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ oxoputerine (42), liriodenine (43), phylligenine (44) และ quebrachitol (45).....	19
1.20 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากกิ่งของต้นพรหมขาว (<i>Miterphora alba</i>).....	20

รูปที่	หน้า
1.21 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากกิ่งของต้นพรหมขาว (<i>Mitrophora alba</i>).....	20
1.22 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 5-oxonoraporphine 61 และ 62 ouregidione (63), 3-methoxycepharadione B (64) และ isoelemicin (65).....	22
1.23 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ maingayinine (66).....	23
1.24 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากใบของ <i>Mitrophora teysmannii</i>	23
1.25 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากลำต้นของ <i>Mitrophora teysmannii</i>	24
1.26 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ mitregenin (77).....	24
2.1 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (sequential extraction).....	28
2.2 รูปแสดงโครงสร้างของสารที่แยกได้จากใบนางแดง.....	46
2.3 แสดงภาพของ 96 well-plate.....	76
2.4 แสดงกราฟที่พลอตระหว่างค่า % inhibition กับ ความเข้มข้น ของสารตัวอย่าง (mg/mL).....	77
ภาพผนวก ข.1 ¹ H NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11).....	109
ภาพผนวก ข.2 ¹³ C NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11).....	111
ภาพผนวก ข.3 COSY NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11).....	113
ภาพผนวก ข.4 HMQC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11).....	115
ภาพผนวก ข.5 HMBC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11).....	117

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่		หน้า
1.1	แสดงการเกิดปฏิกิริยาของ conocarpan (56) และ โครงสร้างทางเคมีของ 3'-methoxyconocarpan (57).....	21
2.1	แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ PNPG.....	74



บทที่ 1

บทนำ

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคเบาหวาน

เบาหวาน (Diabetes mellitus; DM) เป็นกลุ่มโรคที่รักษาไม่หาย เกี่ยวข้องกับการเผาผลาญอาหารซึ่งผู้ป่วยมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เบาหวานเป็นโรคที่พบได้มากในคนทุกเพศและทุกวัย แต่จะพบได้สูงขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้น โดยเฉพาะผู้สูงอายุ และเนื่องจากในปัจจุบันมีจำนวนผู้สูงอายุมากขึ้น จึงพบจำนวนผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานสูงขึ้นเรื่อยๆ จากข้อมูลสถิติเบาหวานทั่วโลกเมื่อ 23 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559 คาดว่าจำนวนผู้ป่วยเบาหวานจะเพิ่มขึ้นจาก 415 ล้านคนในปี ค.ศ. 2015 (พ.ศ. 2558) เป็น 642 ล้านคนในปี ค.ศ. 2045 (พ.ศ. 2588) จากรายงานของสหพันธ์เบาหวานนานาชาติ (IDF) ปี พ.ศ. 2558 พบว่าในปัจจุบันมีผู้เป็นโรคเบาหวาน 1 คน จากจำนวนผู้ใหญ่ 11 คน และพบว่าจะมีผู้เสียชีวิตจากเบาหวานในทุกๆ 6 วินาที [1] ทำให้เป็นสาเหตุการตายสูงสุดอันดับ 8 ซึ่งถือเป็นโรคที่เพิ่มความเสี่ยงการตายอย่างน้อย 2 เท่า [2] ส่วนในประเทศไทยพบผู้ป่วยเบาหวานประมาณ 3.5 ล้านคนซึ่งจากตัวเลขจะเห็นว่า [3] ผู้ป่วยด้วยโรคนี้มีจำนวนมากและมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี เนื่องจากเบาหวานเป็นโรคที่รักษาไม่หาย ดังนั้นวิธีการและยาที่ใช้ควบคุมจึงถือว่ามีความสำคัญอย่างมาก

โรคเบาหวานถือเป็นปัญหาด้านสุขภาพอันดับต้นๆของโลก โดยองค์การอนามัยโลก (WHO) และสหพันธ์เบาหวานนานาชาติ (IDF) ได้กำหนดให้วันที่ 14 พฤศจิกายนของทุกปี เป็นวันเบาหวานโลก (World Diabetes Day) เพื่อให้ทุกองค์กรได้ตระหนักถึงความสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรคเบาหวาน

ประเภทของเบาหวาน

จากการศึกษาพบว่า เบาหวานสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทหลักๆ คือ

เบาหวานประเภทที่ 1 (Diabetes mellitus type 1)

เบาหวานประเภทนี้พบได้น้อยประมาณร้อยละ 5% ของเบาหวานทั้งหมด สาเหตุเกิดจากตับอ่อนสร้างฮอร์โมนอินซูลินได้น้อยผิดปกติหรือสร้างไม่ได้ ผู้ป่วยจึงต้องได้รับการรักษาด้วยการฉีดยาอินซูลินตลอดชีวิต ดังนั้นจึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โรคเบาหวานชนิดต้องพึ่งอินซูลิน (Insulin-dependent diabetes mellitus) เบาหวานชนิดนี้มักพบในเด็กและวัยรุ่น โดยสามารถสืบทอดทาง

พันธุกรรมได้บางส่วน โรคเบาหวานประเภทนี้จะไม่เกี่ยวข้องกับการดำเนินชีวิต จากข้อมูลพบว่าเบาหวานประเภทนี้มีน้อยกว่า 4 ต่อประชากร 100,000 คน ประเทศที่พบมากที่สุดคือ กลุ่มประเทศสแกนดิเนเวีย [4]

เบาหวานประเภทที่ 2 (Diabetes mellitus type 2)

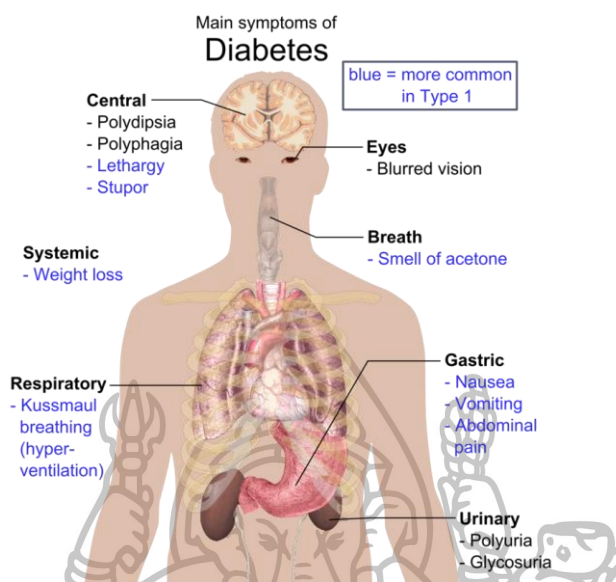
เบาหวานประเภทที่ 2 เป็นเบาหวานที่มักจะพบในผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป โดยเฉพาะในคนอ้วน จึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เบาหวานในผู้ใหญ่ (Adult onset diabetes mellitus) และเป็นเบาหวานที่ไม่จำเป็นต้องพึ่งอินซูลิน (Non- insulin-dependent diabetes mellitus) หรือเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน กล่าวคือ ร่างกายสามารถสร้างอินซูลินได้ตามปกติหรือมากกว่าปกติ แต่อินซูลินที่ไม่สามารถนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ได้ [5] ซึ่งเบาหวานประเภทนี้พบได้สูงที่สุดประมาณร้อยละ 90-95% ของโรคเบาหวานทั้งหมด ดังนั้นเมื่อก้าวถึงโรคเบาหวานจึงมักหมายถึงโรคเบาหวานประเภทนี้ เบาหวานประเภทที่ 2 ส่วนใหญ่เกิดจากปัจจัยด้านการดำเนินชีวิต เช่น ขาดการออกกำลังกาย รับประทานอาหารที่ไม่ดีต่อสุขภาพ และความเครียด เป็นต้น นอกจากนี้พันธุกรรมก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการเกิดโรคเบาหวานประเภทนี้

เบาหวานในหญิงตั้งครรภ์ (Gestational Diabetes Mellitus; GDM)

เบาหวานในหญิงตั้งครรภ์คล้ายกับเบาหวานประเภทที่ 2 พบได้ประมาณร้อยละ 2-5% ของเบาหวานทั้งหมด กล่าวคือเป็นโรคเบาหวานที่เกิดขึ้นกับมารดาในช่วงตั้งครรภ์ โดยก่อนตั้งครรภ์ไม่เคยเป็นโรคเบาหวานมาก่อน แต่หลังคลอดบุตรมีเพียงประมาณร้อยละ 5-10% ที่ยังคงเป็นผู้ป่วยโรคเบาหวาน

นอกจากนี้เบาหวานอาจเกิดจากสาเหตุอื่นๆ เช่น โรคของตับอ่อน โรคทางพันธุกรรม โรคเนื้องอกของต่อมหมวกไตที่สร้างฮอร์โมน เป็นต้น

ลักษณะของโรคเบาหวานประเภทที่ 1 และ 2



รูปที่ 1.1 รูปแสดงอาการที่สำคัญของโรคเบาหวาน [6]

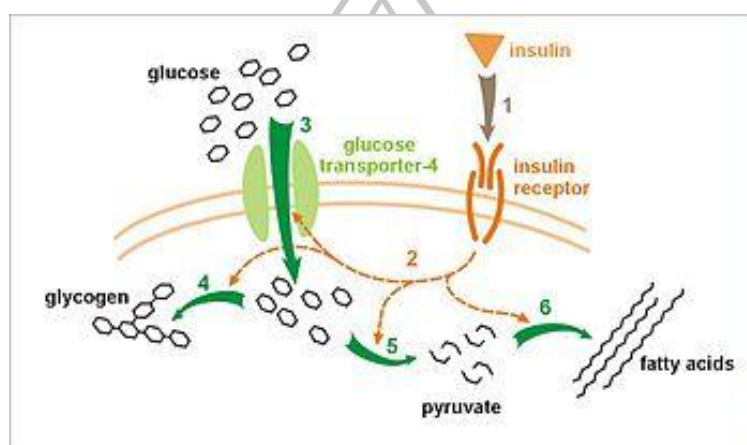
สำหรับลักษณะอาการของโรคเบาหวานประเภทที่ 1 และ 2 แสดงดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แสดงลักษณะอาการของโรคเบาหวานประเภทที่ 1 และ 2

ประเภทที่ 1 (<i>Diabetes mellitus type 1</i>)	ประเภทที่ 2 (<i>Diabetes mellitus type 1</i>)
พบได้ประมาณร้อยละ 10 ของผู้ป่วย	พบได้ประมาณร้อยละ 90 ของผู้ป่วย
พบได้ในผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 35 ปี	พบได้ทุกวัย
รูปร่างผอม	รูปร่างอ้วน
เกิดโรคแบบเฉียบพลัน	ตาพร่ามัว
บัสสาวะบ่อย	เป็นแผลหายช้า
กระหายน้ำบ่อย	พบอาการชาบริเวณมือและเท้า
อยากอาหารบ่อย	ติดเชื่อตามผิวหนัง ปากหรือกระเพาะบัสสาวะ
น้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว	-
มีอาการเหนื่อยหรือเพลียอ่อนแรง	-
เกิดภาวะคีโตน	-

กลไกการเกิดโรคเบาหวาน

ฮอร์โมนอินซูลิน (insulin hormone) คือฮอร์โมนที่ถูกสร้างจากตับอ่อน เป็นฮอร์โมนหลักที่ควบคุมการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคส (glucose) จากเลือดเข้าสู่เซลล์ของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย โดยเฉพาะตับ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมัน แต่เมื่อตับอ่อนสร้างอินซูลินได้น้อยกว่าปกติ หรือเกิดความผิดปกติบางอย่างที่ทำให้เซลล์ไม่สามารถนำอินซูลินไปใช้ได้ถึงแม้ว่าตับอ่อนจะสร้างอินซูลินได้ตามปกติ ที่เรียกว่า เซลล์ดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) จึงส่งผลให้มีน้ำตาลเหลือคั่งในเลือดสูงมากกว่าปกติ และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเบาหวานขึ้น ซึ่งการทำงานของอินซูลินแสดงดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 รูปแสดงการทำงานของอินซูลินในร่างกาย [7]

โดยปกติร่างกายได้รับน้ำตาลกลูโคสจาก 3 แหล่งหลัก คือ

1. การดูดซึมอาหารของลำไส้
2. การแตกตัวของไกลโคเจน (เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากการรวมตัวของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งถูกสะสมไว้ที่ตับและกล้ามเนื้อ)
3. กระบวนการ gluconeogenesis (การผลิตกลูโคสจากสารตั้งต้นที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตในร่างกาย)

อินซูลินมีบทบาทที่สำคัญในการรักษาสมดุลของระดับน้ำตาลในร่างกาย โดยสามารถยับยั้งการแตกตัวของไกลโคเจนและกระบวนการ gluconeogenesis นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นให้ร่างกายเกิดการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็นไขมันและเซลล์กล้ามเนื้อ สำหรับประเทศไทยกระทรวงสาธารณสุขร่วมกับสมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยและสำนักงานประกันสุขภาพถ้วนหน้า ได้กำหนดระดับน้ำตาลในเลือดสำหรับภาวะปกติที่ 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร [7]

กลุ่มยารักษาโรคเบาหวาน

วัตถุประสงค์หลักสำหรับการรักษาโรคเบาหวาน คือเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดให้มีค่าใกล้เคียงปกติ (126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) และเพื่อป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อน โดยวิธีการที่สำคัญ ได้แก่ การออกกำลังกายและการควบคุมอาหาร รวมทั้งการใช้อินซูลินในผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมาก ซึ่งยาที่ใช้สำหรับรักษาโรคเบาหวานในประเทศไทยมีหลายประเภท ทั้งแบบที่ใช้ฉีดและรับประทาน สามารถแบ่งได้ดังนี้

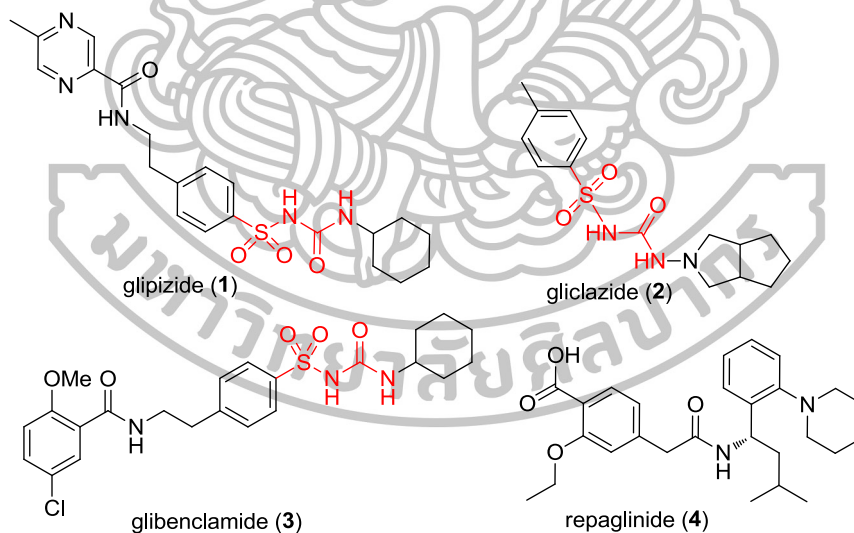
1. ยาฉีดอินซูลิน

ยาประเภทนี้ใช้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณต้นขา หรือหน้าท้อง วันละ 1-4 ครั้ง ก่อนอาหารประมาณ 30 นาที ควรหมุนเวียนเปลี่ยนที่ฉีดเข้าใต้ผิวหนังแทนการฉีดซ้ำที่เดิมแต่ยังคงอยู่ในบริเวณผิวหนังเดียวกัน

2. ยารับประทาน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม

2.1 กลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้สร้างอินซูลิน

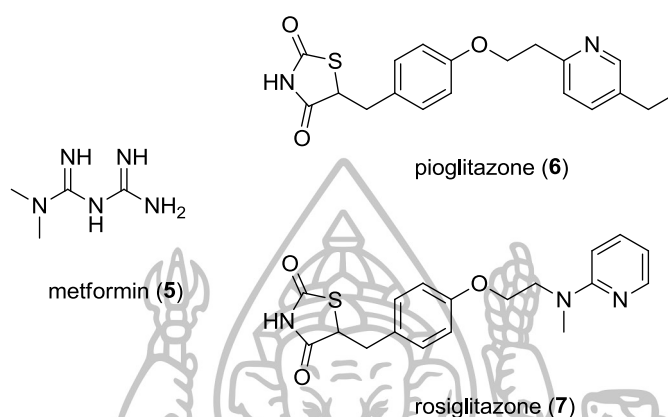
- ยากลุ่ม sulfonylurea เช่น glipizide (1), gliclazide (2) และ glibenclamide (3)
- ยากลุ่ม repaglinide (4)



รูปที่ 1.3 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยาที่กระตุ้นการทำงานของตับอ่อนให้สร้างอินซูลิน

2.2 กลุ่มยาที่ส่งเสริมการทำงานของอินซูลิน

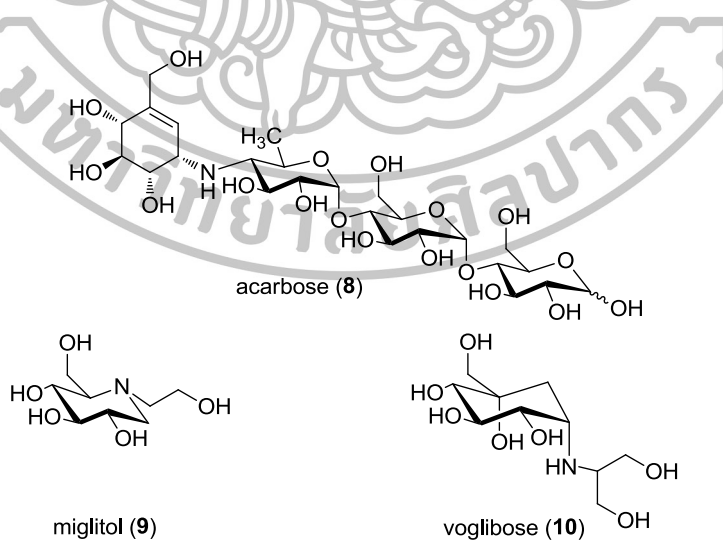
- กลุ่ม biguanide เช่น metformin (5)
- กลุ่ม thiazolidinedione เช่น pioglitazone (6) และ rosiglitazone (7)



รูปที่ 1.4 รูปแสดง โครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยาที่ส่งเสริมการทำงานของอินซูลิน

2.3 กลุ่มยาที่ขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด โดยยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

- ได้แก่ acarbose (8), miglitol (9) และ voglibose (10)



รูปที่ 1.5 รูปแสดง โครงสร้างทางเคมีของกลุ่มยายับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

ยั่วยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

เป็นยาที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้ในการรักษาโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (*Diabetes mellitus type 2*) โดยจะใช้กลไกป้องกันไม่ให้ร่างกายย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก เช่น กลูโคส ในธรรมชาติมีพืชหลายชนิดที่มีสารยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase [8] เช่น เห็ดไมตาเกะ (*Grifola frondosa*) [9] มะระจีนก (*Momordica Charantia*) [10] เป็ะตำปึง (*Gynura divaricata DC*) [11] พญาวานร (*Pseuderatherum platiferum*) [12] อินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia speciosa (L.) Pers*) [13] และกระดุมทองเลื้อย (*Wedelia trilobata (L.) Hitchc*) [14] เป็นต้น ดังรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 รูปแสดงลักษณะพืชที่มีสารยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase นั้นเกิดขึ้นโดยไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ในลำไส้เล็ก คือ α -glucosidase ไม่ให้เปลี่ยนสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ทำให้ปริมาณน้ำตาลในลำไส้ถูกดูดซึมได้น้อยและช้าลง ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดไม่เพิ่มขึ้นหรือเพิ่มเพียงเล็กน้อย

ทางการแพทย์อาจจำแนกยาที่ยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ได้ดังนี้

1. acarbose เป็นยาด้านเบาหวานที่นำมาใช้รักษาเบาหวานประเภทที่ 2 ช่วยลดระดับน้ำตาลหลังอาหาร กลไกการออกฤทธิ์ของ acarbose คือป้องกันการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาลชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) มีผลข้างเคียงที่เด่นชัดคือ เกิดอาการท้องอืด ท้องเสีย ท้องเฟ้อ และแน่นท้อง เป็นต้น [15]

2. miglitol เป็นยาด้านเบาหวานที่นำมาใช้รักษาเบาหวานประเภทที่ 2 เช่นเดียวกัน มีกลไกการออกฤทธิ์ในการป้องกันการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide)

3. voglibose จัดเป็นยาดั้วล่าสุดในกลุ่มยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ที่ใช้รักษาเบาหวานประเภทที่ 2 แต่มีผลข้างเคียงน้อยกว่า acarbose และ miglitol

ผลกระทบจากโรคเบาหวาน

เบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่จัดว่ารุนแรง จากที่กล่าวข้างต้นแล้วว่าเป็นโรคที่รักษาไม่หาย ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติหรือใกล้เคียงเกณฑ์ปกติให้มากที่สุด ดังนั้นผู้ป่วยเบาหวานจึงต้องดูแลรักษาควบคุมโรคนี้ตลอดชีวิต ซึ่งการจะควบคุมโรคได้ดีนั้น ผู้ป่วยต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์หรือพยาบาลอย่างเคร่งครัดและที่สำคัญต้องไม่ขาดยาที่ใช้สำหรับรักษา

จากการศึกษาพบว่าผลข้างเคียงที่สำคัญของโรคเบาหวาน คือ ทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อต่างๆ ทุกชนิดในร่างกายโดยจะเป็นการอักเสบที่ไม่ติดเชื้อ การอักเสบของเนื้อเยื่อที่สำคัญคือการอักเสบของหลอดเลือด โดยจะส่งผลให้หลอดเลือดต่างๆ ตีบแคบลงรุนแรงถึงขั้นเกิดการขาดเลือดของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่างๆ ทำให้เกิดโรคข้างเคียงตามมา เช่น โรคหัวใจ โรคไตเรื้อรัง โรคหลอดเลือดสมอง โรคหลอดเลือดแดงแข็ง และภาวะเบาหวานขึ้นตา อีกทั้งเมื่อเกิดบาดแผลต่างๆ ก็หายช้า โดยเฉพาะแผลบริเวณเท้าซึ่งถ้าดูแลไม่ดีอาจถึงขั้นต้องตัดขาทิ้ง นอกจากนี้โรคเบาหวานยังส่งผลให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่างๆ ต่ำกว่าคนปกติทั่วไป จึงมีโอกาสติดเชื้อต่างๆ ได้ง่ายและมักรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิตได้

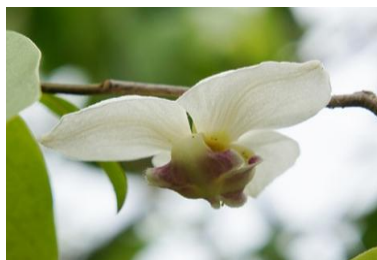
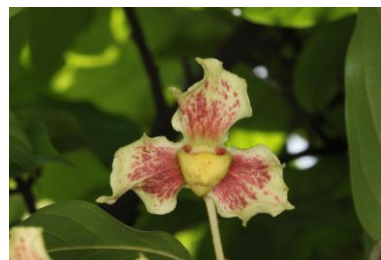
จากผลข้างเคียงและอันตรายที่เกิดจากโรคเบาหวาน จะเห็นว่าเบาหวานไม่ใช่โรคที่ควรเพิกเฉยต่อกระบวนการรักษาหรือการควบคุมโรค ดังนั้นหากในทางการแพทย์มียาที่มีการพัฒนาประสิทธิภาพมากขึ้นเรื่อยๆ อาจช่วยลดผลข้างเคียง ความรุนแรงและลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ ด้วยเหตุนี้คณะวิจัยจึงถึงเห็นความสำคัญดังกล่าวและคาดหวังว่าสารสำคัญที่ค้นพบจากการวิจัยในครั้งนี้จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีและสามารถพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน

ประเทศไทยมีการนำพืชมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน สมุนไพรเป็นแหล่งวัตถุดิบสำคัญของการค้นพบยาชนิดใหม่ๆ เพื่อนำไปใช้รักษาโรค หรือเป็นสารต้นแบบสำหรับการปรับเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อพัฒนาไปเป็นยาที่มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น โดยพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้กันทั่วไปจะมีองค์ประกอบทางเคมีของสารหลายชนิด ทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าสารตัวใดที่มีผลต่อการรักษาโดยตรง อีกทั้งไม่สามารถบอกปริมาณตัวยาสำคัญของพืชแต่ละชนิดที่ต้องใช้ การใช้ยาโดยไม่ทราบปริมาณที่แน่นอนอาจส่งผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ปัจจุบันมีเทคโนโลยีที่ก้าวหน้าจนสามารถแยกสารบริสุทธิ์จากพืชได้ ทำให้รู้ว่าสารตัวใดมีฤทธิ์และมีผลข้างเคียงเป็นอย่างไร ยิ่งไปกว่านั้นหากศึกษาถึงผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อร่างกายสามารถนำไปปรับใช้ให้เหมาะสมทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ ดังนั้นการศึกษาวิจัยทางด้านองค์ประกอบทางเคมีของพืชจึงเป็นที่น่าสนใจและมีความสำคัญเพื่อการค้นพบตัวยาใหม่ๆ ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโรค ปราศจากผลข้างเคียง และมีประสิทธิภาพต่อไป

พรรณไม้วงศ์กระดังงา (Annonaceae) มีประมาณ 131 สกุล (genera) ประกอบไปด้วยพืชมากกว่า 2,300 สปีชีส์ สำหรับในประเทศไทยที่มีการรายงานไว้คือ 41 สกุล ประกอบไปด้วยพืชประมาณ 195 สปีชีส์ [16] สำหรับพืชในวงศ์ Annonaceae เป็นพืชดอกที่มีทั้งไม้ยืนต้น ไม้พุ่ม และมีส่วนเป็นไม้เลื้อย มีถิ่นกำเนิดกระจายอยู่ในป่าดิบชื้นของทวีปแอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกาใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยวงศ์ Annonaceae จัดเป็นวงศ์ของพืชที่ใหญ่ที่สุดในอันดับ Magnoliales หรืออันดับจำปา ซึ่งเป็นอันดับของพืชมีดอก อันดับจำปาประกอบด้วย 6 วงศ์ (Families) ได้แก่ Annonaceae, Degeneriaceae, Eupomatiaceae, Himantandraceae, Magnoliaceae และ Myristicaceae [17]

พืชในวงศ์ Annonaceae มีหลายชนิด เช่น พรหมขาว (*Mitrephora alba*) [18] นางแดง (*Mitrephora teysmannii*) [19] บุหงาดอกแหลม (*Dasymaschalon acuminatum*) [20] ยางโตน (*Polyalthia viridis* Craib) [21] และสะบันงาเครือ (*Artabotrys vanprukii* Craib) [22] เป็นต้น ดังรูปที่ 1.7

*Mitrephora alba**Mitrephora teysmannii**Dasymaschalon acuminatum**Polyalthia viridis* Craib*Artabotrys vanprukii* Craib

รูปที่ 1.7 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Annonaceae

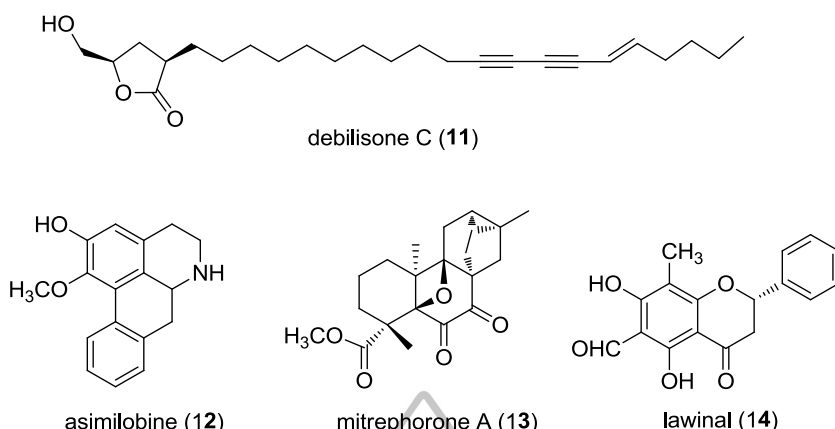
ในอดีตที่ผ่านมาการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในวงศ์ Annonaceae กันอย่างกว้างขวาง พบว่าพืชในวงศ์นี้ให้สารเคมีที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ตามลักษณะโครงสร้างได้แก่ [23]

1. กลุ่ม acetogenin เช่น debilisone C (11) ที่แยกได้จากรากของต้นครก (*Polyalthia debilis*) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรีย (antimalarial activity) [24]

2. กลุ่ม isoquinoline alkaloid เช่น asimilobine (12) ที่แยกได้จากผลของทุเรียนเทศ (*Annona muricata*) ถูกนำไปใช้เป็นสารต้นแบบสำหรับยาต้านซึมเศร้า [25]

3. กลุ่ม diterpene เช่น mitrephorone A (13) ที่แยกได้จาก *Mitrephora glabra* มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เซลล์มะเร็งปอด (H460) และเซลล์มะเร็งสมอง (SF-268) [26]

4. กลุ่ม flavanone และ chalcone เช่น lawinal (14) ที่แยกได้จากพืชในสกุล *Desmos* หลายชนิดได้แก่ *D. dumosus*, *D. chinensis* และ *D. yunnanensis* มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ HIV [27] โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.8



รูปที่ 1.8 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ debilisone C (11), asimilobine (12), mitrephorone A (13) และ lawinal (14)

พืชสกุลมหาพรหม (*Mitrephora*)

พืชสกุลมหาพรหม (*Mitrephora*) อยู่ในวงศ์ Annonaceae มีสมาชิกประมาณ 48 สปีชีส์ [28] มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กและไม้พุ่ม พบได้ในแถบเอเชีย เช่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย จีน และอินเดีย

จากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าพืชสกุล *Mitrephora* เป็นแหล่งขององค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด เช่น diterpenoids, polyacetylene carboxylic acids/esters, lignans, alkaloids และ sesquiterpenes [29] นอกจากนี้ยังพบว่า diterpenoids และ alkaloids แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) [30] ฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (antimalarial activity) [31] และแสดงความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) และเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) [26] เป็นต้น

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าพืชสกุล *Mitrephora* มีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดอีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย จึงทำให้พืชสกุลนี้ได้รับความสนใจจากคณะวิจัยต่างๆ เป็นจำนวนมาก หนึ่งในนั้นคือ คณะวิจัยของเราที่ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพรหมขาว (*Mitrephora alba*) [29] พบสารใหม่หลายชนิด และสารเหล่านี้แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เช่น เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) และเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) จากข้อมูลข้างต้น พืชสกุล *Mitrephora* น่าจะเป็นแหล่งของสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ โดยคณะวิจัยได้ทำการศึกษา preliminary screening ในส่วนสกัด hexane และ ethyl acetate ของใบนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase เท่ากับ 34.1 % และ 56.2 % ตามลำดับ (ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL) เมื่อเปรียบเทียบกับ acarbose ที่เป็นยารักษา

โรคเบาหวานซึ่งมี % inhibition เท่ากับ 89.5% ด้วยเหตุนี้จึงทำให้คณะวิจัยมีจุดมุ่งหมายที่จะแยกหาสารบริสุทธิ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase โดยคาดหวังว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้นี้จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ทดแทน acarbose สำหรับการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานในอนาคต

นางแดง (*Mitrephora teysmannii*)

Mitrephora teysmannii ชื่อพ้องคือ *Mitrephora maingayi* สามารถพบได้ในประเทศจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ไทย พม่า ลาว เวียดนาม กัมพูชา มาเลเซีย และอินโดนีเซีย สำหรับประเทศไทยรู้จักกันในชื่อ “นางแดง” จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าการนำเปลือกของนางแดงมาใช้เป็นยาพื้นบ้านเพื่อชูกำลัง [29]

นางแดงมีลักษณะเป็นไม้ต้นขนาดกลางสูงประมาณ 10-20 เมตร สามารถแตกกิ่งได้จำนวนมาก โดยกิ่งอ่อนมีขนนุ่มสีน้ำตาลแดง ใบมีลักษณะหนาคล้ายแผ่นหนัง รูปรี โคนใบมนส่วนปลายใบจะแหลม มีความกว้างประมาณ 4-6 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร ผิวใบด้านล่างมีขนสากมือ ดังรูปที่ 1.9



รูปที่ 1.9 รูปแสดงลักษณะต้นและใบของนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) [32]

กลีบดอกมีสีเหลืองมีลายประสีม่วงแดงตามความยาวของกลีบ กลีบดอกชั้นในประกบกันเป็นรูปกระเช้า เมื่อดอกบานมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร และมีกลิ่นหอม ภายในดอกมีเกสรตัวผู้จำนวนมาก ส่วนผลมีลักษณะกลมรีขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 3 เซนติเมตร โดย

จะออกผลเป็นกลุ่มมีสีเขียว เมื่อผลสุกจะมีสีเหลืองส้ม แต่เมื่อผลแก่จะเป็นสีดำ ภายในผลมีเมล็ด 4-5 เมล็ด มีรูปร่างแบน เรียงเป็นสองแถวอยู่ภายใน ดังรูป 1.10



รูปที่ 1.10 รูปแสดงลักษณะดอกและผลของนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) [19]

การกระจายพันธุ์ของนางแดงเริ่มมาจากอินเดียถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตามริมห้วยบริเวณป่าดิบ ที่ระดับความสูง 600-800 เมตร โดยจะออกดอกและติดผลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคมของทุกปี สามารถขยายพันธุ์ได้โดยการเพาะเมล็ดและตอนกิ่ง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการศึกษาค้นประกอบทางเคมีของพืชสกุลมหาพรหม (*Mitrephora*)

งานวิจัยสำหรับพืชสกุล *Mitrephora* อื่นๆ

พืชสกุล *Mitrephora* มีประมาณ 48 สปีชีส์ กระจายตัวอย่างกว้างขวางในแถบเอเชีย จากการศึกษพบว่าพืชสกุลนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย สำหรับสปีชีส์ที่มีรายงานการศึกษาค้นประกอบทางเคมีก่อนหน้านี้ ได้แก่ *M. teysmannii*, *M. tomentosa*, *M. celebica*, *M. thorelii*, *M. diversifolia*, *M. glabra*, *M. vulpine*, *M. alba* และ *M. wangii*

ปี 2001 Zgoda [33] และคณะรายงานการแยก polyacetylene carboxylic acid 2 ตัวคือ 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid (15) ซึ่งเป็นสารใหม่ และ 17-octadecene-9,11,13-triyonic acid (16) จากเปลือกของลำต้น *Mitrephora celebica* โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.11 พบว่า

สารทั้ง 2 ตัวมีความสามารถในการต้านเชื้อ methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) โดยมีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) = 25 และ 12.5 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการต้านเชื้อ *Mycobacterium smegmatis* มีค่า MIC ของสารทั้งสองตัวเท่ากันคือ 12.5 $\mu\text{g/mL}$

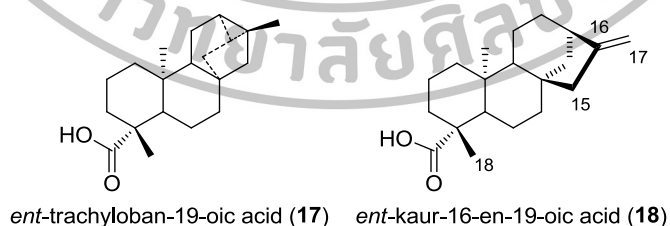


13(E),17-octadecadiene-9,11-diynoic acid (15)

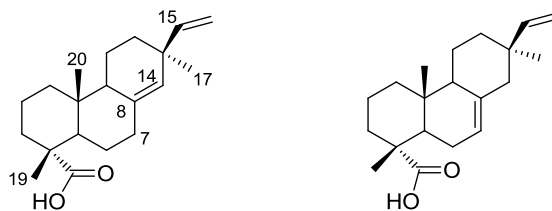
17-octadecene-9,11,13-triynoic acid (16)

รูปที่ 1.11 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 13(E),17-octadecadiene-9,11-diynoic acid (15) และ 17-octadecene-9,11,13-triynoic acid (16)

ปี 2002 [30] คณะวิจัยกลุ่มเดิมรายงานฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) ของ diterpenes ที่แยกได้จากเปลือกของลำต้น *Mitrephora celebica* โดยคณะวิจัยกลุ่มนี้แยก diterpene ได้ 4 ตัว คือ *ent-trachyloban-19-oic acid* (17), *ent-kaur-16-en-19-oic acid* (18), 8(14),15-pimaradien-18-oic acid (19) และ 7,15-pimaradien-18-oic acid (20) พบว่าสาร 17 มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* และ *Mycobacterium smegmatis* โดยมีค่า MIC เท่ากันคือ 6.25 $\mu\text{g/mL}$ และสาร 18 มีความสามารถในการต้านเชื้อ *M. smegmatis* มีค่า MIC = 6.25 $\mu\text{g/mL}$ โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.12



ent-trachyloban-19-oic acid (17) ent-kaur-16-en-19-oic acid (18)

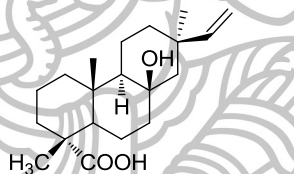


8(14),15-pimaradien-18-oic acid (19) 7,15-pimaradien-18-oic acid (20)

รูปที่ 1.12 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ diterpenes 17-20 ที่แยกได้จากเปลือกของลำต้น

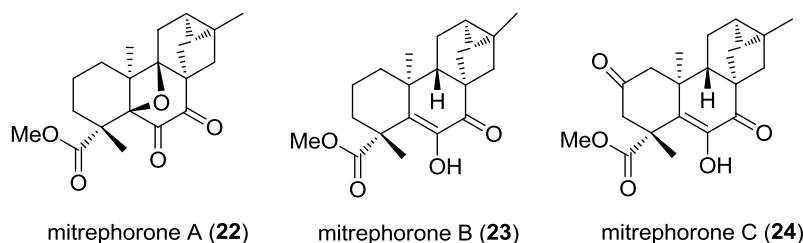
Mitrephora celebica

ปี 2004 Supudompol และคณะ [34] รายงานการแยก pimarane ชนิดใหม่ 1 ตัวคือ 8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid (21) จากเปลือกของลำต้น *Mitrephora tomentosa* โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.13 นอกจากนี้ยังสามารถแยกสารที่เคยมีรายงานมาแล้วได้อีก 3 ตัวได้แก่ (-)-kaur-16-en-19-oic acid, 13,14-dihydrooropheic acid และ β -sitosterol.

8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid (21)

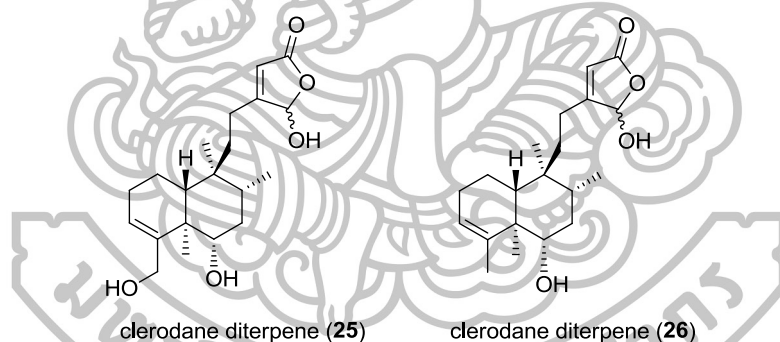
รูปที่ 1.13 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid (21)

ปี 2005 Li และคณะ [26] รายงานการแยกสารใหม่ 3 ตัว คือ mitrephorone A-C (22-24) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.14 ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม *ent*-trachylobane diterpenoids ที่แยกได้จาก *Mitrephora glabra* เมื่อทำการศึกษารอกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า mitrephorone A (22) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปาก (KB, inhibitory concentration 50 (IC₅₀) = 8.0 μ g/mL) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7, IC₅₀ = 15.7 μ g/mL) เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H460, IC₅₀ = 23.3 μ g/mL) และเซลล์มะเร็งสมอง (SF-268, IC₅₀ = 30.9 μ g/mL) นอกจากนี้ยังพบว่า mitrephorone C (24) มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. cerevisiae* โดยมีค่า MIC = 31 μ g/mL ใกล้เคียงกับสาร positive control (amphotericin B, MIC = 25 μ g/mL)



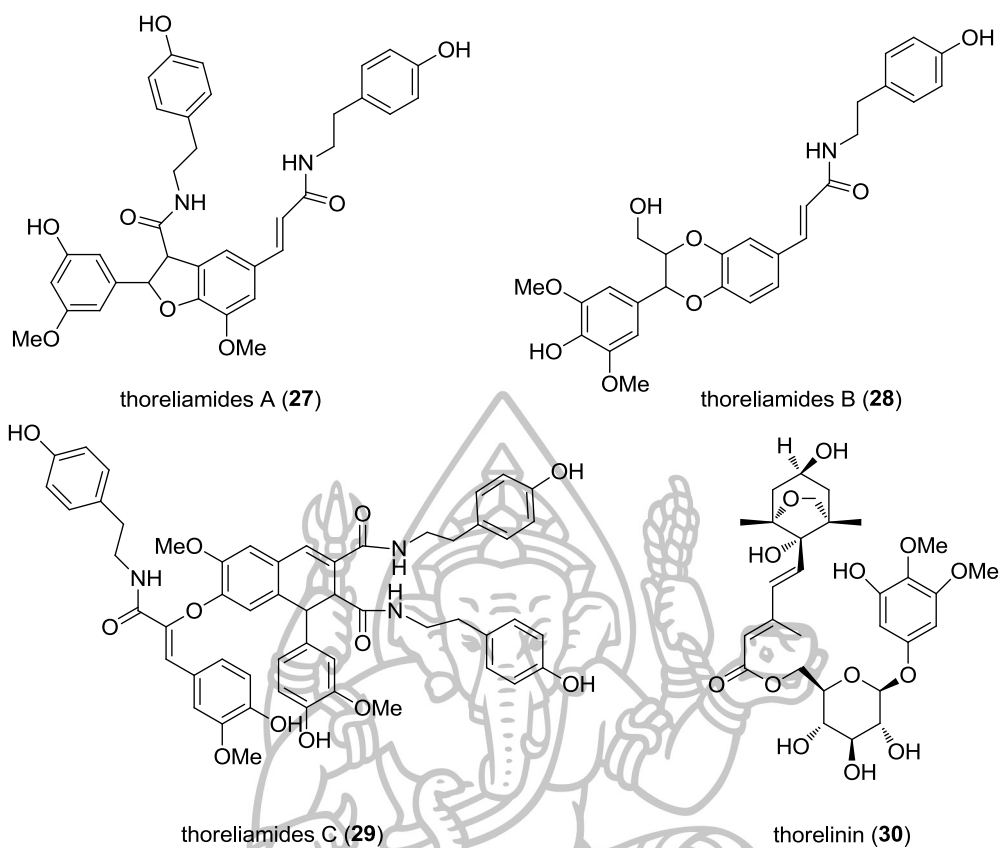
รูปที่ 1.14 รูปแสดง โครงสร้างทางเคมีของ mitrephorone A-C (22-24)

ปี 2007 Meng และคณะ [35] รายงานฤทธิ์ต้านเนื้องอก (antitumor activity) ของสารกลุ่ม clerodane diterpenes ที่แยกได้จาก *Mitrephora thorelii* โดย clerodane diterpene ที่คณะวิจัยนี้แยกได้มี 2 ตัว คือ 6 α ,16,18-trihydroxycleroda-3(4),13(14)-dien-15,16-olide (25) ซึ่งเป็นสารชนิดใหม่ และ 16-hydroxycleroda-3(4),13(14)-dien-15,16-olide (26) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.15 พบว่า สาร 25 และ 26 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ (BEL-7402) มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 44.6 และ 20.1 μ g/mL ตามลำดับ



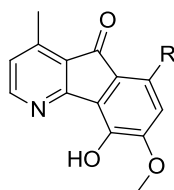
รูปที่ 1.15 รูปแสดง โครงสร้างทางเคมีของ clerodane diterpenes

ปี 2008 Ge และคณะ [36] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากลำต้นของ *Mitrephora thorelii* โดยสามารถแยกสารใหม่ในกลุ่ม lignanamide ได้ 3 ตัว คือ thoreliamides A-C (27-29) และ กลุ่ม sesquiterpenoid 1 ตัว คือ thorelinin (30) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.16



รูปที่ 1.16 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ thoreliamides A-C (27-29) และ thorelinin (30)

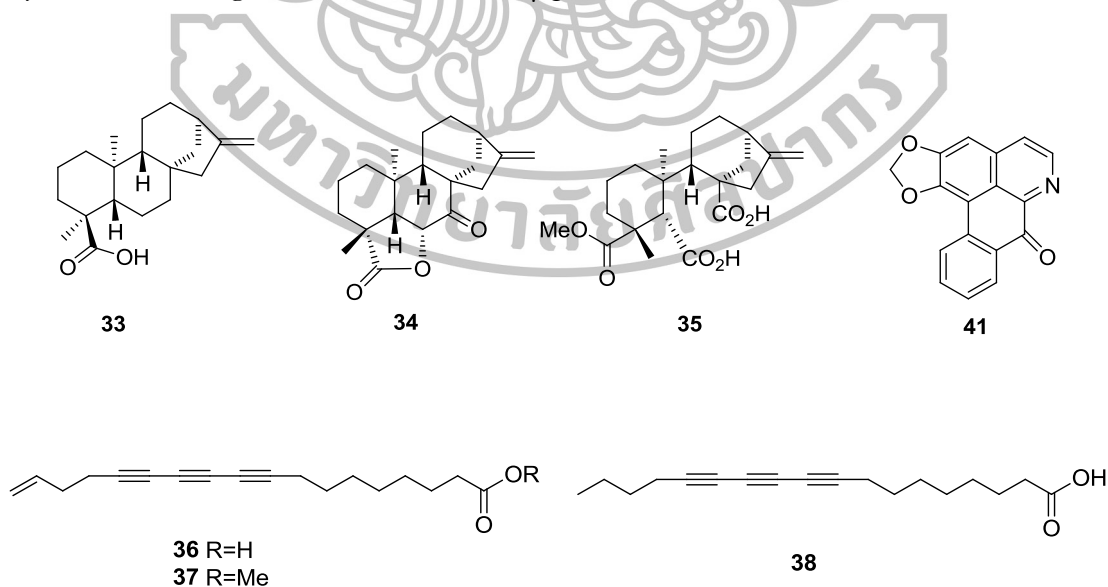
ปี 2009 Mueller และคณะ [31] ได้ศึกษาการออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียของสาร Azafluorenone alkaloid ที่แยกได้จากรากของ *Mitrephora diversifolia* ที่เก็บจากประเทศออสเตรเลีย สำหรับสารที่คณะวิจัยนี้แยกได้มี 2 ตัว คือ 5,8-dihydroxy-6-methoxyonychine (31) ซึ่งเป็นสารชนิดใหม่ และ 5-hydroxy-6-methoxyonychine (32) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.17 จากนั้นมีการนำสารทั้งสองตัวไปทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* (สายพันธุ์ 3D7 และ Dd2) พบว่าสาร 32 มีความสามารถในการต้านเชื้อมาลาเรียได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $9.9 \mu\text{g/mL}$ และ $11.4 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

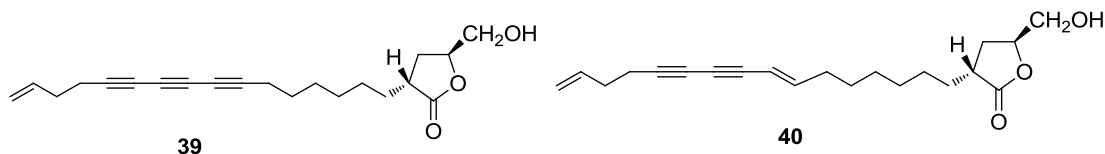


5,8-dihydroxy-6-methoxyonychine (**31**); R=OH
5-hydroxy-6-methoxyonychine (**32**); R=H

รูปที่ 1.17 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ Azafluorenone alkaloids

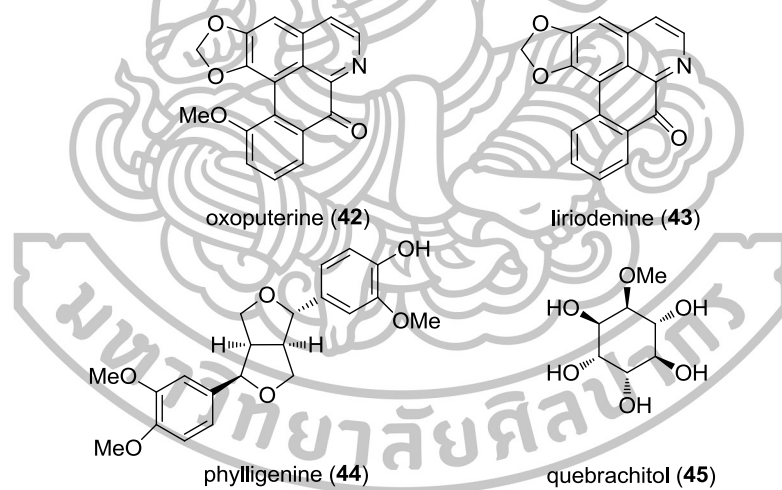
ปี 2009 Li และคณะ [37] ได้ทำการศึกษายองศ์ประกอบทางเคมีจากเปลือกของลำต้น *Mitrephora glabra* พบสาร 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม *ent*-kaurenoid (**33-35**) 3 ตัว กลุ่ม polyacetylenic acids/ester (**36-40**) 5 ตัว และกลุ่ม aporphine alkaloid (**41**) 1 ตัว โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.18 เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารทุกตัวพบว่าสาร **33-35**, **37**, **39** และ **40** เป็นสารชนิดใหม่ จากนั้นคณะวิจัยได้นำสารที่แยกได้ทุกตัวไปทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H460) และเซลล์มะเร็งสมอง (SF-268) พบว่า aporphine alkaloid **41** มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด มีค่า IC_{50} ประมาณ $5 \mu\text{g/mL}$ อีกทั้งคณะวิจัยยังได้นำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) พบว่า polyacetylenic acid **38** มีความสามารถในการต้านเชื้อ *Mycobacterium smegmatis* โดยมีค่า MIC = $25 \mu\text{g/mL}$





รูปที่ 1.18 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม *ent*-kaurenoid (33-35) สารกลุ่ม polyacetylenic acids/ester (36-40) และสารกลุ่ม aporphine alkaloid (41)

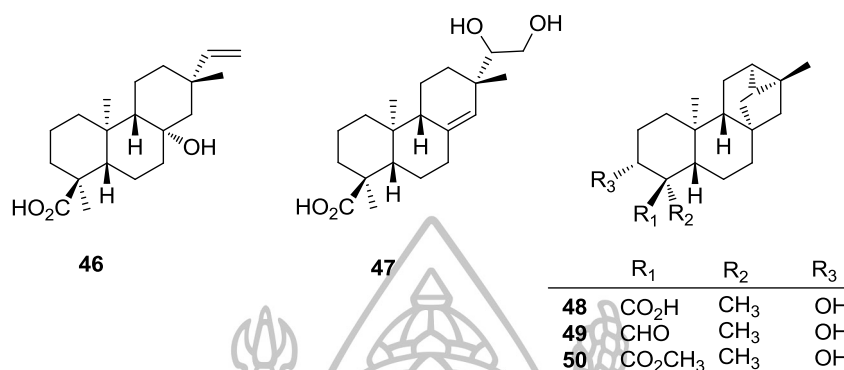
ปี 2010 Moharam และคณะ [38] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของ *Mitrephora vulpina* ซึ่งสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 4 ตัว โดยเป็นสารกลุ่ม aporphine alkaloid 2 ตัว ได้แก่ oxoputerine (42) และ liriodenine (43) ส่วนอีก 2 ตัว คือ phylligenine (44) และ quebrachitol (45) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.19 เมื่อนำสารทุกตัวไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการแข็งตัวของเลือด (Inhibit Platelet Activating Factor, PAF) พบว่าสาร phylligenine (44) แสดงฤทธิ์ที่ดี มีค่า IC_{50} เท่ากับ $13.1 \mu\text{g/mL}$



รูปที่ 1.19 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ oxoputerine (42), liriodenine (43), phylligenine (44) และ quebrachitol (45)

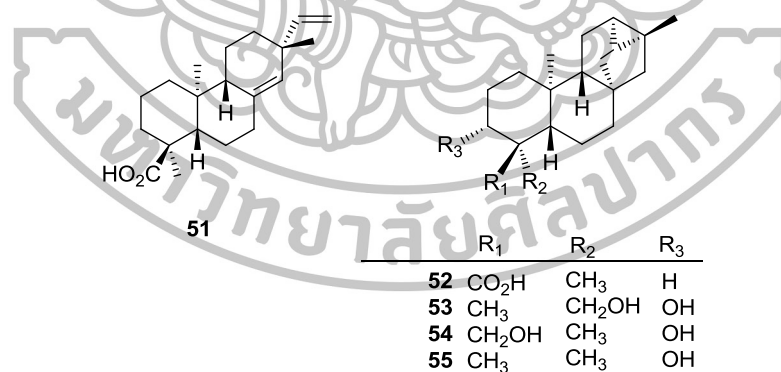
ปี 2013 Rayanil และคณะ [29] ทำการศึกษาโครงสร้างและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกจากกิ่งของต้นพรหมขาว (*Miterphora alba*) โดยสามารถแยกสารชนิดใหม่ในกลุ่ม diterpenoid ได้ 5 ตัว คือ *ent*-8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid (46), *ent*-15,16-dihydroxypimar-8(14)-en-18-oic acid (47), *ent*-3 β -hydroxytrachyloban-18-oic acid (48), *ent*-3 β -

hydroxytrachyloban-18-al (49) และ methyl *ent*-3 β -hydroxytrachyloban-18-oate (50) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.20



รูปที่ 1.20 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากกิ่งของต้นพรหมขาว (*Miterphora alba*)

นอกจากนี้คณะวิจัยยังสามารถแยกสารที่เคยมีรายงานการแยกได้จากพืชชนิดอื่นอีก 5 ตัว ได้แก่ *ent*-pimara-8(14),15-dien-18-oic acid (51), *ent*-trachyloban-18-oic acid (52), *ent*-trachyloban-3 β ,19-diol (53), *ent*-trachyloban-3 β ,18-diol (54) และ *ent*-trachyloban-3 β -ol (55) อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ถูกแยกเป็นครั้งแรกสำหรับพืชสกุลนี้ โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.21



รูปที่ 1.21 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากกิ่งของต้นพรหมขาว (*Miterphora alba*)

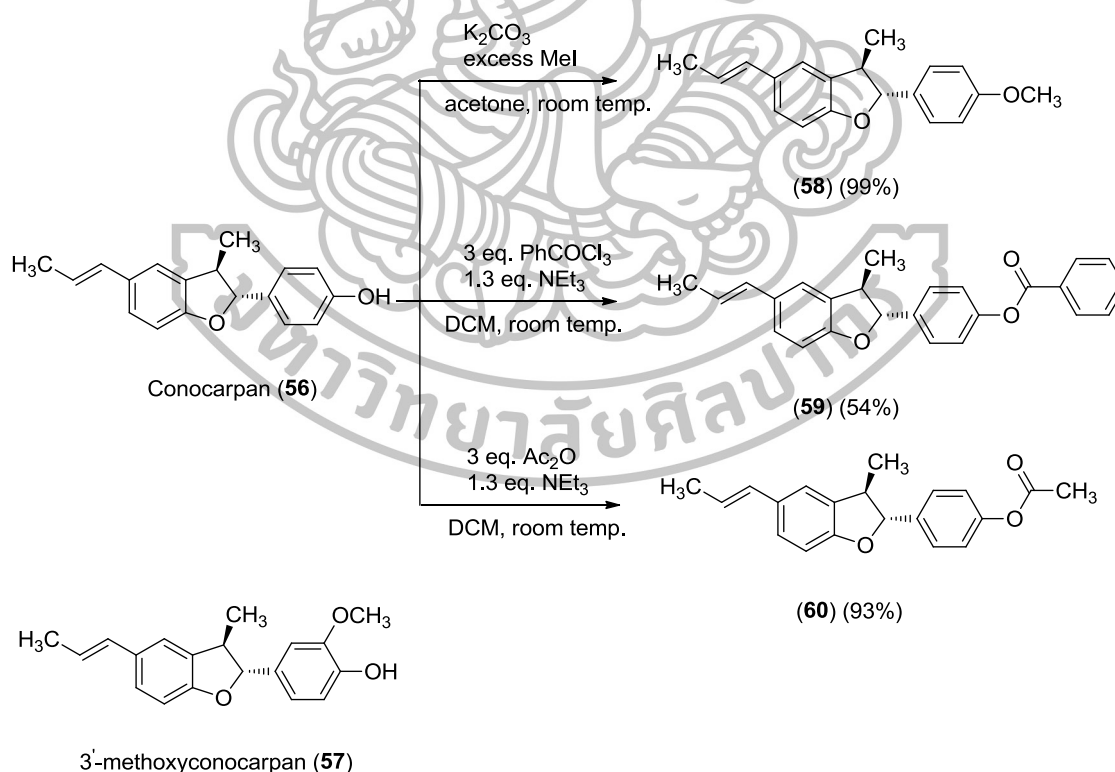
จากนั้นคณะวิจัยนำสารทุกตัวที่แยกได้ไปทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) และเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) พบว่าสารในกลุ่ม *ent*-trachylobane มีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิดในระดับปานกลาง

ขณะที่สารในกลุ่มของ *ent-pimarane* ไม่แสดงความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ซึ่งสาร methyl *ent-3 β -hydroxytrachyloban-18-oate* (**50**) มีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) สูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 47.2 $\mu\text{g/mL}$ ถัดมาคือสาร *ent-trachyloban-3 β ,18-diol* (**54**) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 49.8 $\mu\text{g/mL}$ และสุดท้ายคือ *ent-3 β -hydroxytrachyloban-18-al* (**49**) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 55.9 $\mu\text{g/mL}$

ปี 2016 Sanyacharemkul และคณะ [39] รายงานฤทธิ์ต้านเชื้อรา (antifungal) ของสารที่ได้จากการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารในกลุ่ม neolignan ซึ่งแยกมาจากใบและกิ่งของ *Mitrephora wangii* โดยสารที่แยกได้คือ conocarpan (**56**) และ 3'-methoxyconocarpan (**57**) จากรายงานคณะวิจัยได้นำ conocarpan (**56**) มาทำปฏิกิริยาเคมีโดยแบ่งเป็น 3 ปฏิกิริยา ดังนี้

1. เกิดปฏิกิริยา methylation ของ conocarpan (**56**) กับ $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeI}$ ได้สาร **58** (99%)
2. เกิดปฏิกิริยา benzoylation ของ conocarpan (**56**) กับ $\text{PhCOCl}_3/\text{NEt}_3$ ได้สาร **59** (54%)
3. เกิดปฏิกิริยา acetylation ของ conocarpan (**56**) กับ $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Et}_3\text{N}$ ได้สาร **60** (93%)

แผนภาพที่ 1.1



แผนภาพที่ 1.1 แสดงการเกิดปฏิกิริยาของ conocarpan (**56**) และโครงสร้างทางเคมีของ

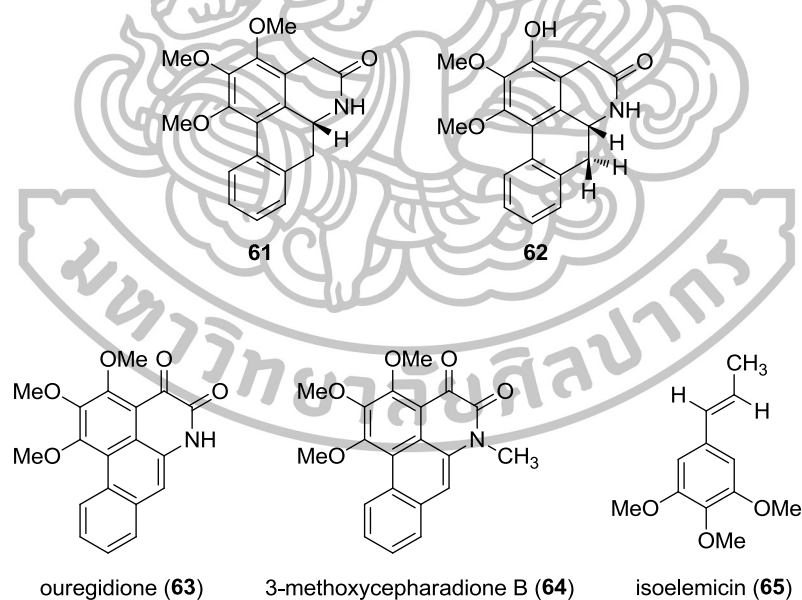
3'-methoxyconocarpan (**57**)

จากนั้นคณะวิจัยนำ conocarpan (56) และสารสังเคราะห์ 58-60 มาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา (antifungal) พบว่าสาร 60 มีความสามารถในการต้านเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลา 14 วัน ได้ดีกว่า mancozeb ซึ่งเป็น positive control โดยสาร 60 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 57.75% ในขณะที่ mancozeb มีค่าเท่ากับ 18.54%

งานวิจัยสำหรับพืช *Mitrephora teysmannii* หรือ *Mitrephora maingayi*

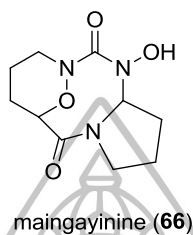
การศึกษายอดประกอบทางเคมีของ *Mitrephora teysmannii* มีรายงานการศึกษาจาก 4 คณะวิจัย ซึ่งแต่ละคณะสามารถแยกสารได้หลายกลุ่มและน่าสนใจดังต่อไปนี้

ปี 1999 Lee และคณะ [40] รายงานการแยกอัลคาลอยด์ชนิดใหม่ 2 ตัว คือ 5-oxonoraporphine 61 และ 62 รวมถึงสารที่มีการศึกษามาแล้วอีก 3 ตัว ได้แก่ ouregidione (63), 3-methoxycepharadione B (64) และ isoelemicin (65) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.22 จากเปลือกของ *Mitrephora teysmannii* ที่เก็บจากประเทศมาเลเซีย



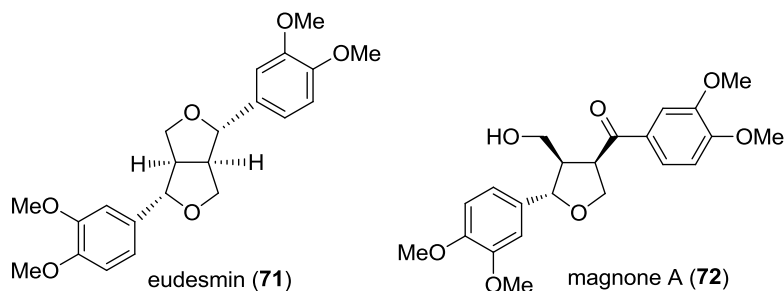
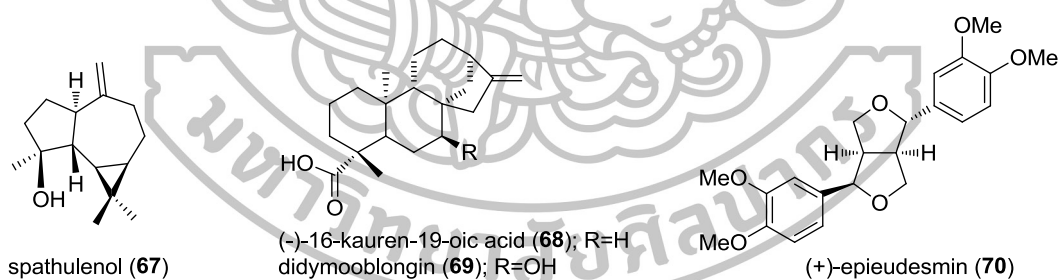
รูปที่ 1.22 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ 5-oxonoraporphine 61 และ 62 ouregidione (63), 3-methoxycepharadione B (64) และ isoelemicin (65)

ปี 2005 Yu และคณะ [41] รายงานการแยกอัลคาลอยด์ตัวใหม่ maingayinine (66) จากกิ่งของ *Mitrephora teysmannii* โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.23 โดยในงานวิจัยนี้ยังสามารถแยกสารตัวอื่นได้อีก 8 ตัว ได้แก่ dicentrinone, dicentrinine, *L*-2-*O*-methyl-chiro-inositol, allantoin, glucaine, *N*-phenyl-2-naphthylamine, terephthalic acid และ ayanin



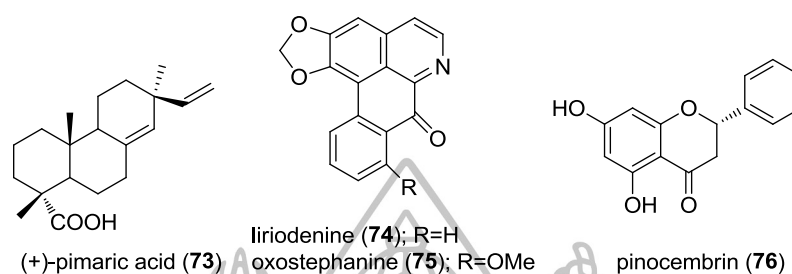
รูปที่ 1.23 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ maingayinine (66)

ปี 2007 Deepralard และคณะ [42] รายงานการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากใบและลำต้นของ *Mitrephora teysmannii* สำหรับสารที่แยกได้จากใบ คือ spathulenol (67), (-)-16-kauren-19-oic acid (68), didymooblongin (69), (+)-epieudesmin (70), eudesmin (71) และ magnone A (72) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.24



รูปที่ 1.24 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากใบของ *Mitrephora teysmannii*

ส่วนองค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากลำต้น ได้แก่ (+)-pimaric acid (73), lirioidenine (74), oxostephanine (75) และ pinocembrin (76) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.25

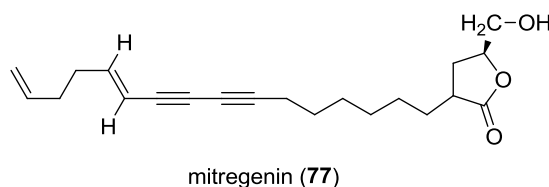


รูปที่ 1.25 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้จากลำต้นของ *Mitrephora teysmannii*

จากข้อมูลทั้งหมดสามารถจัดกลุ่มชนิดของสารที่แยกได้ดังนี้

- กลุ่ม sesquiterpenoid ได้แก่ spathulenol (67)
- กลุ่ม kaurane diterpenoids ได้แก่ 16-kauren-19-oic acid (68) และ didymooblongin (69)
- กลุ่ม pimarane diterpenoid ได้แก่ (+)-pimaric acid (73)
- กลุ่ม lignans ได้แก่ (+)-epieudesmin (70), eudesmin (71) และ magnone A (72)
- กลุ่ม aporphine alkaloids ได้แก่ lirioidenine (74) และ oxostephanine (75)
- กลุ่ม flavonoid ได้แก่ pinocembrin (76)

ปี 2010 Zhang และคณะ [43] รายงานการแยก mitregenin (77) ซึ่งจัดเป็นสารกลุ่ม acetogenin จาก *Mitrephora teysmannii* โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.26



รูปที่ 1.26 รูปแสดงโครงสร้างทางเคมีของ mitregenin (77)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารที่แยกได้จากโบนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) และสามารถวิเคราะห์หาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคทาง spectroscopy
2. เพื่อค้นหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานการศึกษา
3. เพื่อนำสารที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase inhibitory activity)



บทที่ 2 การทดลอง

เครื่องมือและสารเคมี

จุดหลอมเหลว วัดด้วยเครื่อง Kofler hot stage apparatus
ค่า Optical rotation วัดด้วยเครื่อง Jasco P1010 digital polarimeter ในสารละลาย CHCl_3
วัด IR ด้วยเครื่อง Perkin Elmer GX FT-IR spectrophotometer ในรูปของ film
วัด UV ด้วยเครื่อง Hewlett Packard 8453 UV-VIS spectrometer
1D และ 2D NMR วัดในสารละลาย CDCl_3 และ CD_3OD โดยมี TMS เป็นสารอ้างอิงภายใน โดยใช้เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer Brüker AVANCE 300 MHz (300 MHz สำหรับ ^1H NMR และ 75 MHz สำหรับ ^{13}C NMR)
วัดแมสสเปกตรัม ด้วยเครื่อง Micromass LCT mass spectrometer
Column chromatography (CC) ใช้ silica gel (Merck, 70-230 mesh หรือ 230-400 mesh) หรือ RP-18 (Merck, 40-63 mesh) เป็น adsorbent
Thin layer chromatography (TLC) ใช้ silica gel เป็น adsorbent โดยใช้ UV-detector ที่ความยาวคลื่น 254 nm ย้อมสีด้วย 1% CeSO_4 ใน 10% aq. H_2SO_4
เครื่อง Microplate reader รุ่น Benchmark จากบริษัท BIO-RAD

พืชที่ใช้ในงานวิจัย

นางแดง (voucher specimen SS614/272) ถูกเก็บรวบรวมในเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2011 จากพื้นที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโดนไพรสวรรค์ จังหวัดพังงา ประเทศไทย ถูกฝากไว้ที่หอพรรณไม้ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต ประเทศไทย และได้รับการยืนยันพันธุ์ไม้โดย ดร.ปิยะ เฉลิมกลิ่น จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

การเตรียมส่วนสกัดหยาบใบนางแดง (crude extract)

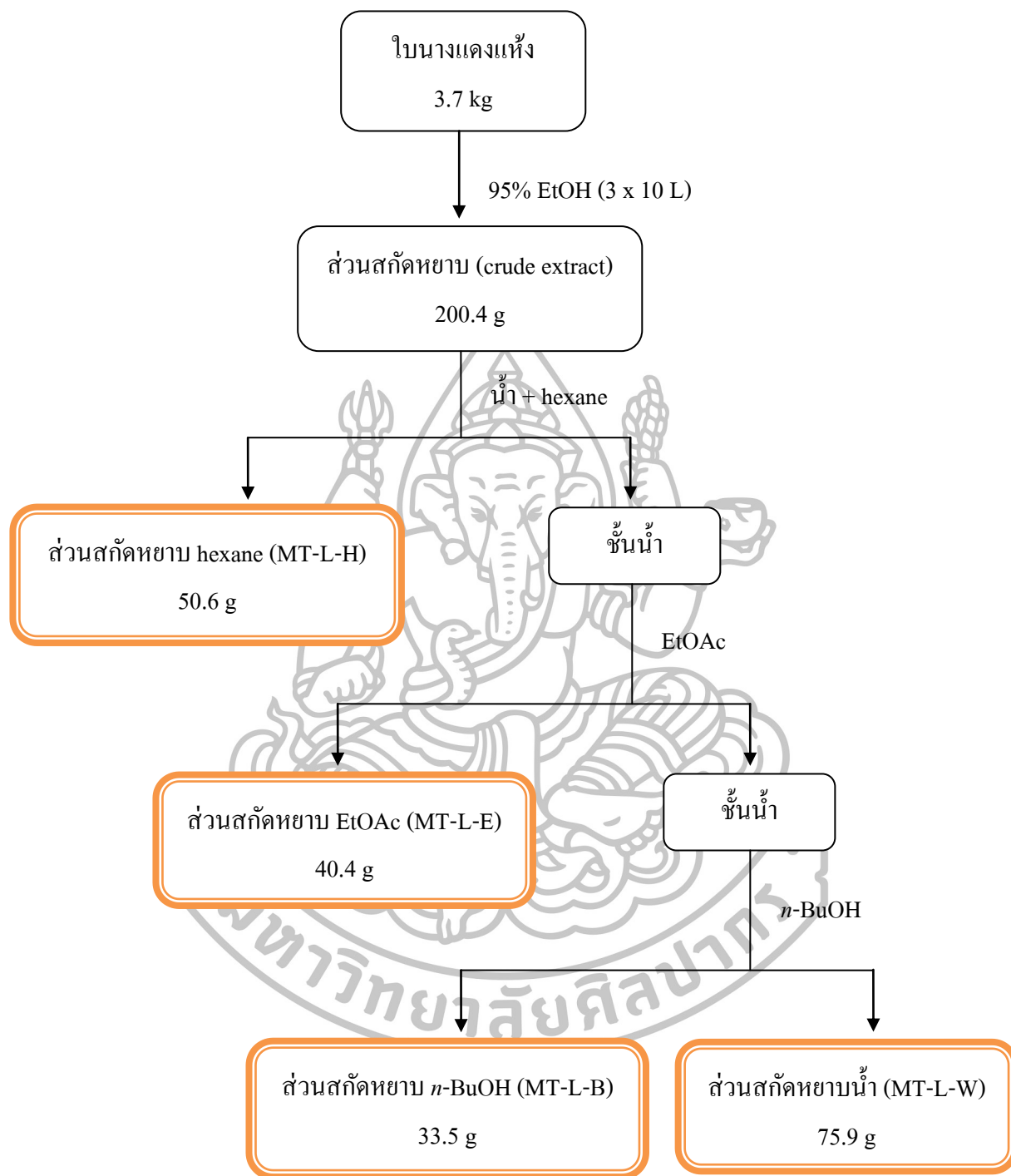
นำใบนางแดงแห้ง 3.7 kg ที่ปั่นละเอียดแล้วมาแช่ใน 95% ethanol ปริมาตร 10 L ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองแยกกากโดยเก็บส่วนของสารละลายไว้ จากนั้นนำส่วนของกากที่ได้จากการกรองครั้งแรกมาแช่ใน 95% ethanol อีก 2 ครั้ง นำส่วนที่เป็นสารละลายทั้งหมดมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ 45 °C ได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลแดงหนัก 200.4 g

การสกัดลำดับส่วน (sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบใบนางแดง

1. นำส่วนสกัดหยาบที่ได้ 200.4 g มาสกัดด้วย hexane 500 mL และน้ำ 1000 mL แยกเก็บส่วนของสารละลาย hexane ไว้ จากนั้นนำชั้นน้ำมาสกัดซ้ำด้วย hexane (2 x 500 mL) นำส่วนที่เป็นสารละลาย hexane ทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำได้ส่วนสกัดหยาบ hexane มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเขียวหนัก 50.6 g

2. จากนั้นนำชั้นน้ำมาสกัดต่อด้วย ethyl acetate (3 x 500 mL) นำส่วนที่เป็นสารละลาย ethyl acetate ทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำได้ส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลดำหนัก 40.4 g

3. นำชั้นน้ำมาสกัดต่อด้วย butanol (3 x 500 mL) นำส่วนที่เป็นสารละลาย butanol ทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำได้ส่วนสกัดหยาบ butanol มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลหนัก 33.5 g และนำชั้นน้ำที่เหลือจากการสกัดมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำได้ส่วนสกัดหยาบน้ำมีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลแดงหนัก 75.9 g



รูปที่ 2.1 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (sequential extraction)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบ hexane จากใบนางแดง

นำส่วนสกัดหยาบ hexane จากใบนางแดงหนัก 50.6 g มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel flash column chromatography ทำการชะ column โดยใช้ 100% hexane ใน EtOAc แล้วเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% EtOAc ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ thin-layer chromatography (TLC) นำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 30 fractions ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดง fraction MT-L-H1 ถึง MT-L-H30 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ hexane (MT-L-H)

Fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
MT-L-H1	19.27	ของเหลวสีน้ำตาลแดง
MT-L-H2	9.55	ของเหลวสีน้ำตาลแดง
MT-L-H3	5.81	ของเหลวสีน้ำตาลแดง
MT-L-H4	2.20	ของเหลวสีน้ำตาลแดง
MT-L-H5	30.54	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
MT-L-H6	4.95	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
MT-L-H7	2.59	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
MT-L-H8	2.83	ของเหลวสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H9	0.69	ของเหลวสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H10	1.46	ของเหลวสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H11	4.11	ของหนืดสีน้ำตาลแดง
*MT-L-H12	3.11	ของแข็งสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H13	2.59	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H14	6.18	ของเหลวสีน้ำตาลดำ
MT-L-H15	2.51	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว

ตารางที่ 2.1 แสดง fraction MT-L-H1 ถึง MT-L-H30 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ hexane (MT-L-H) (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
MT-L-H16	2.36	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H17	2.95	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H18	3.26	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H19	2.30	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H20	1.42	ของหนืดสีน้ำตาลแดง
MT-L-H21	2.12	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H22	2.04	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H23	2.04	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H24	1.81	ของหนืดสีน้ำตาลแดง
*MT-L-H25	2.67	ของหนืดสีน้ำตาลแดง
MT-L-H26	3.10	ของหนืดสีน้ำตาลแดง
MT-L-H27	7.71	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H28	1.66	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H29	3.00	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H30	3.46	ของหนืดสีน้ำตาลดำ

*fraction ที่นำมาศึกษาต่อ

นำ fraction MT-L-H11 (ของหนืดสีน้ำตาลแดง, 4.11 g) มาทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วย EtOH ได้สารผสม **MT-14** (ของแข็งสีขาว, 163.4 mg)

นำ fraction MT-L-H12 (ของแข็งสีน้ำตาลเขียว, 3.11 g) มาทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วย EtOH ได้ของแข็งสีขาว, 54.7 mg จากการเปรียบเทียบสเปกตรัม $^1\text{H NMR}$ กับสารที่เคยแยกได้พบว่าสารที่ได้มีโครงสร้างเหมือนกับ **MT-14**

นำ fraction MT-L-H13 (ของหนืดสีน้ำตาลเขียว, 2.59 g) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography ทำการชะ column ด้วย hexane-EtOAc-benzene ในอัตราส่วน 7:1:2 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 19 fractions ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดง fraction MT-L-H13-1 ถึง MT-L-H13-19 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H13-1	156.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H13-2	37.4	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H13-3	251.0	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H13-4	298.4	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H13-5	156.2	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H13-6	149.6	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H13-7	131.5	ของหนืดสีเขียวเข้ม
MT-L-H13-8	89.2	ของแข็งสีเขียวเข้ม
*MT-L-H13-9	73.4	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-H13-10	70.9	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-H13-11	89.4	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-H13-12	75.8	ของแข็งสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H13-13	61.7	ของแข็งสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H13-14	52.0	ของแข็งสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H13-15	56.5	ของแข็งสีน้ำตาล
MT-L-H13-16	60.2	ของแข็งสีน้ำตาล
MT-L-H13-17	10.3	ของแข็งสีน้ำตาล
MT-L-H13-18	96.9	ของแข็งสีน้ำตาล

ตารางที่ 2.2 แสดง fraction MT-L-H13-1 ถึง MT-L-H13-19 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H13-19	131.6	ของหนืดสีน้ำตาล

นำ fraction MT-L-H13-7 (ของหนืดสีเขียวเข้ม, 131.5 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 8:2 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 3 fractions ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดง fraction MT-L-H13-7-1 ถึง MT-L-H13-7-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13-7

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H13-7-1	43.3	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H13-7-2	9.8	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H13-7-3	31.2	ของหนืดใสสีเหลือง

ได้สารบริสุทธิ์ 2 ตัวจาก fraction MT-L-H13-7-1 และ MT-L-H13-7-3 คือ **MT-1** (ของหนืดใสสีเหลือง, 43.3 mg) และ **MT-2** (ของหนืดใสสีเหลือง, 31.2 mg)

นำ fraction MT-L-H13-9 (ของแข็งสีเขียวเข้ม, 73.4 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 8:2 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 3 fractions ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดง fraction MT-L-H13-9-1 ถึง MT-L-H13-9-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H13-9

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H13-9-1	28.4	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H13-9-2	18.9	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H13-9-3	6.6	ของหนืดใสสีเหลือง

fraction MT-L-H13-9-1 (ของหนืดใสสีเหลือง, 28.4 mg) จากการเปรียบเทียบสเปกตรัม $^1\text{H NMR}$ กับสารที่เคยแยกได้ พบว่าสารที่ได้มีโครงสร้างเหมือนกับ **MT-1**

fraction MT-L-H13-9-3 ได้สารผสมระหว่าง **MT-2** และ **MT-3** (ของหนืดใสสีเหลือง, 6.6 mg)

นำ fraction MT-L-H18 (ของหนืดสีน้ำตาลดำ, 3.26 g) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography ทำการชะ column ด้วย 10% 20% และ 40% EtOAc ใน hexane ตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC นำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 17 fractions ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 แสดง fraction MT-L-H18-1 ถึง MT-L-H18-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H18-1	14.3	ของเหลวสีเหลือง
MT-L-H18-2	39.4	ของเหลวสีเหลือง
MT-L-H18-3	66.8	ของเหลวสีน้ำตาล
MT-L-H18-4	17.2	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-H18-5	59.5	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-6	707.6	ของหนืดสีน้ำตาลดำ

ตารางที่ 2.5 แสดง fraction MT-L-H18-1 ถึง MT-L-H18-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H18-7	717.2	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-8	410.3	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-9	133.7	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-10	89.1	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
*MT-L-H18-11	65.5	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-12	270.6	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-13	73.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H18-14	105.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H18-15	108.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H18-16	82.9	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H18-17	111.9	ของหนืดสีน้ำตาลดำ

นำ fraction MT-L-H18-11 (ของแข็งสีน้ำตาลดำ, 65.5 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 8:2 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 4 fractions ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 แสดง fraction MT-L-H18-11-1 ถึง MT-L-H18-11-4 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18-11

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H18-11-1	5.5	ของหนืดใสสีเหลือง

ตารางที่ 2.6 แสดง fraction MT-L-H18-11-1 ถึง MT-L-H18-11-4 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H18-11 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H18-11-2	27.3	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H18-11-3	2.3	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-H18-11-4	2.1	ของหนืดใสสีเหลือง

ได้สารบริสุทธิ์ 1 ตัว จาก fraction MT-L-H18-11-2 คือ MT-4 (ของหนืดใสสีเหลือง, 27.3 mg)

นำ fraction MT-L-H25 (ของหนืดสีน้ำตาลแดง, 2.67 g) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography ทำการชะ column ด้วย hexane-EtOAc-benzene ในอัตราส่วน 2:1:1 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 17 fractions ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดง fraction MT-L-H25-1 ถึง MT-L-H25-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H-25-1	1.0	ของเหลวใสไม่มีสี
MT-L-H-25-2	12.7	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-H-25-3	9.3	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H-25-4	9.2	ของหนืดสีส้มเหลือง
MT-L-H-25-5	17.5	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H-25-6	21.8	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H-25-7	82.7	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-H-25-8	60.3	ของหนืดสีส้มเหลือง
MT-L-H-25-9	61.2	ของหนืดสีส้มเหลือง

ตารางที่ 2.7 แสดง fraction MT-L-H25-1 ถึง MT-L-H25-17 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H-25-10	339.0	ของแข็งสีส้มเหลือง
*MT-L-H-25-11	295.6	ของแข็งสีส้มเหลือง
MT-L-H-25-12	376.4	ของแข็งสีส้มเหลือง
MT-L-H-25-13	253.8	ของหนืดสีส้ม
MT-L-H-25-14	290.8	ของหนืดสีส้มเหลือง
*MT-L-H-25-15	111.3	ของหนืดสีส้มเหลือง
MT-L-H-25-16	60.6	ของแข็งสีน้ำตาลเหลือง
MT-L-H-25-17	51.1	ของแข็งสีน้ำตาลเหลือง

นำ fraction MT-L-H25-11 (ของแข็งสีส้มเหลือง, 295.6 mg) มาตกผลึกด้วย EtOH ได้สารบริสุทธิ์ 1 ตัว คือ MT-5 (ของแข็งสีขาว, 67.0 mg)

นำ fraction MT-L-H25-15 (ของหนืดสีส้มเหลือง, 111.3 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย MeOH-H₂O ในอัตราส่วน 1:1 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 9 fractions ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 แสดง fraction MT-L-H25-15-1 ถึง MT-L-H25-15-9 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25-15

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H25-15-1	1.9	ของแข็งสีขาว
MT-L-H25-15-2	1.6	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
MT-L-H25-15-3	0.2	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

ตารางที่ 2.8 แสดง fraction MT-L-H25-15-1 ถึง MT-L-H25-15-9 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H25-15 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H25-15-4	0.5	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
MT-L-H25-15-5	6.1	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
MT-L-H25-15-6	16.8	ของแข็งสีขาว
MT-L-H25-15-7	20.1	ของแข็งสีขาว
MT-L-H25-15-8	34.4	ของแข็งสีขาว
MT-L-H25-15-9	1.8	ของแข็งสีขาว

ได้สารบริสุทธิ์ 2 ตัวจาก fraction MT-L-H25-15-6 และ MT-L-H25-15-8 คือ **MT-6** (ของแข็งสีขาว, 16.8 mg) และ **MT-7** (ของแข็งสีขาว, 34.4 mg)

นำ fraction MT-L-H30 (ของหนักสีน้ำตาลดำ, 3.46 g) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography ทำการชะ column ด้วย CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O ในอัตราส่วน 50:3:1 และ 20:1:1 ตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกัน ได้ทั้งหมด 44 fractions ดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 แสดง fraction MT-L-H30-1 ถึง MT-L-H30-44 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H30-1	14.6	ของหนักสีเหลืองอ่อน
MT-L-H30-2	6.4	ของหนักสีเขียว
MT-L-H30-3	11.1	ของหนักสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-4	2.9	ของหนักสีเขียว
MT-L-H30-5	12.6	ของหนักสีเขียวเข้ม
MT-L-H30-6	3.2	ของหนักสีเขียวเข้ม

ตารางที่ 2.9 แสดง fraction MT-L-H30-1 ถึง MT-L-H30-44 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H30- 7	3.0	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-H30- 8	5.0	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-H30- 9	4.3	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-H30-10	6.8	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-11	3.0	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-12	5.5	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-13	3.4	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-14	5.9	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-15	30.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-16	33.1	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-17	7.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-18	24.9	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-19	31.6	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-20	39.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
*MT-L-H30-21	95.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-22	19.6	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-23	82.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-24	43.0	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-25	28.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-26	14.6	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-27	147.2	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว

ตารางที่ 2.9 แสดง fraction MT-L-H30-1 ถึง MT-L-H30-44 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H30- 28	52.1	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30- 29	77.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30- 30	74.1	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-31	82.4	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-32	107.5	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-33	111.8	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-34	93.7	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-35	94.9	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-36	82.0	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-37	69.8	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-38	61.8	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-39	53.5	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-40	64.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-41	81.3	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-42	321.5	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-43	453.8	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว
MT-L-H30-44	192.4	ของหนืดสีน้ำตาลเขียว

นำ fraction MT-L-H30-21 (ของหนืดสีน้ำตาลเขียว, 95.7 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย MeOH-H₂O ในอัตราส่วน 1:1.5 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 6 fractions ดังตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 แสดง fraction MT-L-H30-21-1 ถึง MT-L-H30-21-6 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30-21

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H30-21-1	2.6	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-21-2	9.5	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-21-3	29.3	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-21-4	10.2	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-21-5	7.5	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-21-6	5.6	ของแข็งสีขาว

ได้สารบริสุทธิ์ 2 ตัวจาก fraction MT-L-H30-21-3 และ MT-L-H30-21-6 คือ **MT-8** (ของแข็งสีขาว, 29.3 mg) และ **MT-11** (ของแข็งสีขาว, 5.6 mg)

นำ fraction MT-L-H30-23 (ของหนืดสีน้ำตาลเขียว, 82.3 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย MeOH-H₂O ในอัตราส่วน 1:1.5 ทำการเปรียบเทียบของประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 3 fractions ดังตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 แสดง fraction MT-L-H30-23-1 ถึง MT-L-H30-23-3 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-H30-23

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-H30-23-1	1.7	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-23-2	47.4	ของแข็งสีขาว
MT-L-H30-23-3	10.4	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

ได้สารบริสุทธิ์ 1 ตัวจาก fraction MT-L-H30-23-2 คือ **MT-9** (ของแข็งสีขาว, 47.4 mg)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate จากใบนางแดง

นำส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate จากใบนางแดงหนัก 40.4 g มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel flash column chromatography ทำการชะ column โดยใช้ 10% EtOAc ใน hexane แล้วเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% EtOAc และตามด้วย 1% MeOH ใน EtOAc จนถึง 10% MeOH ใน EtOAc ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ thin-layer chromatography (TLC) นำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกัน ได้ทั้งหมด 25 fractions ดังแสดงในตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 แสดง fraction MT-L-E1 ถึง MT-L-E25 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate (MT-L-E)

Fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
MT-L-E1	2.08	ของเหลวสีน้ำตาลแดง
MT-L-E2	2.17	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-E3	0.97	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-E4	0.82	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-E5	0.94	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-E6	1.54	ของหนืดสีน้ำตาลดำ
MT-L-E7	1.23	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-E8	1.64	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-E9	0.42	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
MT-L-E10	2.10	ของแข็งสีดำ
MT-L-E11	12.94	ของแข็งสีน้ำตาล
MT-L-E12	25.52	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-E13	20.61	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-E14	3.18	ของแข็งสีดำ

ตารางที่ 2.12 แสดง fraction MT-L-E1 ถึง MT-L-E25 ที่ได้จากการแยกส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate (MT-L-E) (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
MT-L-E15	2.72	ของหนืดสีดำ
MT-L-E16	1.84	ของหนืดสีดำ
MT-L-E17	2.23	ของหนืดสีดำ
MT-L-E18	1.66	ของหนืดสีดำ
*MT-L-E19	4.64	ของแข็งสีดำ
MT-L-E20	2.52	ของแข็งสีดำ
MT-L-E21	1.92	ของแข็งสีดำ
MT-L-E22	4.59	ของแข็งสีดำ
MT-L-E23	3.51	ของแข็งสีดำ
MT-L-E24	4.93	ของแข็งสีดำ
MT-L-E25	10.17	ของแข็งสีดำ

*fraction ที่นำมาศึกษาต่อ

นำ fraction MT-L-E19 (ของแข็งสีดำ, 4.64 g) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography ทำการชะ column ด้วย CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O ในอัตราส่วน 70:3:1 และ 50:3:1 ตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบของค้ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 27 fractions ดังตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.13 แสดง fraction MT-L-E19-1 ถึง MT-L-E19-27 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-E19-1	11.1	ของหนืดใสไม่มีสี
MT-L-E19-2	7.4	ของหนืดสีเหลือง
MT-L-E19-3	2.3	ของหนืดใสไม่มีสี
MT-L-E19-4	128.9	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-5	124.6	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-6	86.1	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-7	133.3	ของหนืดสีดำ
*MT-L-E19-8	206.2	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-9	1035.8	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-10	439.4	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-11	165.8	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-12	76.4	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-13	54.3	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-14	47.7	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-15	40.8	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-16	36.0	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-17	35.0	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-18	34.4	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-19	45.2	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-20	68.3	ของหนืดสีดำ
MT-L-E19-21	64.6	ของหนืดสีดำ

ตารางที่ 2.13 แสดง fraction MT-L-E19-1 ถึง MT-L-E19-27 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19 (ต่อ)

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-E19-22	88.6	ของหนืดสีดำ
*MT-L-E19-23	166.4	ของแข็งสีดำ
MT-L-E19-24	116.0	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-E19-25	78.0	ของแข็งสีเขียวเข้ม
MT-L-E19-26	49.0	ของหนืดสีน้ำตาล
MT-L-E19-27	19.5	ของหนืดสีน้ำตาล

นำ fraction MT-L-E19-8 (ของหนืดสีดำ, 206.2 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย MeOH-H₂O ในอัตราส่วน 1:1.5 ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 4 fractions ดังตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 แสดง fraction MT-L-E19-8-1 ถึง MT-L-E19-8-4 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19-8

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-E19-8-1	1.6	ของเหลวใสไม่มีสี
MT-L-E19-8-2	23.7	ของเหลวใสไม่มีสี
MT-L-E19-8-3	100.6	ของเหลวใสไม่มีสี
MT-L-E19-8-4	23.8	ของเหลวใสไม่มีสี

fraction MT-L-E19-8-3 เป็นสารบริสุทธิ์ คือ **MT-10** (ของเหลวใสไม่มีสี, 100.6 mg)

นำ fraction MT-L-E19-23 (ของแข็งสีดำ, 166.4 mg) มาแยกต่อโดยใช้ RP-18 column chromatography ทำการชะ column ด้วย MeOH-H₂O ในอัตราส่วน 1:2 ทำการเปรียบเทียบ

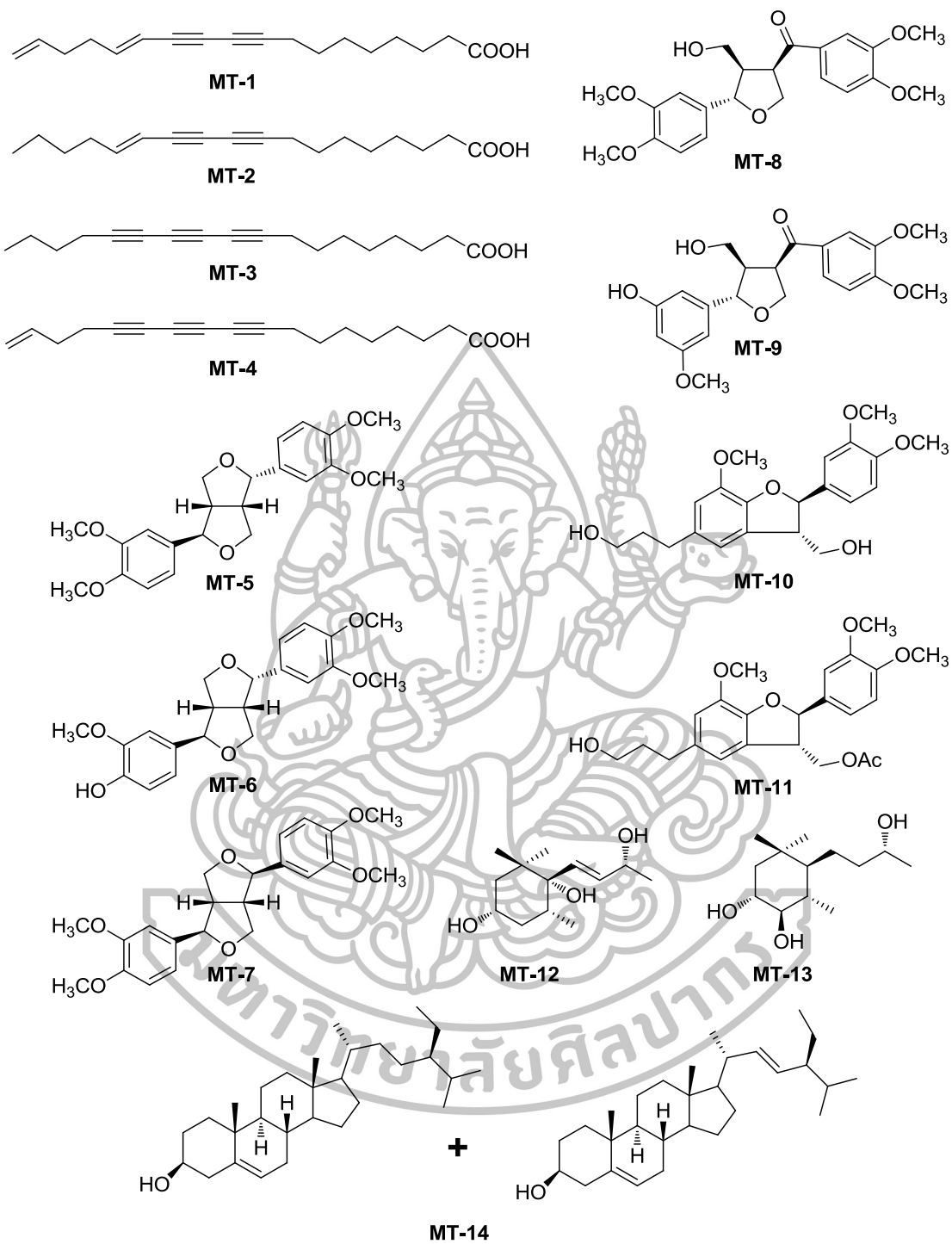
องค์ประกอบของสารที่ออกมาแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นนำ fraction ที่เหมือนกันมารวมกันได้ทั้งหมด 6 fractions ดังตารางที่ 2.15

ตารางที่ 2.15 แสดง fraction MT-L-E19-23-1 ถึง MT-L-E19-23-6 ที่ได้จากการแยก fraction MT-L-E19-23

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
MT-L-E19-23-1	5.4	ของหนืดใสสีส้ม
MT-L-E19-23-2	15.4	ของหนืดใสสีส้ม
MT-L-E19-23-3	22.5	ของหนืดใสสีส้ม
MT-L-E19-23-4	30.2	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-E19-23-5	19.3	ของหนืดใสสีเหลือง
MT-L-E19-23-6	7.2	ของหนืดใสสีเหลือง

ได้สารบริสุทธิ์ 2 ตัวจาก fraction MT-L-E19-23-1 และ MT-L-E19-23-6 คือ **MT-12** (ของหนืดใสสีส้ม, 5.4 mg) และ **MT-13** (ของหนืดใสสีเหลือง, 7.2 mg)





รูปที่ 2.2 รูปแสดง โครงสร้างของสารที่แยกได้จากใบนางแดง

13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid (**MT-1**); ของหนีดิสตีลลี่เหลือง; IR (neat): ν_{\max} 3440, 2921, 2849, 1692, 1644, 1460, 1273 cm^{-1} ; ^1H และ ^{13}C -NMR spectrum (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2.16; ESI-TOF-MS m/z 271.2203 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{O}_2$, 271.1698).

13(*E*)-octadecene-9,11-diyonic acid (**MT-2**); ของหนีดิสตีลลี่เหลือง; IR (neat): ν_{\max} 3445, 2949, 2850, 1696, 1645, 1463 cm^{-1} ; ^1H และ ^{13}C -NMR spectrum (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2.17; ESI-TOF-MS m/z 275.2008 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{O}_2$, 275.2011).

สารผสม 13(*E*)-octadecene-9,11-diyonic acid (**MT-2**) กับ Octadeca-9,11,13-triyonic acid (**MT-3**); ของหนีดิสตีลลี่เหลือง; IR (neat): ν_{\max} 3440, 2932, 2850, 2218, 1696, 1464 cm^{-1} ; ^1H -NMR spectrum แสดงในตารางที่ 2.18 และ ^{13}C -NMR spectrum (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2.19; ESI-TOF-MS m/z 275.2009 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{O}_2$, 275.2011) และ 273.1850 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_2$, 273.1854).

Octadeca-17-en-9,11,13-triyonic acid (**MT-4**); ของหนีดิสตีลลี่เหลือง; IR (neat): ν_{\max} 3447, 2955, 2927, 2850, 2227, 1691, 1465 cm^{-1} ; ^1H และ ^{13}C -NMR spectrum (CD_3OD) แสดงในตารางที่ 2.20; ESI-TOF-MS m/z 271.1690 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{O}_2$, 271.1698).

(-)-Epieudesmin (**MT-5**); ของแข็งสีขาว; mp 126-128 $^{\circ}\text{C}$ [lit. 122-125 $^{\circ}\text{C}$]; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -112.4 $^{\circ}$ (c 0.060, CHCl_3) [lit. -101 $^{\circ}$ (c 0.15, CHCl_3)] [44]; IR (neat): ν_{\max} 1613, 1596, 1517, 1460, 1260, 1162, 1147 cm^{-1} ; ^1H และ ^{13}C -NMR spectrum (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2.21; ESI-TOF-MS m/z 409.1622 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}$, 409.1627).

(-)-Phillygenin (**MT-6**); ของแข็งสีขาว; mp 128-130 $^{\circ}\text{C}$ [lit. 130-131 $^{\circ}\text{C}$]; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -109.8 $^{\circ}$ (c 0.051, CHCl_3) [lit. -120.0 $^{\circ}$ (c 0.2, CHCl_3)] [45]; IR (neat): ν_{\max} 3573, 1610, 1596, 1510, 1460, 1275, 1030 cm^{-1} ; ^1H และ ^{13}C -NMR spectrum (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2.22; ESI-TOF-MS m/z 395.1468 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$, 395.1471).

(-)-Eudesmin (**MT-7**); ของแข็งสีขาว; mp 96-98°C [lit. 98-100°C]; $[\alpha]_D^{25} -51.0^\circ$ (c 0.053, CHCl₃) [lit. -78.5° (c 0.41, CHCl₃)] [46]; IR (neat): ν_{\max} 1613, 1596, 1517, 1460, 1263, 1147 cm⁻¹; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.23; ESI-TOF-MS m/z 409.1624 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₂H₂₆O₆Na, 409.1627).

Magnone A (**MT-8**); ของแข็งสีขาว; mp 148-150°C [lit. 149-150°C]; $[\alpha]_D^{25} +31.4^\circ$ (c 0.053, CHCl₃) [lit. +24.7° (c 0.5, MeOH)] [47]; IR (neat): ν_{\max} 3465, 1662, 1595, 1584, 1518, 1465, 1435, 1422, 1265, 1155, 1024, 961, 867 cm⁻¹; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.24; ESI-TOF-MS m/z 425.1573 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₂H₂₆O₇Na, 425.1577).

Forsythialan B (**MT-9**); ของแข็งสีขาว; mp 142-144°C; $[\alpha]_D^{25} +21.3^\circ$ (c 0.055, CHCl₃) [lit. -21.5° (c 0.93, CHCl₃)] [48]; IR (neat): ν_{\max} 3430, 2927, 1667, 1595, 1519, 1466, 1423, 1268, 1160, 1024, 814, 756 cm⁻¹; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.25; ESI-TOF-MS m/z 411.1416 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₁H₂₄O₇Na, 411.1420).

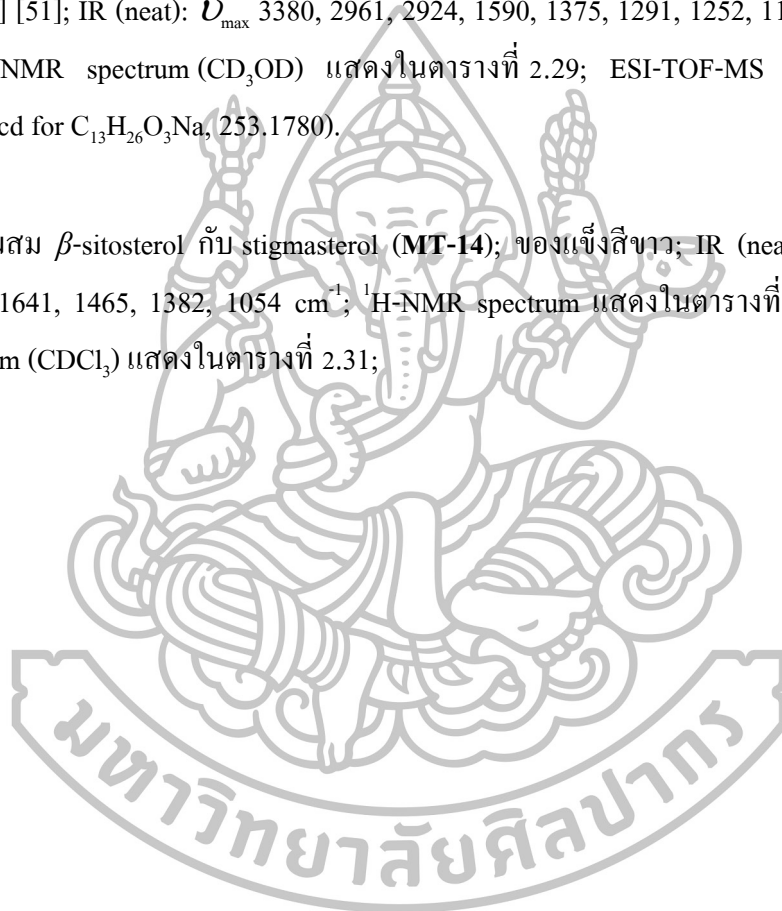
(-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin (**MT-10**); ของหนืดใสไม่มีสี; $[\alpha]_D^{25} -7.4^\circ$ (c 0.060, CHCl₃) [lit. -8.5° (c 0.25, CHCl₃)] [49]; IR (neat): ν_{\max} 3390, 2935, 1606, 1515 cm⁻¹; UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) 280 (3.08), 237 (3.23), 205 (3.59) nm; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.26; ESI-TOF-MS m/z 397.1634 [M + Na]⁺ (calcd for C₂₁H₂₆O₆Na, 397.1627).

Mitredrusin (**MT-11**); ของหนืดใสไม่มีสี; $[\alpha]_D^{25} -22.3^\circ$ (c 0.038, CHCl₃); IR (neat): ν_{\max} 3501, 2938, 1738, 1595, 1516 cm⁻¹; UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) 278 (3.00), 237 (3.10), 207 (3.40) nm; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.27; ESI-TOF-MS m/z 439.1734 [M + Na]⁺ (calcd for C₂₃H₂₈O₇Na, 439.1733).

(3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmene-3,6,9-triol (**MT-12**); ของหนืดใสสีส้ม; $[\alpha]_D^{25} -9.0^\circ$ (c 0.055, CHCl₃) [lit. -11.4° (c 0.07, MeOH)] [50]; IR (neat): ν_{\max} 3357, 2958, 1654, 1371, 1251 cm⁻¹; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CD₃OD) แสดงในตารางที่ 2.28; ESI-TOF-MS m/z 251.1628 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₃H₂₄O₃Na, 251.1623).

Annoionol A (**MT-13**); ของหนืดใสสีเหลือง; $[\alpha]_D^{25} -2.5^\circ$ (c 0.058, CHCl₃) [lit. $+1.45^\circ$ (c 0.11, MeOH)] [51]; IR (neat): ν_{\max} 3380, 2961, 2924, 1590, 1375, 1291, 1252, 1120, 1065 cm⁻¹; ¹H และ ¹³C-NMR spectrum (CD₃OD) แสดงในตารางที่ 2.29; ESI-TOF-MS m/z 253.1828 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₃H₂₆O₃Na, 253.1780).

สารผสม β -sitosterol กับ stigmasterol (**MT-14**); ของแข็งสีขาว; IR (neat): ν_{\max} 3429, 2937, 2867, 1641, 1465, 1382, 1054 cm⁻¹; ¹H-NMR spectrum แสดงในตารางที่ 2.30 และ ¹³C-NMR spectrum (CDCl₃) แสดงในตารางที่ 2.31;



ตารางที่ 2.16 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-1** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	8.28 br s	180.3	H-2, H-3
2	2.31 t (7.2)	34.5	H-3
3	1.61 m	24.8	H-2, H-4
4	1.32 m	29.0	H-3, H-6
5	1.32 m	28.8	H-3, H-4, H-6, H-7
6	1.39 m	28.7	H-4, H-7
7	1.53 m	28.2	H-8
8	2.31 t (7.2)	19.5	H-7
9	-	83.7	H-7, H-8
10	-	65.3	H-8
11	-	73.1	H-8, H-13
12	-	73.9	H-13
13	5.51 d (15.9)	109.2	H-15
14	6.27 dt (15.9, 6.9)	147.0	H-13, H-15, H-16
15	2.21 m	32.5	H-13, H-14, H-16, H-18
16	2.16 m	32.7	H-13, H-14, H-15, H-17, H-18
17	5.77 ddt (17.1, 10.5, 6.3)	137.3	H-15, H-16
18	4.99 dd (10.5, 1.8) 5.03 dd (17.1, 1.8)	115.4	H-16

ตารางที่ 2.17 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-2** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	-	180.1	H-2, H-3
2	2.35 t (7.5)	34.0	H-3
3	1.63 quint (6.9)	24.6	H-2
4	1.33 br s	28.9	H-2, H-3
5	1.33 br s	28.7	H-3, H-7
6	1.33 br s	28.6	H-7, H-8
7	1.52 m	28.2	H-8
8	2.31 t (6.6)	19.5	H-7
9	-	83.5	H-7, H-8
10	-	65.3	H-8, H-13
11	-	72.8	H-8, H-13
12	-	74.1	H-14, H-15
13	5.48 d (15.9)	108.6	H-15
14	6.27 dt (15.9, 7.2)	148.3	H-13, H-15, H-16
15	2.12 q (7.2)	32.9	H-13, H-14, H-16
16	1.36 m	30.7	H-14, H-15, H-17, H-18
17	1.29 m	22.1	H-15, H-16, H-18
18	0.89 t (6.9)	13.8	H-16

ตารางที่ 2.18 ข้อมูล ^1H NMR spectrum ของสารผสม **MT-2** กับ **MT-3** (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references โดยค่า J รายงานในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)		
	MT-2 (reference)	MT-3 (reference)	MT-2 กับ MT-3 (experiment)
1	-	-	-
2	2.37 t (7.3)	2.34 t (7.2)	2.37 m, 2.34 m
3	1.62 quint (6.9)	1.63 quint (7.0)	1.61 m, 1.63 m
4	1.33 br s	1.34 m	1.34 m
5	1.33 br s	1.35-1.40 m	1.34-1.40 m
6	1.33 br s	1.35-1.40 m	1.34-1.40 m
7	1.33 br s	1.52 m	1.34 m, 1.52 m
8	2.34 t (7.4)	2.24 t (7.2)	2.34 m, 2.24 m
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	5.48 d (15.9)	-	5.48 d (15.9)
14	6.27 dt (15.9, 7.3)	-	6.28 dt (15.9, 6.9)
15	2.12 q (7.3)	2.22 t (7.2)	2.12 q (6.9), 2.22 m
16	1.33 br s	1.52 m	1.34 m, 1.52 m
17	1.33 br s	1.42 m	1.34 m, 1.42 m
18	0.88 t (6.9)	0.90 t (7.4)	0.89 t (6.6), 0.91 t (7.2)

ตารางที่ 2.19 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum ของสารผสม MT-2 กับ MT-3 (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references

ตำแหน่ง	δ_c (ppm)		
	MT-2 (reference)	MT-3 (reference)	MT-2 กับ MT-3 (experiment)
1	179.3	179.3	179.2
2	33.8	33.8	33.9
3	24.6	24.6	24.6
4	28.8	28.8	28.9
5	28.6	28.6	28.7
6	28.6	28.5	28.7, 28.6
7	28.2	27.9	28.2, 28.0
8	19.5	19.5	19.5, 19.4
9	83.4	79.3	83.5, 79.4
10	65.3	65.7	65.3, 65.8
11	72.8	60.4	72.8, 60.5
12	74.1	60.3	74.1, 60.4
13	108.6	65.6	108.6, 65.7
14	148.2	79.1	148.3, 79.2
15	32.8	19.0	32.9, 19.1
16	30.6	30.1	30.7, 30.1
17	22.1	21.8	22.1, 21.9
18	13.8	13.4	13.8, 13.5

ตารางที่ 2.20 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-4 (CD_3OD) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	-	178.0	H-2, H-3
2	2.25 t (7.5)	35.2	H-3, H-4
3	1.58 m	26.2	H-2, H-4
4	1.33 m	30.2	H-2
5	1.36 m	29.9	H-4
6	1.41 m	29.8	H-7, H-8
7	1.52 m	29.3	H-6, H-8
8	2.29 t (6.9)	19.9	H-6, H-7
9	-	80.5	H-7, H-8
10	-	66.4	H-8
11	-	61.3	H-8
12	-	61.0	H-15
13	-	66.7	H-15
14	-	79.6	H-15, H-16
15	2.37 t (6.9)	19.9	H-16, H-17
16	2.27 m	33.5	H-15, H-17, H-18
17	5.82 m	137.6	H-15, H-16, H-18
18	5.07 dd (17.4, 1.5)	116.7	H-16
	5.02 dd (10.5, 1.5)		

ตารางที่ 2.21 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-5** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	3.36 m	50.2	H-2, H-4, H-5, H-6, H-8
2	4.88 d (5.1)	82.1	H-1, H-4, H-5, H-8, H-2', H-6'
4	3.86 m 4.14 d (9.3)	71.0	H-1, H-6
5	2.92 m	54.5	H-4, H-6
6	4.45 d (7.2)	87.6	H-1, H-4, H-5, H-8, H-2"
8	3.34 m 3.86 m	69.8	H-1, H-2, H-5, H-6
1'	-	130.9	H-2, H-6'
2'	6.95 s	109.0	H-2, H-6'
3'	-	148.8	$\text{CH}_3\text{O}-3'$
4'	-	148.0	H-2', $\text{CH}_3\text{O}-4'$
5'	6.84 d (7.9)	111.0	-
6'	6.85 d (7.9)	117.7	H-2, H-2'
1"	-	133.6	H-5, H-6, H-5"
2"	6.93 s	109.1	H-6, H-6"
3"	-	149.2	H-5", $\text{CH}_3\text{O}-3''$
4"	-	148.7	H-2", $\text{CH}_3\text{O}-4''$
5"	6.84 d (7.9)	111.0	-
6"	6.88 d (7.9)	118.5	H-6, H-2"
3' OCH_3	3.92	55.9	-
4' OCH_3	3.89	55.9	-

ตารางที่ 2.21 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-5** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
3" OCH_3	3.90	55.9	-
4" OCH_3	3.88	55.9	-



ตารางที่ 2.22 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-6** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	3.33 m	50.1	H-2, H-4, H-5, H-6, H-8
2	4.88 d (4.8)	82.0	H-1, H-4, H-5, H-8, H-2', H-6'
4	3.86 m 4.13 d (9.3)	71.0	H-1, H-6
5	2.91 m	54.5	H-4, H-6, H-8
6	4.43 d (7.2)	87.7	H-1, H-4, H-5, H-8, H-2'', H-6''
8	3.33 m 3.85 m	69.7	H-1, H-2, H-5
1'	-	130.9	H-2, H-5'
2'	6.94 s	108.9	H-2, H-6'
3'	-	148.8	H-2', $\text{CH}_3\text{O-3}'$
4'	-	148.0	H-2', H-6', $\text{CH}_3\text{O-4}'$
5'	6.86 d (5.7)	111.0	-
6'	6.86 d (5.7)	117.7	H-2, H-2'
1''	-	133.0	H-5, H-6, H-2''
2''	6.91 s	108.5	H-6
3''	-	146.7	H-2'', $\text{CH}_3\text{O-3}''$
4''	-	145.3	H-2''
5''	6.88 d (5.7)	114.3	-
6''	6.86 d (5.7)	119.2	H-6, H-2''
3' OCH_3	3.91 s	55.9	-
4' OCH_3	3.89 s	55.9	-

ตารางที่ 2.22 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-6** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
3" OCH ₃	3.91 s	55.9	-



ตารางที่ 2.23 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ MT-7 (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	3.12 m	54.2	H-2, H-4, H-5, H-6, H-8
2	4.76 d (4.2)	85.8	H-2, H-4, H-8
4	3.89 m 4.27 dd (9.0, 6.9)	71.7	H-2, H-6
5	3.12 m	54.2	H-1, H-2, H-4, H-6, H-8
6	4.76 d (4.2)	85.8	H-4, H-8, H-2"
8	3.89 m 4.27 dd (9.0, 6.9)	71.7	H-2, H-6
1'	-	133.5	H-1, H-2, H-5'
2'	6.90 d (1.8)	109.2	H-2, H-6'
3'	-	148.6	H-2', $\text{CH}_3\text{O-3}'$
4'	-	149.2	H-5', H-6', $\text{CH}_3\text{O-4}'$
5'	6.84 d (8.1)	111.0	-
6'	6.86 dd (8.1, 1.8)	118.3	H-2, H-2'
1"	-	133.5	H-5, H-6, H-5"
2"	6.90 d (1.8)	109.2	H-6, H-6"
3"	-	148.6	H-2", $\text{CH}_3\text{O-3}"$
4"	-	149.2	H-5", H-6", $\text{CH}_3\text{O-4}"$
5"	6.84 d (8.1)	111.0	-
6"	6.86 dd (8.1, 1.8)	118.3	H-6, H-2"
3' OCH_3	3.88 s	55.9	-
4' OCH_3	3.90 s	55.9	-

ตารางที่ 2.23 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-7** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
3" OCH_3	3.88 s	55.9	-
4" OCH_3	3.90 s	55.9	-



ตารางที่ 2.24 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-8** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
2	4.70 d (9.0)	83.8	H-3, H-3a, H-4, H-5, H-2', H-6'
3	2.90 m	52.2	H-2, H-3a, H-4, H-5
3a	3.67 dd (10.8, 5.4)	61.3	H-2, H-4, H-5
	3.77 dd (10.8, 4.2)		
4	4.19 m	49.6	H-3, H-3a, H-5
4a	-	198.0	H-3, H-4, H-5, H-2'', H-6''
5	4.19 m	70.9	H-4
	4.28 br d (10.8)		
1'	-	133.0	H-2, H-3, H-2', H-5'
2'	7.03 d (1.8)	109.7	H-2, H-6'
3'	-	148.9	H-2', $\text{CH}_3\text{O}-3'$
4'	-	149.2	H-5', $\text{CH}_3\text{O}-4'$
5'	6.83 d (8.4)	110.9	-
6'	6.94 dd (8.4, 1.8)	119.3	H-2, H-2', H-5'
1''	-	129.7	H-4, H-2'', H-5''
2''	7.58 d (1.8)	110.6	H-6''
3''	-	149.2	H-2'', H-5'', $\text{CH}_3\text{O}-3''$
4''	-	153.7	H-2'', H-5'', H-6'', $\text{CH}_3\text{O}-4''$
5''	6.91 d (8.0)	110.1	H-6''
6''	7.60 dd (8.0, 1.8)	123.2	H-2''
3' OCH_3	3.87 s	55.9	-
4' OCH_3	3.91 s	55.9	-

ตารางที่ 2.24 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-8** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
3" OCH_3	3.94 s	56.0	-
4" OCH_3	3.95 s	56.1	-



ตารางที่ 2.25 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-9** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
2	4.67 d (9.0)	83.9	H-3, H-3a, H-4, H-5, H-2', H-6'
3	2.88 m	52.3	H-2, H-3a, H-4, H-5
3a	3.64 dd (10.8, 5.4)	61.2	H-2, H-4, H-5
	3.74 dd (10.8, 4.5)		
4	4.18 m	49.5	H-2, H-3, H-3a, H-5
4a	-	198.2	H-3, H-4, H-5, H-2'', H-6''
5	4.18 m	70.8	H-4
	4.26 br d (11.1)		
1'	-	132.3	H-2, H-3, H-2', H-6'
2'	7.01 s	109.1	H-2, H-4', H-6'
3'	-	146.9	H-2', H-4', OCH ₃ -3'
4'	6.85 s	114.1	H-2'
5'	-	145.6	H-4', H-6'
6'	6.85 s	120.1	H-2, H-2'
1''	-	129.7	H-2'', H-5''
2''	7.57 d (1.8)	110.6	H-5'', H-6''
3''	-	149.2	H-2'', H-5'', CH ₃ O-3''
4''	-	153.7	H-2'', H-5'', CH ₃ O-4''
5''	6.90 d (8.4)	110.2	-
6''	7.59 dd (8.4, 1.8)	123.3	H-2''
3' OCH ₃	3.88 s	56.0	-
3'' OCH ₃	3.93 s	56.0	-

ตารางที่ 2.25 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-9** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
4" OCH_3	3.95 s	56.1	-



ตารางที่ 2.26 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-10** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
2	5.52 d (7.2)	87.5	H-3, H-3a, H-2'
3	3.56 m	53.6	H-2, H-3a, H-4
3a	3.88 m overlapped	63.7	H-2, H-3
4	6.66 br s	116.1	H-3, H-5a, H-6
4a	-	127.9	H-2, H-3, H-3a, H-4
5	-	135.2	H-5a, H-5b, H-6
6	6.64 br s	112.2	H-4, H-5a
7	-	143.8	H-6, $\text{CH}_3\text{O-7}$
7a	-	146.2	H-2, H-6
1'	-	133.7	H-2, H-3, H-2', H-5'
2'	6.94 br s	109.2	H-2, H-6'
3'	-	148.9	H-5', $\text{CH}_3\text{O-3}'$
4'	-	148.7	H-2', $\text{CH}_3\text{O-4}'$
5'	6.80 d (8.4)	110.9	-
6'	6.93 dd overlapped	118.5	H-2, H-2', H-5'
5a	2.62 t (7.2)	31.7	H-5b, H-5c, H-6
5b	1.82 m	34.3	H-5a, H-5c
5c	3.61 t (6.3)	61.8	H-5a, H-5b
3' OCH_3	3.83 s	55.7	-
4' OCH_3	3.82 s	55.7	-
7 OCH_3	3.85 s	55.8	-

ตารางที่ 2.27 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-11** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
2	5.46 d (7.5)	88.3	H-3, H-3a, H-2', H-6'
3	3.77 m	50.6	H-2, H-3a, H-4
3a	4.32 dd (11.1, 7.5)	65.4	H-2, H-3
	4.43 dd (11.1, 5.4)		
4	6.67 br s	116.2	H-5a, H-6
4a	-	127.3	H-3, H-3a
5	-	135.5	H-5a, H-5b
6	6.68 br s	112.6	H-4, H-5a
7	-	144.2	H-6, $\text{CH}_3\text{O-7}$
7a	-	146.3	H-2, H-6
1'	-	133.2	H-2, H-3, H-5'
2'	6.93 br s	109.3	H-2, H-6
3'	-	149.2	H-2', H-5', $\text{CH}_3\text{O-3}'$
4'	-	149.1	H-6', $\text{CH}_3\text{O-4}'$
5'	6.83 d (8.7)	111.0	-
6'	6.94 dd (8.7, 1.8)	118.8	H-2, H-2'
5a	2.68 t (7.5)	32.0	H-6, H-5b, H-5c
5b	1.89 m	34.6	H-5a, H-5c
5c	3.69 t (6.3)	62.2	H-5a, H-5b
C=O	-	170.8	H-3a, C(O) <u>CH</u> ₃
C(O) <u>CH</u> ₃	2.03 s	20.8	-
3' OCH ₃	3.87 s	56.0	-

ตารางที่ 2.27 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-11** (CDCl_3) โดยค่า J รายงาน
ในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
4' OCH ₃	3.86 s	56.0	-
7 OCH ₃	3.89 s	56.1	-



ตารางที่ 2.28 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-12** (CD_3OD) โดยคำ J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	-	40.6	H-2, CH_3 -11, CH_3 -12
2	1.40 m	46.1	H-3, H-4, CH_3 -11, CH_3 -12
	1.66 m		
3	3.80 m	67.6	H-2, H-4
4	1.39 m	40.1	H-2, H-5, CH_3 -13
	1.67 m		
5	1.93 m	35.6	H-4, H-7, CH_3 -13
6	-	78.2	H-2, H-4, H-7, H-8, CH_3 -11,
			CH_3 -12, CH_3 -13
7	5.55 dd (15.9, 0.9)	134.0	H-8, H-9
8	5.72 dd (15.9, 6.0)	135.6	H-7, H-9, H-10
9	4.29 m	69.4	H-7, H-8, H-10
10	1.24 d (6.0)	24.3	H-8, H-9
11	0.98 s	26.0	H-2, CH_3 -12
12	0.89 s	25.3	CH_3 -11
13	0.81 d (6.0)	16.6	H-4, H-5

ตารางที่ 2.29 ข้อมูล ^1H , ^{13}C spectrum และ HMBC NMR ของ **MT-13** (CD_3OD) โดยคำ J รายงาน
ในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC (H \rightarrow C)
1	-	36.3	H-2, H-6, CH ₃ -11, CH ₃ -12
2	1.22 dd (12.9, 12.0)	49.0	H-6, CH ₃ -11, CH ₃ -12
	1.61 dd (12.9, 4.8)		
3	3.48 ddd (12.0, 9.0, 4.8)	72.4	H-2, H-4
4	2.77 dd (10.0, 9.0)	82.4	H-2, H-3, H-5, H-6, CH ₃ -13
5	1.36 m	41.7	H-4, H-6, H-7
6	0.70 ddd (11.4, 4.2, 2.0)	52.7	H-2, H-5, H-7, CH ₃ -11, CH ₃ -12, CH ₃ -13
7	1.08 m	26.8	H-8, H-9
	1.56 m		
8	1.44 m	42.5	H-6, H-7, H-9, H-10
	1.51 m		
9	3.65 m	69.2	H-8, H-10
10	1.14 d (6.0)	23.5	H-8
11	0.87 s	21.5	H-2, H-6, CH ₃ -12
12	0.94 s	31.0	H-2, CH ₃ -11
13	1.07 d (6.0)	16.9	H-4, H-5, H-6

ตารางที่ 2.30 ข้อมูล ^1H NMR spectrum ของสารผสม **MT-14** (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references โดยค่า J รายงานในหน่วย Hz

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)		
	β -sitosterol (reference)	Stigmasterol (reference)	สารผสม MT-14 (experiment)
1	-	-	-
2	-	-	-
3	3.52 m	3.53 m	3.53 m
4	-	-	-
5	-	-	-
6	5.35 m	5.36 m	5.35 m
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	0.68 s	0.68 s	0.68 s
19	1.01 s	1.01 s	1.01 s
20	-	-	-

ตารางที่ 2.30 ข้อมูล ^1H NMR spectrum ของสารผสม **MT-14** (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references โดยค่า J รายงานในหน่วย Hz (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_{H} (ppm)		
	β -sitosterol (reference)	Stigmasterol (reference)	สารผสม MT-14 (experiment)
21	0.92 d (6.3)	1.02 d (6.6)	0.92 d (6.3), 1.02 d (6.6)
22	-	5.15 dd (15.1, 8.7)	5.16 dd (15.3, 8.4)
23	-	5.02 dd (15.1, 8.7)	5.01 dd (15.3, 8.4)
24	-	-	-
25	-	-	-
26	0.86 d (7.2)	0.85 d (6.4)	0.83 m
27	0.80 d (6.6)	0.80 d (6.4)	0.80 m
28	-	-	-
29	0.83 t (6.6)	0.81 t (7.6)	0.82 m



ตารางที่ 2.31 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum ของสารผสม **MT-14** (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references

ตำแหน่ง	δ_c (ppm)		
	β -sitosterol (reference)	Stigmasterol (reference)	สารผสม MT-14 (experiment)
1	37.2	37.1	37.3
2	31.9	31.6	31.9, 31.7
3	71.8	71.8	71.8
4	42.3	41.5	42.2, 40.5
5	140.8	140.2	140.8
6	121.7	121.7	121.7
7	31.6	31.7	31.7
8	31.9	32.0	31.9
9	50.1	50.1	50.2, 50.1
10	36.5	36.7	36.5
11	21.1	20.8	21.1
12	39.7	39.6	39.8, 39.7
13	42.3	42.5	42.3
14	56.7	56.7	56.9, 56.8
15	24.3	24.0	24.4, 24.3
16	28.2	28.6	28.3, 28.9
17	56.0	55.9	56.1, 56.0
18	11.8	11.6	11.9, 11.8
19	19.4	19.2	19.4
20	36.1	40.1	36.2, 40.5

ตารางที่ 2.31 ข้อมูล ^{13}C NMR spectrum ของสารผสม **MT-14** (CDCl_3) เปรียบเทียบกับ references (ต่อ)

ตำแหน่ง	δ_c (ppm)		
	β -sitosterol (reference)	Stigmasterol (reference)	สารผสม MT-14 (experiment)
21	18.7	20.5	18.8, 19.8
22	33.9	138.0	34.0, 138.3
23	26.1	129.2	26.1, 129.3
24	45.8	51.1	45.8, 51.2
25	29.1	32.0	29.2, 31.9
26	19.8	19.0	19.8, 19.0
27	19.0	21.2	19.0, 21.2
28	23.1	25.4	23.1, 25.4
29	11.9	12.0	12.0, 12.2

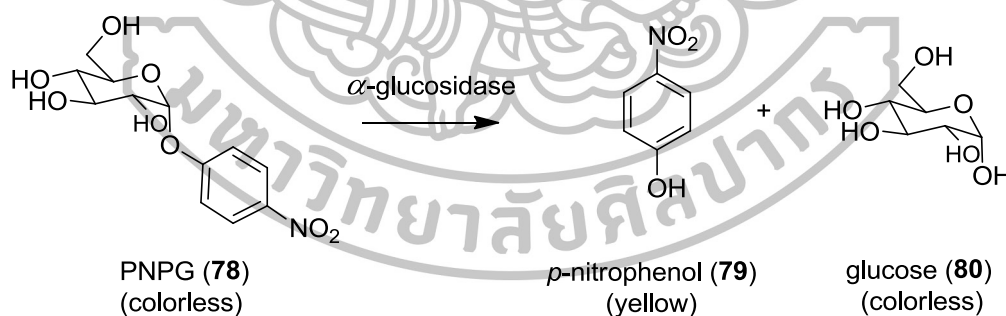


ปฏิกิริยา hydrolysis ของ mitredrusin (MT-11)

นำสารตัวอย่าง (MT-11) หนัก 4.3 mg มาละลายด้วย methanol (0.5 mL) จากนั้นเติม 0.5 M NaOH (1.0 mL) กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา ทำการปรับ pH ของสารละลายให้เป็นกรดโดยใช้ 1.0 M HCl และสกัดด้วย CH_2Cl_2 (3 x 1.0 mL) นำส่วนสกัด CH_2Cl_2 มาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ $45\text{ }^\circ\text{C}$ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น (-)-3',4-di-O-methylcedrusin (MT-10) ของหนีดลีเหลืองสีหม่นหนัก 3.2 mg

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบนางแดง โดยใช้ *p*-nitrophenyl- α -D-glycopyranoside (PNPG) (78) เป็นสารตั้งต้นซึ่งเป็นสารละลายใสไม่มีสี เมื่อมี α -glucosidase จะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของสารตั้งต้นให้ผลิตภัณฑ์เป็น *p*-nitrophenol (79) ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง และน้ำตาลกลูโคส (80) ดังแผนภาพที่ 2.1 [8] สามารถติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วย UV-VIS Spectrophotometer ถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากการทดลองมีค่ามากแสดงว่า α -glucosidase ทำงานได้ดี แต่ถ้าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าน้อยแสดงว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

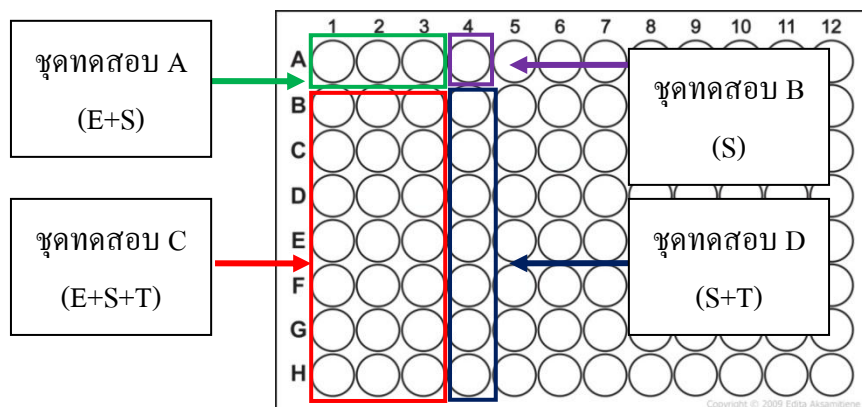


แผนภาพที่ 2.1 แสดงการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของ PNPG

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) เข้มข้น 10 mM
 ชั่ง NaH_2PO_4 111.4 mg และ Na_2HPO_4 76.7 mg ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL
2. สารละลาย α -glucosidase (จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) เข้มข้น 1 U/mL
 ชั่ง α -glucosidase 1.0 mg ละลายในสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 1.00 mL จะได้ stock ของเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 23.2 U/mL จากนั้นปิเปต stock มา 43.1 μL ละลายในสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) 956.9 μL
3. สารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glycopyranoside (PNPG) เข้มข้น 2 mM
 ชั่ง PNPG 6.0 mg ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 mL
4. สารละลาย sodium carbonate (Na_2CO_3) เข้มข้น 0.5 M
 ชั่ง Na_2CO_3 1.325 g ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 25 mL
5. สารละลาย acarbose (positive control) เข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313, 0.156 mg/mL
 ชั่ง acarbose 10 mg ละลายใน 80% methanol 1.00 mL ได้สารละลาย acarbose เข้มข้น 10 mg/mL จากนั้นทำ serial dilution ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ
6. สารละลายตัวอย่าง เข้มข้น 1.0 mg/mL
 ชั่งสารตัวอย่าง 1.0 mg ละลายใน 80% methanol 1.00 mL

วิธีการทดสอบ



รูปที่ 2.3 แสดงภาพของ 96 well-plate

โดยที่ enzyme (E) คือ α -glucosidase

substrate (S) คือ *p*-nitrophenyl- α -D-glycopyranoside (PNPG)

test sample (T)

การทดสอบแบ่งออกเป็น 4 ชุด เริ่มจากปิเปตสารละลายที่ใช้ทดสอบลงใน 96-well plate ให้มีปริมาตรดังตารางที่ 2.32 [52]

ตารางที่ 2.32 แสดงสารละลายที่ใช้ในการทดสอบเพื่อหา % inhibition

ชุดทดสอบ	Phosphate buffer pH 6.8 (μ L)	α -glucosidase solution (μ L)	Test sample (μ L)	80% MeOH (μ L)
A (E+S)	100	20	-	20
B (S)	120	-	-	20
C (E+S+T)	100	20	20	-
D (S+T)	120	-	20	-

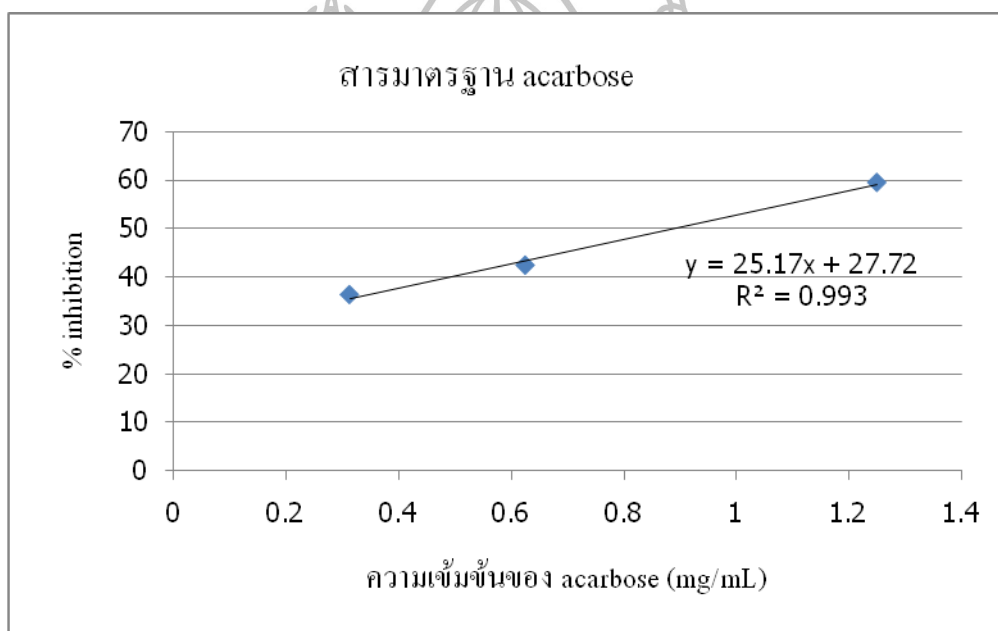
ผสมสารละลายในแต่ละหลุมให้เข้ากัน ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลาย PNPG (substrate) ปริมาตร $20\ \mu\text{L}$ ลงในทุกหลุม เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 15 นาที ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม Na_2CO_3 $40\ \mu\text{L}$ นำไปวัด

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วยเครื่อง microplate reader พร้อมทั้งคำนวณหา % inhibition จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = \{[(A-B)-(C-D)]/(A-B)\} \times 100$$

การคำนวณหาค่า IC_{50}

IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ การคำนวณหาค่า IC_{50} สามารถทำได้โดยพลอตกราฟระหว่าง % inhibition (แกน y) กับ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงกราฟที่พลอตระหว่างค่า % inhibition กับ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (mg/mL)

ได้สมการเส้นตรง

$$y = 25.175x + 27.724 \text{ แทนค่า } y = 50 \text{ จะได้ว่า}$$

$$50 = 25.175x + 27.724$$

$$x = 0.8848 \text{ mg/mL}$$

$$= 0.8848 \text{ mg/mL} \times 1 \text{ mol}/645.60 \text{ gAcarbose}$$

$$= 1371 \mu\text{M}$$

ดังนั้น IC_{50} มีค่าเท่ากับ 1371 μM

เมื่อนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้ง 14 ตัวไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2.33

ตารางที่ 2.33 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ของ MT-1 ถึง MT-14

Compounds	α -Glucosidase inhibition	
	IC ₅₀ (μ M) ^a	
MT-1	59±1.0	
MT-2	53±1.7	
สารผสม MT-2, MT-3	128±2.5	
MT-4	274±7.3	
MT-5	NI ^b	
MT-6	NI ^b	
MT-7	NI ^b	
MT-8	NI ^b	
MT-9	NI ^b	
MT-10	NI ^b	
MT-11	NI ^b	
MT-12	NI ^b	
MT-13	NI ^b	
สารผสม MT-14	95.48 ± 23.2	
Acarbose (positive control)	1457±121.8	

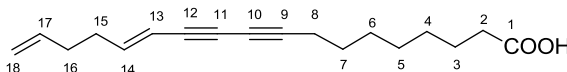
^a ค่า IC₅₀ ที่แสดงมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (\pm SD), n=3

^b สามารถยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ได้น้อยกว่า 30% ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

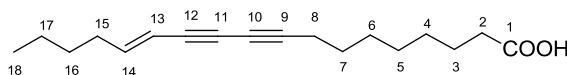
บทที่ 3 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบนางแดง (*Mitrephora teysmannii*) ในส่วนสกัด hexane และ EtOAc สามารถแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่ในกลุ่ม dihydrobenzofuran lignan ได้ 1 ตัวคือ mitredrusin (MT-11) และสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เคยมีรายงานมาก่อนซึ่งประกอบไปด้วยสารในกลุ่ม dihydrobenzofuran lignan 1 ตัวคือ (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin (MT-10) สารในกลุ่ม polyacetylenic acids 4 ตัวคือ 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diynoic acid (MT-1), 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid (MT-2), สารผสม 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid (MT-2) กับ octadeca-9,11,13-triynoic acid (MT-3) และ octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid (MT-4) สารในกลุ่ม lignans 5 ตัวคือ (-)-epiudesmin (MT-5), (-)-phillygenin (MT-6), (-)-eudesmin (MT-7), magnone A (MT-8) และ forsythialan B (MT-9) สารในกลุ่ม megastigmans 2 ตัวคือ (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmene-3,6,9-triol (MT-12) และ annoionol A (MT-13) และยังพบสารในกลุ่ม steroids 2 ตัวซึ่งเป็นสารผสมระหว่าง β -sitosterol และ stigmasterol (MT-14)

สำหรับสาร MT-11 เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่ ส่วนสาร MT-10, MT-1, MT-2, MT-3, MT-5, MT-6, MT-9, MT-12 และ MT-13 เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบครั้งแรกในต้นนางแดง

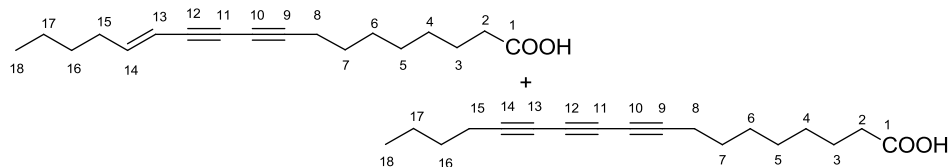
MT-1; 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid

MT-1 เป็นของหนืดใสสีเหลือง จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3440 (O-H) และ 1692 (C=O) cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ carboxylic acid จาก mass spectrum มีค่า m/z 271.2203 [M-H]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-1** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 7 จาก ^{13}C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 18 ตัว ประกอบด้วยสัญญาณของ carbonyl carbon ที่ δ_c 180.3 (C-1) สัญญาณของ methylene carbon 9 ตัว สัญญาณของ olefinic carbon 4 ตัว และสัญญาณของ acetylenic carbon 4 ตัว จาก ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของ terminal olefin ที่ δ_H 5.77 (1H, ddt, $J = 17.1, 10.5, 6.3$ Hz, H-17), 5.03 (1H, dd, $J = 17.1, 1.8$ Hz, H_{trans}-18) และ 4.99 (1H, dd, $J = 10.5, 1.8$ Hz, H_{cis}-18) พบสัญญาณของ olefinic proton ที่ δ_H 5.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-13) และ 6.27 (1H, dt, $J = 15.9, 6.9$ Hz, H-14) จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ H-2 (δ 2.31) กับ C-1 (δ 180.3) และ C-3 (δ 24.8) correlation ของ H-8 (δ 2.31) กับ C-7 (δ 28.2), C-9 (δ 83.7), C-10 (δ 65.3) และ C-11 (δ 73.1) correlation ของ H-13 (δ 5.51) กับ C-11 (δ 73.1), C-12 (δ 73.9), C-14 (δ 147.0), C-15 (δ 32.5) และ C-16 (δ 32.7) และ correlation ของ H-16 (δ 2.16) กับ C-14 (δ 147.0), C-15 (δ 32.5), C-17 (δ 137.3) และ C-18 (δ 115.4) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของ **MT-1** กับ 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid [33] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้สรุปได้ว่า **MT-1** มีโครงสร้างเป็น 13(*E*),17-octadecadiene-9,11-diyonic acid

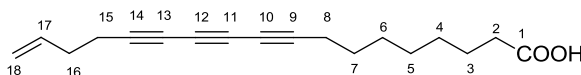
MT-2; 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid

MT-2 เป็นของหนืดใสสีเหลือง จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3445 และ 1696 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ carboxylic acid จาก mass spectrum มีค่า m/z 275.2008 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-2** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 6 จาก ^{13}C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 18 ตัว ประกอบด้วยสัญญาณของ carbonyl carbon ที่ δ_c 180.1 (C-1) สัญญาณของ methylene carbon 10 ตัว สัญญาณของ olefinic carbon 2 ตัว สัญญาณของ acetylenic carbon 4 ตัว และสัญญาณของ methyl carbon 1 ตัว จาก ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของ olefinic proton ที่ δ_H 5.48 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-13) และ 6.27 (1H, dt, $J = 15.9, 7.2$ Hz, H-14) เช่นเดียวกับ **MT-1** แตกต่างกันที่ไม่พบสัญญาณของ terminal olefin ที่ตำแหน่ง C-17 และ C-18 แต่พบสัญญาณของ methyl proton ที่ δ_H 0.89 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-18) จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ H-13 (δ 5.48) กับ C-10 (δ 65.3), C-11 (δ 72.8), C-14 (δ 148.3) และ C-15 (δ 32.9) correlation ของ H-16 (δ 1.36) กับ C-14 (δ 148.3), C-15 (δ 32.9), C-17 (δ 22.1) และ C-18 (δ 13.8) และ correlation ของ H-18 (δ 0.89) กับ C-16 (δ 30.7) และ C-17 (δ 22.1) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของ **MT-2** กับ 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid [53] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน จึงสรุปได้ว่า **MT-2** มีโครงสร้างเป็น 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid

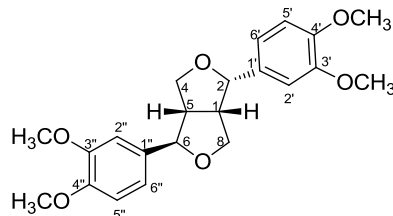
สารผสม **MT-2** กับ **MT-3**; 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid กับ octadeca-9,11,13-triynoic acid



สารผสม **MT-2** กับ **MT-3** เป็นของหนึ่ดิสตีเลื่อง จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3440 และ 1696 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ carboxylic acid เมื่อทำการเปรียบเทียบ ^1H NMR spectrum ระหว่าง **MT-2** กับสารผสมพบว่าเหมือนกันทุกประการ แตกต่างกันที่ ^{13}C NMR spectrum พบสัญญาณของ carbonyl carbon เพิ่มมาอีก 1 สัญญาณที่ δ_{H} 179.2 (C-1) นอกจากนี้พบสัญญาณของ olefinic carbon ที่ δ_{C} 108.6 (C-13) และ 148.3 (C-14) และพบสัญญาณของ acetylenic carbon 10 ตัวของสารผสม 2 ตัวนี้ ที่ δ_{C} 83.5 (C-9), 63.5 (C-10), 72.8 (C-11) และ 74.1 (C-12) ซึ่งเป็นของสาร **MT-2** และที่ δ_{C} 79.4 (C-9), 65.8 (C-10), 60.5 (C-11), 60.4 (C-12), 65.7 (C-13) และ 79.2 (C-14) ซึ่งเป็นของสารตัวที่ 2 นอกจากนี้ mass spectrum มีสัญญาณที่บอกว่าเป็นสารผสมของสาร 2 ตัวคือ พบสัญญาณที่ m/z 275.2009 $[\text{M}+\text{H}]^+$ มีสูตรโมเลกุลคือ $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2$ และที่ m/z 273.1850 $[\text{M}+\text{H}]^+$ มีสูตรโมเลกุลคือ $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$ และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของสารผสมกับ 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid [53] และ octadeca-9,11,13-triynoic acid [54] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้สรุปได้ว่าสารผสมนี้คือ 13(*E*)-octadecene-9,11-diynoic acid (**MT-2**) และ octadeca-9,11,13-triynoic acid (**MT-3**)

MT-4; octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid

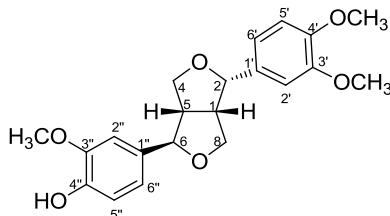
MT-4 เป็นของหนืดใสสีเหลือง จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3447 และ 1691 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ carboxylic acid จาก mass spectrum มีค่า m/z 271.1690 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-4** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 8 สำหรับ ^{13}C NMR, DEPT และ HMQC spectra แสดงสัญญาณของคาร์บอน 18 ตัวเช่นเดียวกับ **MT-1** แต่ต่างกันที่ในโครงสร้างของ **MT-4** double bond ในตำแหน่งที่ C-13 และ C-14 ถูกแทนที่ด้วย triple bond ทำให้พบสัญญาณของ acetylenic carbon 6 ตัวที่ δ_c 80.5 (C-9), 66.4 (C-10), 61.3 (C-11), 61.0 (C-12), 66.7 (C-13) และ 79.6 (C-14) พบสัญญาณของ olefinic carbon 2 ตัวที่ δ_c 136.6 (C-17) และ 116.7 (C-18) สัญญาณของ carbonyl carbon ที่ δ_c 178.0 (C-1) และสัญญาณของ methylene carbon 9 ตัวอีกด้วย สำหรับ ^1H NMR spectrum แตกต่างจาก **MT-1** ที่ไม่ปรากฏสัญญาณของ olefinic proton ที่ตำแหน่ง C-13 และ C-14 พบเพียงสัญญาณของ terminal olefin ที่ δ_H 5.82 (1H, m, H-17), 5.02 (1H, dd, $J = 10.5, 1.5$ Hz, H_{cis} -18) และ 5.07 (1H, dd, $J = 17.4, 1.5$ Hz, H_{trans} -18) จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ H-15 (δ 2.37) กับ C-12 (δ 61.0), C-13 (δ 66.7), C-14 (δ 79.6), C-16 (δ 33.5) และ C-17 (δ 137.6) correlation ของ H-16 (δ 2.27) กับ C-14 (δ 79.6), C-15 (δ 19.9), C-17 (δ 136.6) และ C-18 (δ 116.7) และ correlation ของ H-18 (δ 5.02, 5.07) กับ C-16 (δ 33.5) และ C-17 (δ 136.6) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ระหว่าง **MT-4** กับ octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid [55] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันทำให้สรุปได้ว่า **MT-4** มีโครงสร้างเป็น octadeca-17-en-9,11,13-triynoic acid

MT-5; (-)-epieudesmin

MT-5 เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 126-128 °C มีค่า $[\alpha]_D^{25}$ -112.4° (c 0.060, CHCl₃) จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 1613, 1460 (C=C) และ 1147 (C-O) cm⁻¹ ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ aromatic และ ether จาก mass spectrum มีค่า m/z 409.1622 [M+Na]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-5** มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₂H₂₆O₆ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 10 สำหรับ ¹H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methoxy 4 หมู่ที่ δ_H 3.92 (3H, s, CH₃O-3'), 3.89 (3H, s, CH₃O-4'), 3.90 (3H, s, CH₃O-3'') และ 3.88 (3H, s, CH₃O-4'') พบสัญญาณของ methine proton ที่ δ_H 3.36 (1H, m, H-1) และ 2.92 (1H, m, H-5) สัญญาณของ benzylic oxymethine proton ที่ δ_H 4.88 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-2) และ 4.45 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-6) และสัญญาณของ aromatic protons ที่ δ_H 6.95 (1H, s, H-2'), 6.84 (2H, d, *J* = 7.9 Hz, H-5' และ H-5''), 6.85 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-6'), 6.93 (1H, s, H-2'') และ 6.88 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-6'') ¹³C NMR, DEPT และ HMQC spectra แสดงสัญญาณของคาร์บอน 22 ตัว โดยพบสัญญาณของ methine carbon ที่ δ_C 50.2 (C-1), 82.1 (C-2), 54.5 (C-5) และ 87.6 (C-6) พบสัญญาณของวง benzene 2 วง ที่เป็น 1,3,4-trisubstituted benzene ring โดยพบสัญญาณของ aromatic quaternary carbon ที่ δ_C 130.9 (C-1'), 148.8 (C-3'), 148.0 (C-4'), 133.6 (C-1''), 149.2 (C-3'') และ 148.7 (C-4'') และสัญญาณของ aromatic methine carbon ที่ δ_C 109.0 (C-2'), 111.0 (C-5'), 117.7 (C-6'), 109.1 (C-2''), 111.0 (C-5'') และ 118.5 (C-6'') จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้สรุปได้ว่า **MT-5** มีโครงสร้างหลักเป็น furofuran lignan นอกจากนี้ ใน HMBC spectrum พบ correlation ของ H-2 (δ 4.88) กับ C-1 (δ 50.2), C-8 (δ 69.8), C-1' (δ 130.9), C-2' (δ 109.0) และ C-6' (δ 117.7) correlation ของ H-6 (δ 4.45) กับ C-1 (δ 50.2), C-4 (δ 71.0), C-5 (δ 54.5), C-8 (δ 69.8), C-1'' (δ 133.6), C-2'' (δ 109.1) และ C-6'' (δ 118.5) correlation ของ CH₃O-3' (δ 3.92) กับ C-3' (δ 148.8) correlation ของ CH₃O-4' (δ 3.89) กับ C-4' (δ 148.0) correlation ของ CH₃O-3'' (δ 3.90) กับ C-3'' (δ 149.2) และ correlation ของ CH₃O-4'' (δ 3.88) กับ C-4'' (δ 148.7) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR ของ **MT-5** กับ epieudesmin [56] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-5** กับ epieudesmin, $[\alpha]_D^{25}$ -101° (c 0.15, CHCl₃) [44]

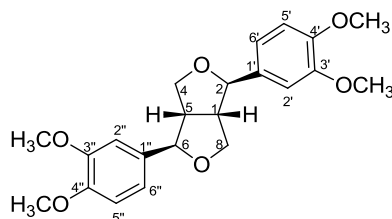
พบว่าเครื่องหมายเหมือนกันอีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกันทำให้สรุปได้ว่า **MT-5** มีโครงสร้างเป็น (-)-epieudesmin



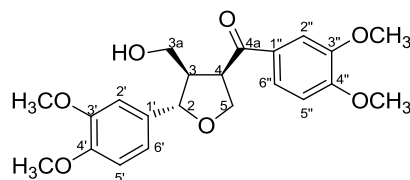
MT-6; (-)-phillygenin

MT-6 เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 128-130 °C มีค่า optical rotation เป็นลบ, $[\alpha]_D^{25} -109.8^\circ$ (c 0.051, CHCl₃) เช่นเดียวกับ **MT-5** แต่จาก IR spectrum พบสัญญาณของ hydroxyl group ที่ 3573 (O-H) cm⁻¹ ซึ่งต่างจาก **MT-5** ที่ไม่ปรากฏสัญญาณนี้ จาก mass spectrum มีค่า m/z 395.1468 [M+Na]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-6** มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₁H₂₄O₆ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 10 จาก ¹H, ¹³C NMR และค่า optical rotation พบว่า **MT-6** มีโครงสร้างหลักเป็น furofuran lignan เช่นเดียวกับ **MT-5** แตกต่างกันใน ¹H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methoxy เพียง 3 หมู่ที่ δ_H 3.91 (6H, s, CH₃O-3' และ CH₃O-3'') และ 3.89 (3H, s, CH₃O-4') จาก ¹³C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 21 ตัว โดยพบว่าสัญญาณคาร์บอนของวง benzene แตกต่างจาก **MT-5** ที่ δ_C 146.7 (C-3''), 145.3 (C-4'') และ 114.3 (C-5'') แสดงให้เห็นว่ามี hydroxyl group เป็นหมู่แทนที่บน C-4'' ซึ่งสามารถยืนยันได้จาก HMBC spectrum ซึ่งพบ correlation ของ CH₃O-3' (δ 3.91) กับ C-3' (δ 148.8) correlation ของ CH₃O-3'' (δ 3.91) กับ C-3'' (δ 146.7) และ correlation ของ CH₃O-4' (δ 3.89) กับ C-4' (δ 148.0) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR ของ **MT-6** กับ phillygenin พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-6** กับ phillygenin, $[\alpha]_D^{25} -120.0^\circ$ (c 0.2, CHCl₃) [45] พบว่ามีเครื่องหมายเหมือนกันอีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกันทำให้สรุปได้ว่า **MT-6** มีโครงสร้างเป็น (-)-phillygenin

MT-7; (-)-eudesmin



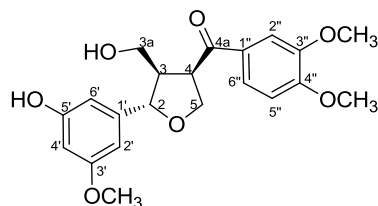
MT-7 เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 96-98 °C มีค่า optical rotation เป็นลบ, $[\alpha]_D^{25}$ -51.0° (c 0.053, CHCl₃) เช่นเดียวกับ **MT-5** จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 1613, 1460 และ 1147 cm⁻¹ ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ aromatic และ ether เช่นเดียวกับ **MT-5** จาก mass spectrum มีค่า m/z 409.1624 [M+Na]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-7** มีสูตรโมเลกุลเหมือนกับ **MT-5** คือ C₂₂H₂₆O₆ และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 10 จาก ¹H, ¹³C NMR และค่า optical rotation พบว่า **MT-7** มีโครงสร้างหลักเป็น furofuran lignan เช่นเดียวกับ **MT-5** แตกต่างกันใน ¹H, ¹³C NMR spectrum ปรากฏสัญญาณของโปรตอนและคาร์บอนเพียงครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมดในโครงสร้าง ทำให้ทราบว่า **MT-7** มีโครงสร้างที่สมมาตร โดย ¹H NMR spectrum พบสัญญาณของ methoxy 4 หมู่ที่ δ_H 3.88 (6H, s, CH₃O-3' และ CH₃O-3'') และ 3.90 (6H, s, CH₃O-4' และ CH₃O-4'') สัญญาณ methine proton ที่ δ_H 3.12 (2H, m, H-1, H-5) สัญญาณ benzylic oxymethine proton ที่ δ_H 4.76 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-2, H-6) สัญญาณของ methylene proton ที่ 3.89 (2H, m, H_a-4, H_a-8) และ 4.27 (2H, dd, $J = 9.0, 6.9$ Hz, H_b-4, H_b-8) และสัญญาณของ aromatic proton ที่ δ_H 6.90 (2H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2', H-2''), 6.84 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5', H-5'') และ 6.86 (2H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6', H-6'') จาก ¹³C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 11 ตัว โดยพบสัญญาณของ methine carbon ที่ δ_C 54.2 (C-1, C-5), 85.8 (C-2, C-6) สัญญาณของ methylene carbon ที่ δ_C 71.7 (C-4, C-8) สัญญาณของวง benzene 2 วง ที่มีหมู่แทนที่เป็น 1,3,4-trisubstituted benzene ring โดยพบสัญญาณของ aromatic methine carbon ที่ δ_C 109.2 (C-2', C-2''), 111.0 (C-5', C-5'') และ 118.3 (C-6', C-6'') และ aromatic quaternary carbon ที่ δ_C 133.5 (C-1', C-1''), 148.6 (C-3', C-3'') และ 149.2 (C-4', C-4'') จากการเปรียบเทียบข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR ของ **MT-7** กับ eudesmin [57] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-7** กับ eudesmin, $[\alpha]_D^{25}$ -78.5° (c 0.41, CHCl₃) [46] พบว่ามีเครื่องหมายเหมือนกันอีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกันทำให้สรุปได้ว่า **MT-7** มีโครงสร้างเป็น (-)-eudesmin

MT-8; magnone A

MT-8 เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 148-150 °C มีค่า $[\alpha]_D^{25} +31.4^\circ$ (c 0.053, CHCl₃) จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3465 (O-H) และ 1662 (C=O) cm⁻¹ ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ hydroxyl และ carbonyl group จาก mass spectrum มีค่า m/z 425.1573 [M+Na]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-8** มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₂H₂₆O₇ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 10 จาก ¹H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methoxy 4 หมู่ที่ δ_H 3.87 (3H, s, CH₃O-3'), 3.91 (3H, s, CH₃O-4'), 3.94 (3H, s, CH₃O-3'') และ 3.95 (3H, s, CH₃O-4'') สัญญาณของ methylene proton ที่ δ_H 3.67 (1H, dd, J = 10.8, 5.4 Hz, H_a-3a), 3.77 (1H, dd, J = 10.8, 4.2 Hz, H_b-3a), 4.19 (1H, m, H_c-5) และ 4.28 (1H, br d, J = 10.8 Hz, H_d-5) สัญญาณของ 6 aromatic protons ที่เป็น ABX coupling system 2 กลุ่มที่ δ_H 7.03 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.83 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.94 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6') และที่ δ_H 7.58 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2''), 6.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5''), 7.60 (1H, dd, J = 8.0, 1.8 Hz, H-6'') แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างนี้ประกอบไปด้วย 1,3,4-trisubstituted benzene ring จำนวน 2 วง และพบสัญญาณของ methine proton ที่ δ_H 4.70 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-2), 2.90 (1H, m, H-3) และ 4.19 (1H, m, H-4) จาก ¹³C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 22 ตัว สัญญาณของ aromatic carbon 12 ตัว สัญญาณของ carbonyl carbon ที่ δ_C 198.0 (C-4a) สัญญาณของ methylene carbon ที่ δ_C 61.3 (C-3a) และ 70.9 (C-5) และสัญญาณของ methine carbon ที่ δ_C 83.8 (C-2), 52.2 (C-3) และ 49.6 (C-4) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้สรุปได้ว่า **MT-8** มีโครงสร้างหลักเป็น 2,3,4-trisubstituted tetrahydrofuran-type lignan นอกจากนี้ จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ H-2 (δ 4.70) กับ C-3 (δ 52.2), C-3a (δ 61.3), C-1' (δ 133.0), C-2' (δ 109.7) และ C-6' (δ 119.3) correlation ของ H-4 (δ 4.19) กับ C-2 (δ 83.8), C-3 (δ 52.2), C-3a (δ 61.3), C-4a (δ 198.0), C-5 (δ 70.9) และ C-1'' (δ 129.7) correlation ของ H-3 (δ 2.90), H-5 (δ 4.19, 4.28), H-2'' (δ 7.58) และ H-6'' (δ 7.60) กับ C-4a (δ 198.0) correlation ของ CH₃O-3' (δ 3.87) กับ C-3' (δ 148.9) correlation ของ CH₃O-4' (δ 3.91) กับ C-4' (δ 149.2) correlation ของ CH₃O-3'' (δ 3.94) กับ C-3'' (δ 149.2) และ correlation ของ CH₃O-4'' (δ 3.95) กับ C-4'' (δ 153.7) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR ของ **MT-8** กับ magnone A พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อ

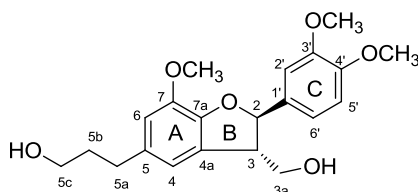
เปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-8** กับ magnone A, $[\alpha]_D^{25} +24.7^\circ$ (c 0.5, MeOH) [47]
พบว่าเครื่องหมายเหมือนกันอีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกันทำให้สรุปได้ว่า **MT-8** มีโครงสร้างเป็น (+)-
magnone A



MT-9; forsythialan B

MT-9 เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 142-144 °C มีค่า optical rotation เป็นบวก, $[\alpha]_D^{25} +21.3^\circ$ (c 0.055, CHCl_3) เช่นเดียวกับ **MT-8** จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3430 และ 1667 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ hydroxyl และ carbonyl group จาก mass spectrum มีค่า m/z 411.1416 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-9** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 10 จาก ^1H , ^{13}C NMR และ ค่า optical rotation พบว่า **MT-9** มีโครงสร้างหลักเป็น 2,3,4-trisubstituted tetrahydrofuran-type lignan เช่นเดียวกับ **MT-8** แตกต่างที่ใน ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methoxy 3 หมู่ที่ δ_{H} 3.88 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-3'$), 3.93 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-3''$) และ 3.95 (3H, s, $\text{CH}_3\text{O}-4''$) และพบสัญญาณของ aromatic protons ที่ δ 7.01 (1H, s, H-2') และ 6.85 (2H, s, H-4' และ H-6') แสดงถึง 1,3,5-trisubstituted benzene ring จาก ^{13}C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 21 ตัว โดยพบสัญญาณของ aromatic carbons ที่แตกต่างจาก **MT-8** ที่ δ_{C} 146.9 (C-3'), 114.1 (C-4') และ 145.6 (C-5') แสดงให้เห็นว่ามีหมู่ hydroxyl group เป็นหมู่แทนที่บน C-5' ยืนยันได้จาก HMBC spectrum ซึ่งพบ correlation ของ $\text{CH}_3\text{O}-3'$ (δ 3.88) กับ C-3' (δ 146.9) correlation ของ H-2' (δ 7.01) กับ C-2 (δ 83.9), C-1' (δ 132.3), C-3' (δ 146.9), C-4' (δ 114.1) และ C-6' (δ 120.1) correlation ของ H-4' (δ 6.85) กับ C-2' (δ 109.1), C-3' (δ 146.9) และ C-5' (δ 145.6) และ correlation ของ H-6' (δ 6.85) กับ C-2 (δ 83.9), C-1' (δ 132.3), C-2' (δ 109.1) และ C-5' (δ 145.6) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของ **MT-9** กับ (+)-forsythialan B [48] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันจึงสรุปได้ว่า **MT-9** มีโครงสร้างเป็น (+)-forsythialan B

MT-10; (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin หรือ 3-[(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dimethoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl]propan-1-ol

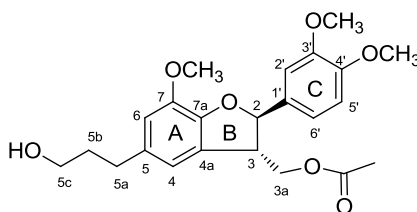


MT-10 เป็นของหนืดใสไม่มีสี มีค่า $[\alpha]_D^{25} -7.4^\circ$ (c 0.060, CHCl_3) จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3390 (O-H), 1606 และ 1515 ($\text{C}=\text{C}$) cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของหมู่ hydroxyl และ aromatic สำหรับ UV spectrum มี absorption band ที่ 280, 237 และ 205 nm โดย mass spectrum ปรากฏสัญญาณที่ m/z 397.1634 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-10** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6$ และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 9 จาก ^{13}C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 21 ตัว ประกอบไปด้วยสัญญาณของ aromatic carbon 12 ตัว สัญญาณของ methoxy carbon 3 ตัวที่ δ_{C} 55.8 ($\text{CH}_3\text{O}-7$) และ 55.7 ($\text{CH}_3\text{O}-3'$, $\text{CH}_3\text{O}-4'$) สัญญาณของ oxygenated methylene carbon 2 ตัวที่ δ_{C} 63.7 (C-3a) และ 61.8 (C-5c) สัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ δ_{C} 87.5 (C-2) สัญญาณของ methylene carbon 2 ตัวที่ δ_{C} 31.7 (C-5a) และ 34.3 (C-5b) และสัญญาณของ methine carbon ที่ 53.6 (C-3) จาก ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของ aromatic proton บน ring A ที่ δ_{H} 6.66 (1H, br s, H-4) และ 6.64 (1H, br s, H-6) แสดงให้เห็นว่า proton 2 ตัวนี้อยู่ในตำแหน่ง meta กัน สำหรับ aromatic ring C พบสัญญาณที่เป็น ABX coupling system ที่ δ_{H} 6.80 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.93 (1H, dd, H-6') และ 6.94 (1H, br s, H-2') แสดงว่า ring C มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง 1', 3' และ 4' นอกจากนี้พบสัญญาณของ oxygenated methylene proton ที่ δ_{H} 3.61 (2H, t, $J=6.3$ Hz, H-5c) methylene proton ที่ δ_{H} 1.82 (2H, m, H-5b) และ benzylic methylene proton ที่ δ_{H} 2.62 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-5a) แสดงถึงหมู่ 3-hydroxypropyl ที่ต่อกับวง benzene นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ δ_{H} 5.52 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-2) สัญญาณของ methine proton ที่ δ_{H} 3.56 (1H, m, H-3) และสัญญาณของ oxygenated methylene proton ที่ δ_{H} 3.88 (2H, m, H-3a) ซึ่งแสดงถึงชิ้นส่วนของ $-\text{OCHCHCH}_2\text{O}-$ สำหรับ HMBC spectrum พบ correlation ของ H-2 (δ 5.52) กับ C-2' (δ 109.2), C-6' (δ 118.5), C-3a (δ 63.7), C-4a (δ 127.9) และ C-7a (δ 146.2) correlation ของ H-3 (δ 3.56) กับ C-1' (δ 133.7), C-4a (δ 127.9) และ C-7a (δ 146.2) และ correlation ของ H-3a (δ 3.88) กับ C-2 (δ 87.5), C-3 (δ 53.6) และ C-4a (δ 127.9) ซึ่งแสดงถึงการเชื่อมต่อกันของ ring A และ B ที่ตำแหน่ง C-4a และ C-7a สำหรับ ring C

พบ correlation ของ H-2' (δ 6.94) กับ C-2 (δ 87.5) correlation ของ H-5' (δ 6.80) กับ C-1' (δ 133.7) correlation ของ H-6' (δ 6.93) กับ C-4' (δ 148.7) correlation ของ CH₃O-3' (δ 3.83) กับ C-3' (δ 148.9) และ correlation ของ CH₃O-4' (δ 3.82) กับ C-4' (δ 148.7) สำหรับ ring A พบ correlation ของ H-6 (δ 6.64) กับ C-7a (δ 146.2) correlation ของ H-4 (δ 6.66) กับ C-3 (δ 53.6) และ correlation ของ CH₃O-7 (δ 3.85) กับ C-7 (δ 143.8) นอกจากนี้ยังพบ correlation ของ H-5a (δ 2.62) กับ C-4 (δ 116.1), C-5 (δ 135.2) และ C-6 (δ 112.2) เป็นการยืนยันว่า 3-hydroxypropyl ต่อกับ ring A ที่ตำแหน่ง C-5 จากการเปรียบเทียบข้อมูล ¹H และ ¹³C NMR ระหว่าง **MT-10** และ (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin หรือ 3-[(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dimethoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl]propan-1-ol พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังสามารถยืนยัน configuration ของ C-2 และ C-3 ได้จากค่า coupling constant ($J = 7.2$ Hz) ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะสำหรับ stereochemistry ของ dihydrobenzofuran lignan ในลักษณะที่ H-2 และ H-3 เป็น trans กัน [58] และเมื่อเปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-10** และ (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin, $[\alpha]_D^{25} -8.5^\circ$ (c 0.25, CHCl₃) [49] พบว่ามีเครื่องหมายเหมือนกัน อีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้สรุปได้ว่า **MT-10** มีโครงสร้างเป็น (-)-3',4-di-*O*-methylcedrusin

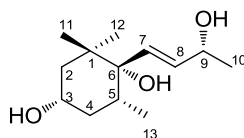


MT-11; mitredrusin หรือ (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dimethoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-3-methylacetate

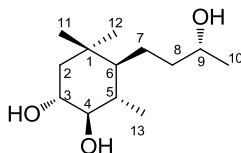


MT-11 เป็นของหนืดใสไม่มีสี มีค่า optical rotation เป็นลบ, $[\alpha]_D^{25} -22.3^\circ$ (c 0.038, CHCl₃) เช่นเดียวกับ **MT-10** จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3501 (O-H), 1738 (C=O), 1595 และ 1516 (C=C) cm⁻¹ ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ hydroxyl, carbonyl และ aromatic สำหรับ UV spectrum มี absorption band ที่ 278, 237 และ 207 nm จาก mass spectrum มีค่า *m/z* 439.1734 [M+Na]⁺ ทำให้ทราบว่า **MT-11** มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₃H₂₈O₇ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล(Ω) = 10 จาก ¹H, ¹³C NMR และค่า optical rotation พบว่า **MT-11** มีโครงสร้างหลักเป็น dihydrobenzofuran lignan เช่นเดียวกับ **MT-10** แตกต่างกันในโครงสร้างของ **MT-11** หมู่ hydroxy ที่ตำแหน่ง C-3a ถูกแทนที่ด้วยหมู่ acetoxy โดย ¹H NMR spectrum พบสัญญาณที่ต่างจาก **MT-10** คือพบสัญญาณของ methyl proton ที่ δ_H 2.03 (3H, s, C(O)CH₃) สัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ δ_H 5.46 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-2) สัญญาณของ methine proton ที่ δ_H 3.77 (1H, m, H-3) และสัญญาณของ oxygenated methylene proton ที่ δ 4.32 (1H, dd, *J* = 11.1, 7.5 Hz, H_a-3a) และ 4.43 (1H, dd, *J* = 11.1, 5.4 Hz, H_b-3a) จาก ¹³C NMR, DEPT และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 23 ตัว โดยพบสัญญาณของคาร์บอนที่ต่างจาก **MT-10** คือสัญญาณของ carbonyl carbon ที่ δ_C 170.8 สัญญาณของ methyl carbon ที่ δ_C 20.8 สัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ δ_C 88.3 (C-2) พบสัญญาณของ methine carbon ที่ δ_C 50.6 (C-3) และสัญญาณของ oxygenated methylene carbon ที่ δ_C 65.4 (C-3a) สำหรับ HMBC spectrum พบ correlation ของ H-3a (δ 4.32, 4.43) และ C(O)CH₃ (δ 2.03) กับ carbonyl carbon (δ 170.8)

และเมื่อนำ **MT-11** มาทำปฏิกิริยา hydrolysis พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นคือ **MT-10** ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า **MT-11** มีโครงสร้างเป็น (2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dimethoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-3-methylacetate หรือ mitredrusin

MT-12; (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmen-3,6,9-triol

MT-12 เป็นของหน้คไอสิสั่ม $[\alpha]_D^{25} -9.0^\circ$ (c 0.055, CHCl_3) จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3357 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ hydroxyl group จาก mass spectrum มีค่า m/z 251.1628 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-12** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_3$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 2 จาก ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methyl 4 หมู่ที่ δ_{H} 1.24 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH_3 -10), 0.98 (3H, s, CH_3 -11), 0.89 (3H, s, CH_3 -12) และ 0.81 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH_3 -13) สัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ δ_{H} 3.80 (1H, m, H-3) และ 4.29 (1H, m, H-9) และสัญญาณของ olefinic proton ที่ δ_{H} 5.55 (1H, dd, $J = 15.9, 0.9$ Hz, H-7) และ 5.72 (1H, dd, $J = 15.9, 6.0$ Hz, H-8) ^{13}C NMR, DEPT135 และ HMQC spectra แสดงสัญญาณของคาร์บอน 13 ตัว โดยพบสัญญาณ methine carbon ที่ δ_{C} 67.6 (C-3), 35.6 (C-5) และ 69.4 (C-9) สัญญาณของ olefinic carbon ที่ δ_{C} 134.0 (C-7) และ 135.6 (C-8) และสัญญาณของ quaternary carbon ที่ δ_{C} 40.6 (C-1) และ 78.2 (C-6) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้สรุปได้ว่า **MT-12** มีโครงสร้างหลักเป็น megastigmane นอกจากนี้ จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ CH_3 -10 (δ 1.24) กับ C-8 (δ 135.6) และ C-9 (δ 69.4) correlation ของ CH_3 -11 (δ 0.98) กับ C-1 (δ 40.6), C-2 (δ 46.1), C-6 (δ 78.2) และ C-12 (δ 25.3) correlation ของ CH_3 -13 (δ 0.81) กับ C-4 (δ 40.1), C-5 (δ 35.6) และ C-6 (δ 78.2) และ correlation ของ H-4 (δ 1.39, 1.67) กับ C-2 (δ 46.1), C-3 (δ 67.6), C-5 (δ 35.6), C-6 (δ 78.2) และ C-13 (δ 16.6) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของ **MT-12** กับ (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmen-3,6,9-triol พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่า optical rotation ระหว่าง **MT-12** กับ (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmen-3,6,9-triol, $[\alpha]_D^{25} -11.4^\circ$ (c 0.07, MeOH) [50] พบว่ามีเครื่องหมายเหมือนกัน อีกทั้งยังมีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้สรุปได้ว่า **MT-12** มีโครงสร้างเป็น (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*R*)-7-megastigmen-3,6,9-triol

MT-13; annoionol A

MT-13 เป็นของหนืดใสสีเหลือง มีค่า optical rotation เป็นลบ, $[\alpha]_D^{25} -2.5^\circ$ (c 0.058, CHCl_3) เช่นเดียวกับ **MT-12** จาก IR spectrum พบสัญญาณที่ 3380 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันของ hydroxyl group จาก mass spectrum มีค่า m/z 253.1828 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ทำให้ทราบว่า **MT-13** มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_3$ และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล (Ω) = 1 จากข้อมูล ^1H , ^{13}C NMR และค่า optical rotation พบว่า **MT-13** มีโครงสร้างหลักเป็น megastigmane เช่นเดียวกับ **MT-12** โดย ^1H NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methyl 4 หมู่เช่นเดียวกับ **MT-12** แตกต่างที่พบสัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ 2.77 (1H, dd, $J = 10.0, 9.0 \text{ Hz}$, H-4) และไม่พบสัญญาณของ olefinic proton ที่ตำแหน่ง C-7 และ C-8 สำหรับ ^{13}C NMR, DEPT135 และ HMQC spectra พบสัญญาณของคาร์บอน 13 ตัว โดยพบสัญญาณของ methine carbon ที่ δ_c 72.4 (C-3), 82.4 (C-4), 41.7 (C-5), 52.7 (C-6) และ 69.2 (C-9) และพบสัญญาณของ quaternary carbon เพียงตำแหน่งเดียวที่ δ_c 36.3 (C-1) นอกจากนี้ จาก HMBC spectrum พบ correlation ของ H-4 (δ 2.77) กับ C-3 (δ 72.4), C-5 (δ 41.7) และ C-13 (δ 16.9) และ correlation ของ H-6 (δ 0.70) กับ C-1 (δ 36.3), C-2 (δ 49.0), C-4 (δ 82.4), C-5 (δ 41.7), C-8 (δ 42.5), C-11 (δ 21.5) และ C-13 (δ 16.9) จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของ **MT-13** กับ annoionol A [51] พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้สรุปได้ว่า **MT-13** มีโครงสร้างเป็น annoionol A

การประเมินผลฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ α -glucosidase ของสารบริสุทธิ์ทั้ง 14 ตัวที่แยกได้จากใบนางแดงพบว่าสารในกลุ่ม polyacetylenic acids (MT-1 - MT-4) และสารในกลุ่ม steroid (สารผสม MT-14) มีฤทธิ์ดีกว่ายาที่ใช้รักษาโรคเบาหวานในปัจจุบัน (acarbose, IC_{50} เท่ากับ $1457 \pm 121.8 \mu M$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MT-1 และ MT-2 มีฤทธิ์ดีกว่าถึง 20 เท่าซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 59 ± 1.0 และ $53 \pm 1.7 \mu M$ ตามลำดับ สำหรับสารผสม MT-14 สารผสม MT-2 กับ MT-3 และสาร MT-4 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 95.48 ± 23.3 , 128 ± 2.5 และ $274 \pm 7.3 \mu M$ ตามลำดับ ในขณะที่สารในกลุ่ม lignans (MT-5 - MT-9) สารในกลุ่ม dihydrobenzofuran lignans (MT-10 และ MT-11) และสารในกลุ่ม megastigmans (MT-12 และ MT-13) มีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยกว่า 30% ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ดังนั้น MT-1 และ MT-2 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ทดแทน acarbose สำหรับการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานในอนาคต



รายการอ้างอิง

- [1] สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยฯ. (2016). สถิติเบาหวานทั่วโลก. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก <http://www.dmthai.org/statistic/1558>
- [2] วิกีพีเดีย สารานุกรมเสรี. (2016). เบาหวาน. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก <https://th.wikipedia.org/wiki/เบาหวาน>
- [3] ชมรมเพื่อเด็กและวัยรุ่นเบาหวาน. (2015). โรคเบาหวาน. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://www.thaidiabetes.com/บทความ-showdetail-22844-48590-โรคเบาหวาน_คนไทยเป็นถึง_3.5_ล้านคน_พบเด็กป่วยมากขึ้น.html
- [4] พญ. ธนพร รัตนสุวรรณ สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยฯ. (2015). เบาหวานชนิดที่ 1 คืออะไร. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://www.dmthai.org/news_and_knowledge/851
- [5] พญ. ธนพร รัตนสุวรรณ สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยฯ. (2015). เบาหวานชนิดที่ 2 คืออะไร. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://www.dmthai.org/news_and_knowledge/854
- [6] Mikael Häggström. (2009). **Main symptoms of diabetes**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Main_symptoms_of_diabetes.png
- [7] พญ. ธนพร รัตนสุวรรณ สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยฯ. (2013). รู้จักโรคเบาหวาน. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://www.dmthai.org/news_and_knowledge/88
- [8] Rungprom, W.; Siripornvisal, S.; Keawsawai, S.; Songtrai, M. α -Glucosidase inhibitors from medicinal plants for diabetes therapy. *Agricultural sci. J.* **2010**, 301-304.
- [9] สถานีข้อมูลสุขภาพและความงาม. (2015). เห็ดไมตาเกะ (Maitake). เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก [http://www.hibstation.com/articles/42212191/เห็ดไมตาเกะ-\(Maitake\)-มีประโยชน์ต่อสุขภาพ.html](http://www.hibstation.com/articles/42212191/เห็ดไมตาเกะ-(Maitake)-มีประโยชน์ต่อสุขภาพ.html)
- [10] ทิพย์พา. (2016). มะระจีนก. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก <http://www.chiangmainews.co.th/page/archives/451666>
- [11] สมุนไพรร. (2016). จักรนารายณ์ (แปะดำปึง). เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก <http://frynn.com/จักรนารายณ์/>
- [12] ผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทย. (2014). พญาวานร. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://bookmuey.com/?page=Pseuderatherum_Platifерum.html&admintool=no

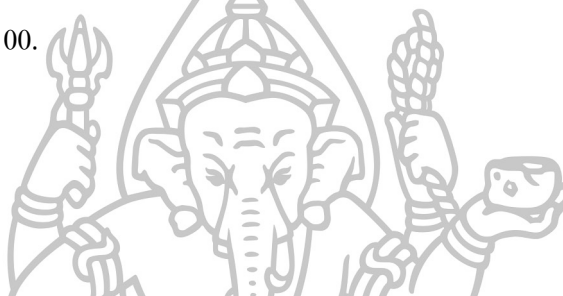
- [13] อโรคา 108. (2016). อินทนิลน้ำ. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<http://www.aroka108.com/อินทนิลน้ำ-สมุนไพรเพื่อสุขภาพ/>
- [14] Chaikaclub. (2016). กระดุมทองเลื้อย. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<http://www.chaikaclub.com/articles/42002118/กระดุมทองเลื้อย---Climbing-Wedelia,-Creeping-Daisy,-Singapore-Daisy.html>
- [15] นวัตกรรมใหม่สำหรับการสมานแผล. (2009). **Acarbose**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก http://www.biogenetech.co.th/EGF/heal_diabetes_today.html
- [16] สมพร คำชมภู; อารีย์ ทองภักดี. พรรณไม้วงศ์กระดังงาที่พบบริเวณอุทยานแห่งชาติทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี. *รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2550*, 231-240.
- [17] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. (2016). **วงศ์กระดังงา**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<https://th.wikipedia.org/wiki/วงศ์กระดังงา>
- [18] บ้านสวนพอเพียง. (2013). **พรหมขาว**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<http://www.bansuanporpeang.com/node/26390>
- [19] Wee Foong Ang. (2007). *Mitrephora teysmannii*. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<https://www.flickr.com/photos/weefoong/albums/with/72157629109336952>
- [20] Office of the Forest Herbarium. (2013). **บุหร่ง**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<http://www.dnp.go.th/botany/plantdetail.aspx?monthno=201304&smothname=April&slanguage=thai>
- [21] BlogGang. (2011). **ยางโอน**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
<http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=luckystar&month=01-2011&date=26&group=20&gblog=225>
- [22] ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์. (2011). **สะบันงาเครือ**. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก
http://www.qsbg.org/database/botanic_book%20full%20option/search_detail.asp?botanic_id=2307
- [23] กนกอร ระย้านิล. สารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในวงศ์กระดังงา. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ* 2555, 8, 96-111.
- [24] Panthama, N.; Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K. Polyacetylenes from the roots of *Polyalthia debilis*. *J. Nat. Prod.* 2010, 73(8), 1366-1369.

- [25] Hasrat, J. A.; De Bruyne, T.; De Backer, J.-P.; Vauquelin, G.; Vlietinck, A. J. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HT_{1A} receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. *J. Pharm. Pharmacol.* **1997**, *49(11)*, 1145-1149.
- [26] Li, C.; Lee, D.; Graf, T. N.; Phifer, S. S.; Nakanishi, Y.; Burgess, J. P.; Riswan, S.; Setyowati, F. M.; Saribi, A. M.; Soejarto, D. D.; Farnsworth, N. R.; Falkinham, III. J. O.; Kroll, D. J.; Kinghorn, A. D.; Wani, M. C.; Oberlies, N. H. A hexacyclic *ent*-trachylobane diterpenoid possessing an oxetane ring from *Mitrephora glabra*. *Org. Lett.* **2005**, *7(25)*, 5709-5712.
- [27] Wu, J.-H.; Wang, X.-H.; Yi, Y.-H.; Lee, K.-H. Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus *Desmos*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13(10)*, 1813-1815.
- [28] Weerasooriya, A. D.; Saunders, R. M. K. The genus *Mitrephora* (Annonaceae) in Cambodia, Laos, and Vietnam. *Syst. Bot.* **2005**, *2*, 248-262.
- [29] Rayanil, K.; Limpanawisut, S.; Tuntiwachwuttikul, P. *Ent*-pimarane and *ent*-trachylobane diterpenoids from *Mitrephora alba* and their cytotoxicity against three human cancer cell lines. *Phytochemistry* **2013**, *89*, 125-130.
- [30] Zgoda, J. R.; Freyer, A. J.; Killmer, L. B.; Porter, J. R. Antimicrobial diterpenes from the stem bark of *Mitrephora celebica*. *Fitoterapia* **2002**, *73*, 434-438.
- [31] Mueller, D.; Davis, R. A.; Duffy, S.; Avery, V. M.; Camp, D.; Quinn, R. J. Antimalarial activity of azafluorenone alkaloids from the Australian tree *Mitrephora diversifolia*. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1538-1540.
- [32] Trees of tropical Asia. (2016). *Mitrephora teysmannii*. เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม 2017. เข้าถึงได้จาก http://www.plantsofasia.com/index/mitrephora_teysmannii/0-905
- [33] Zgoda, J. R.; Freyer, A. J.; Killmer, L. B.; Porter, J. R. Polyacetylene carboxylic acids from *Mitrephora celebica*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1348-1349.
- [34] Supudompol, B.; Chaowasku, T.; Kingfang, K.; Burud, K.; Wongseripipatana, S.; Likhitwitayawuid, K. A new pimarane from *Mitrephora Tomentosa*. *Nat. prod. Res.* **2004**, *18*, 387-390.

- [35] Meng, D.-H.; Xu, Y.-P.; Chen, W.-L.; Zou, J.; Lou, L.-G.; Zhao, W.-M. Anti-tumour clerodane-type diterpenes from *Mitrephora thorelii*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2007**, *9*, 679-884.
- [36] Ge, F.; Tang, C.-P.; Ye, Y. Lignanamides and sesquiterpenoids from stems of *Mitrephora thorelii*. *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 1023-1030.
- [37] Li, C.; Lee, D.; Graf, T. N.; Phifer, S. S.; Nakanishi, Y.; Riswan, S.; Setyowati, F. M.; Saribi, A. M.; Soejarto, D. D.; Farnsworth, N. R.; Falkinham, J. O.; Kroll, D. J.; Kinghorn, A. D.; Wani, M. C.; Oberlies, N. H. Bioactive constituents of the stem bark of *Mitrephora glabra*. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1949-1953.
- [38] Moharam, B. A.; Jantan, I.; Jalil, J.; Shaari, K. Inhibitory effects of phylligenin and quebrachitol isolated from *Mitrephora vulpina* on platelet activating factor receptor binding and platelet aggregation. *Molecules* **2010**, *15*, 7840-7848.
- [39] Sanyacharekul, S.; Nantapap, S.; Sangrueng, K.; Nuntasaeen, N.; Pompimon, W.; Meepowpan, P. Antifungal of modified neolignans from *Mitrephora wangii* Hu. *Appl Biol Chem* **2016**, *59*, 385-389.
- [40] Lee, N. H. S.; Xu, Y.-J.; Goh, S. H. 5-Oxonoraporphines from *Mitrephora* cf. *maingayi*. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1158-1159.
- [41] Yu, R.; Li, B.-G.; Ye, Q.; Zhang, G.-L. A novel alkaloid from *Mitrephora maingayi*. *Nat. Prod. Res.* **2005**, *19*, 359-362.
- [42] Deeparlard, K.; Pengsuparp, T.; Moriyasu, M.; Kawanishi, K.; Suttisri, R. Chemical constituents of *Mitrephora maingayi*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2007**, *35*, 696-699.
- [43] Zhang, Q.; Di, Y.-T.; He, H.-P.; Li, S.-L.; Hao, X.-J. Mitregenin, a new annonaceous acetogenin from *Mitrephora maingayi*. *Nat. Prod. Commun.* **2010**, *5*, 1793-1794.
- [44] Gibbons, S.; Craven, L.; Dunlop, C.; Gray, A. I.; Hartley, T. G.; Waterman, P. G. The secondary metabolites of aff. *Samadera* SAC-2825: an Australian simaroubaceae with unusual chemistry. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1109-1114.
- [45] Messiano, G. B.; Vieira, L.; Machado, M. B.; Lopes, L. M. X.; De Bortoli, S. A.; Zukerman-Schpector, J. Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatalis*. *J. Agric. Food Chem* **2008**, *56*, 2655-2659.

- [46] Chang, S. W.; Kim, K. H.; Lee, I. K.; Choi, S. U.; Lee, K. R. Phytochemical constituents of *Geranium eriostemon*. *Nat. Prod. Sci.* **2009**, *15*(3), 151-155.
- [47] Jung, K. Y.; Kim, D. S.; Oh, S. R.; Park, S.-H.; Lee, I. S.; Lee, J. J.; Shin, D.-H.; Lee, H.-K. Magnone A and B, novel anti-PAF tetrahydrofuran lignans from the flower buds of *Magnolia fargesii*. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 808-811.
- [48] Piao, X.-L.; Jang, M. H.; Cui, J.; Piao, X. Lignans from the fruits of *Forsythia suspense*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1980-1984.
- [49] Yuen, M. S. M.; Xue, F.; Mak, T. C. W.; Wong, H. N. C. On the absolute structure of optically active neolignans containing a dihydrobenzo[*b*]furan skeleton. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 12429-12444.
- [50] Kawakami, S.; Matsunami K.; Otsuka, H.; Shinzato, T.; Takeda, Y. Crotonionosides A-G: megastigmane glycosides from leaves of *Croton cascarilloides* Rauschel. *Phytochemistry* **2011**, *72*, 147-153.
- [51] Matsushige, A.; Matsunami, K.; Kotake, Y.; Otsuka, H.; Ohta, S. Three new megastigmanes from the leaves of *Annona muricata*. *J Nat Med* **2012**, *66*, 284-291.
- [52] Worawalai, W.; Wacharasindhu, S.; Phuwapraisirisan, P. Synthesis of new *N*-substituted aminoquercitols from naturally available (+)-proto-quercitol and their α -glucosidase inhibitory activity. *Med Chem Comm* **2012**, *3*, 1466-1470.
- [53] El-Jaber, N.; Estévez-Braun, A.; Ravelo, A. G.; Muñoz-Muñoz, O.; Rodríguez-Afonso, A.; Murguía, J. R. Acetylenic acids from the aerial parts of *Nanodea muscosa*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 722-724.
- [54] Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K.; Lekphrom, R. Bioactive constituents of the roots of *Polyalthia cerasoides*. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1536-1538.
- [55] Cavin, A.; Potterat, O.; Wolfender, J.-L.; Hostettmann, K.; Dyatmyko, W. Use of on-flow LC/¹H NMR for the study of an antioxidant fraction from *Orophea enneandra* and isolation of a polyacetylene, lignans, and a tocopherol derivative. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1497-1501.
- [56] Ahmed, A. A.; Mahmoud, A. A.; Ali, E. T.; Tzakou, O.; Couladis, M.; Mabry, T. J.; Gáti, T.; Tóth, G. Two highly oxygenated eudesmanes and 10 lignans from *Achillea holosericea*. *Phytochemistry* **2002**, *59*, 851-856.

- [57] Latip, J.; Hartley, T. G.; Waterman, P. G. Lignans and coumarins metabolites from *Melicope hayesii*. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 107-110.
- [58] Pieters, L. A. C.; Berghe, D. A. V.; Vlietnck, A. J. A dihydrobenzofuran lignan from *Croton Erythrochilus*. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 384-349.
- [59] Alam, M. S.; Chopra, N.; Ail, M.; Niwa, M.; Oleanen and stigmasterol derivatives from *Ambroma augusta*. *Phytochemistry* **1996**, *41(4)*, 1197-1200.
- [60] Patra, A.; Jha, S.; Murthy, P. N.; Sharone, A. Isolation and characterization of stigmasterol-5-en-3B-ol (β -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila Spinosa* T. Anders. *Int. J. Pharma Sci. Res.* **2010**, *1*, 95-100.





ภาคผนวก



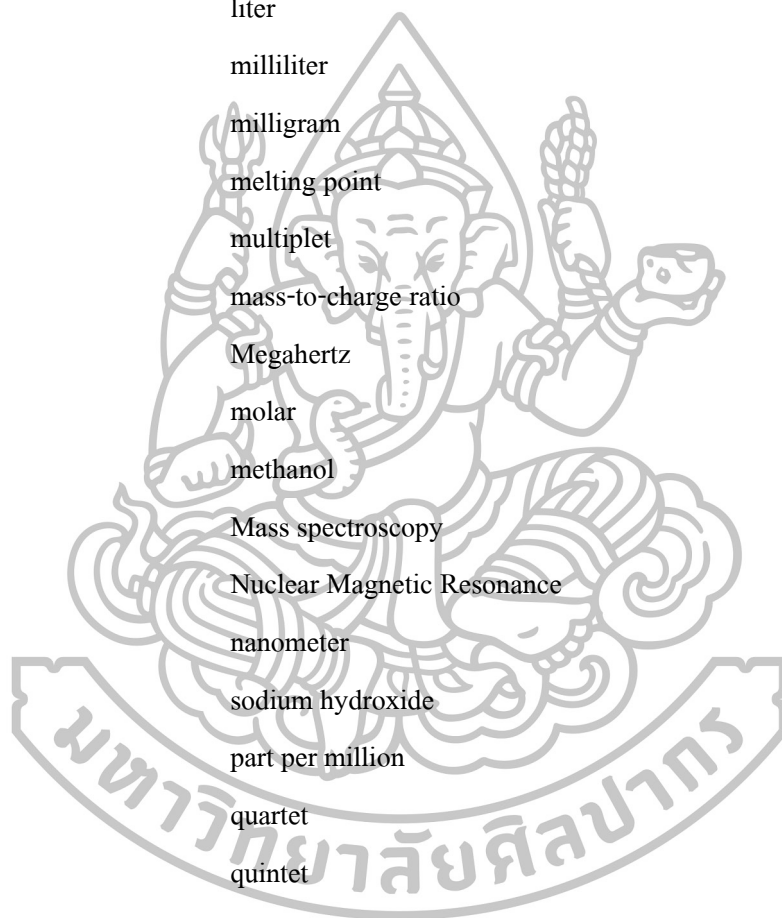
ภาคผนวก ก
ตัวช่อและสัญลักษณ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตัวย่อและสัญลักษณ์

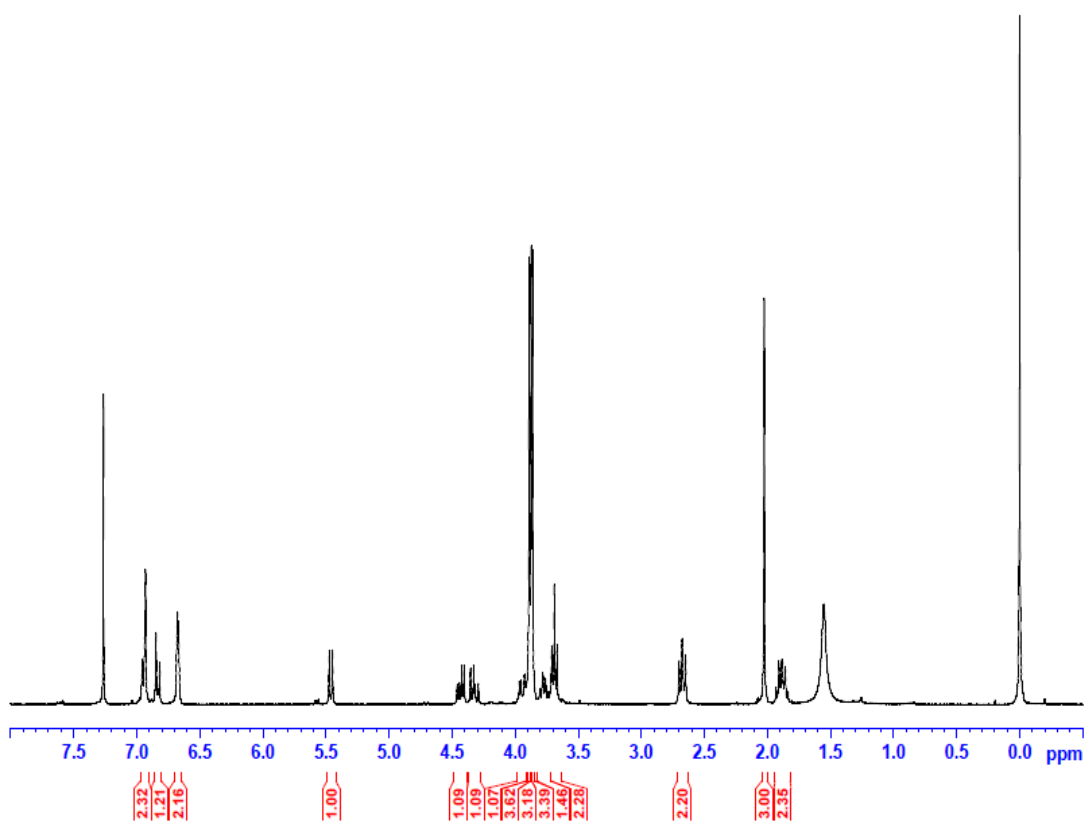
คำย่อ	คำเต็ม
α	alpha
$[\alpha]_D^{25}$	specific rotation at 25 °C
β	beta
br s	broad singlet
br d	broad doublet
BuOH	butanol
°C	degree celcius
cm ⁻¹	reciprocal centimeter (wave number)
CH ₃ CN	acetonitrile
CDCl ₃	deuteriochloroform
CD ₃ OD	deuteromethanol
CH ₂ Cl ₂	dichloromethane
CHCl ₃	chloroform
CeSO ₄	cerium sulfate
d	doublet
dd	doublet of doublet
ddd	doublet of doublet of doublet
dt	doublet of triplet
ddt	doublet of doublet of triplet
DEPT	Distortion Spectroscopy
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
g	gram
Hz	Hertz
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HCl	hydrochloric acid

คำย่อ	คำเต็ม
H ₂ SO ₄	sulfuric acid
IR	Infrared
<i>J</i>	coupling constant
δ	chemical shift relative to tetramethylsilane (TMS)
kg	kilogram
L	liter
mL	milliliter
mg	milligram
mp	melting point
m	multiplet
<i>m/z</i>	mass-to-charge ratio
MHz	Megahertz
M	molar
MeOH	methanol
MS	Mass spectroscopy
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
nm	nanometer
NaOH	sodium hydroxide
ppm	part per million
q	quartet
quint	quintet
s	singlet
t	triplet
td	triplet of doublet
μ g	microgram
μ M	micromolar
%	percent



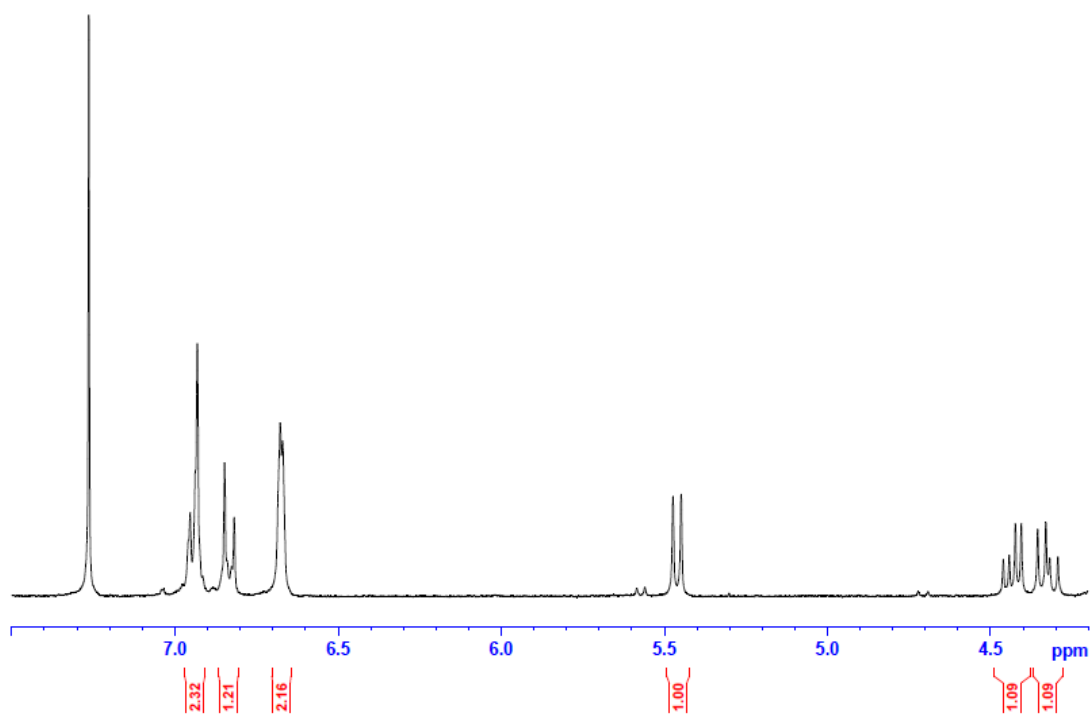
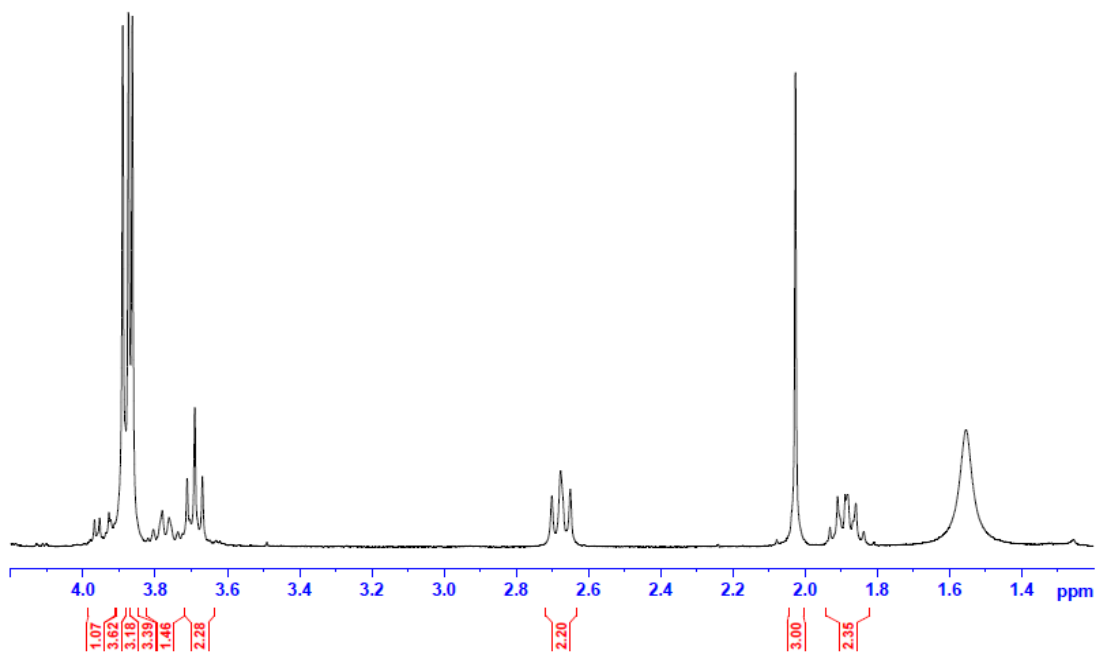


ภาคผนวก ข
Supporting Information

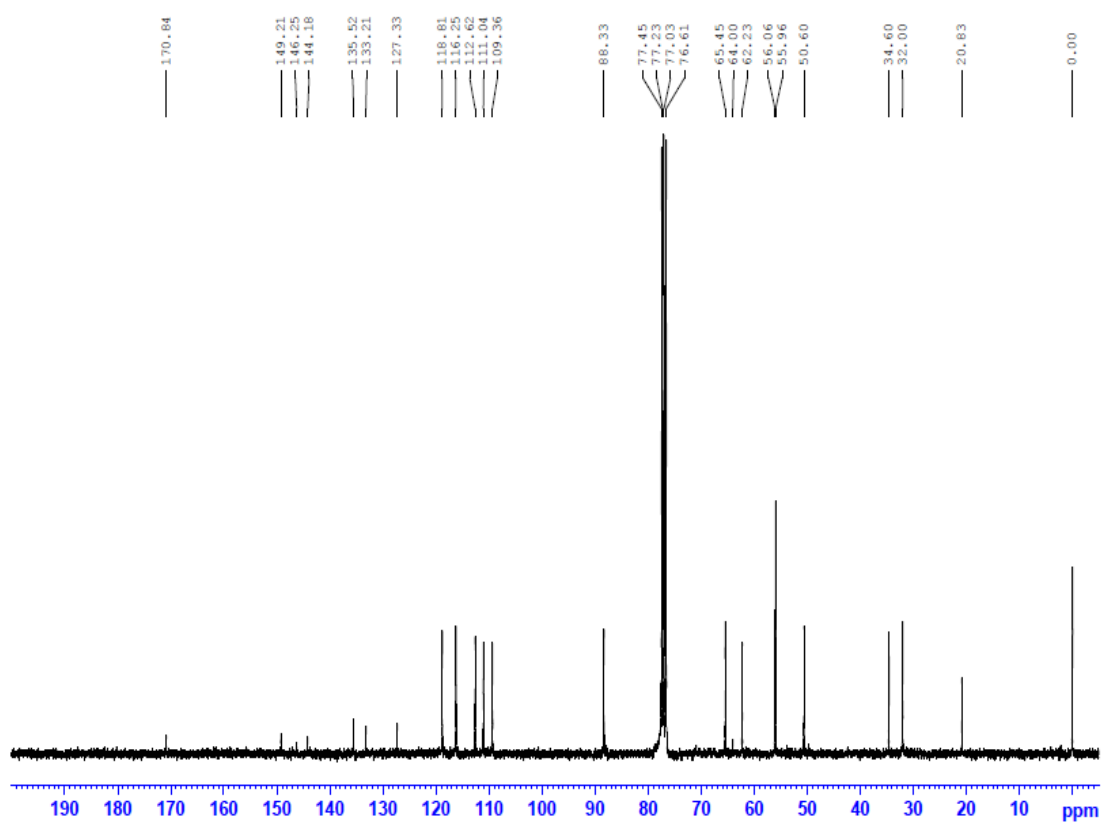


ภาพผนวก ข.2 ^1H NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)



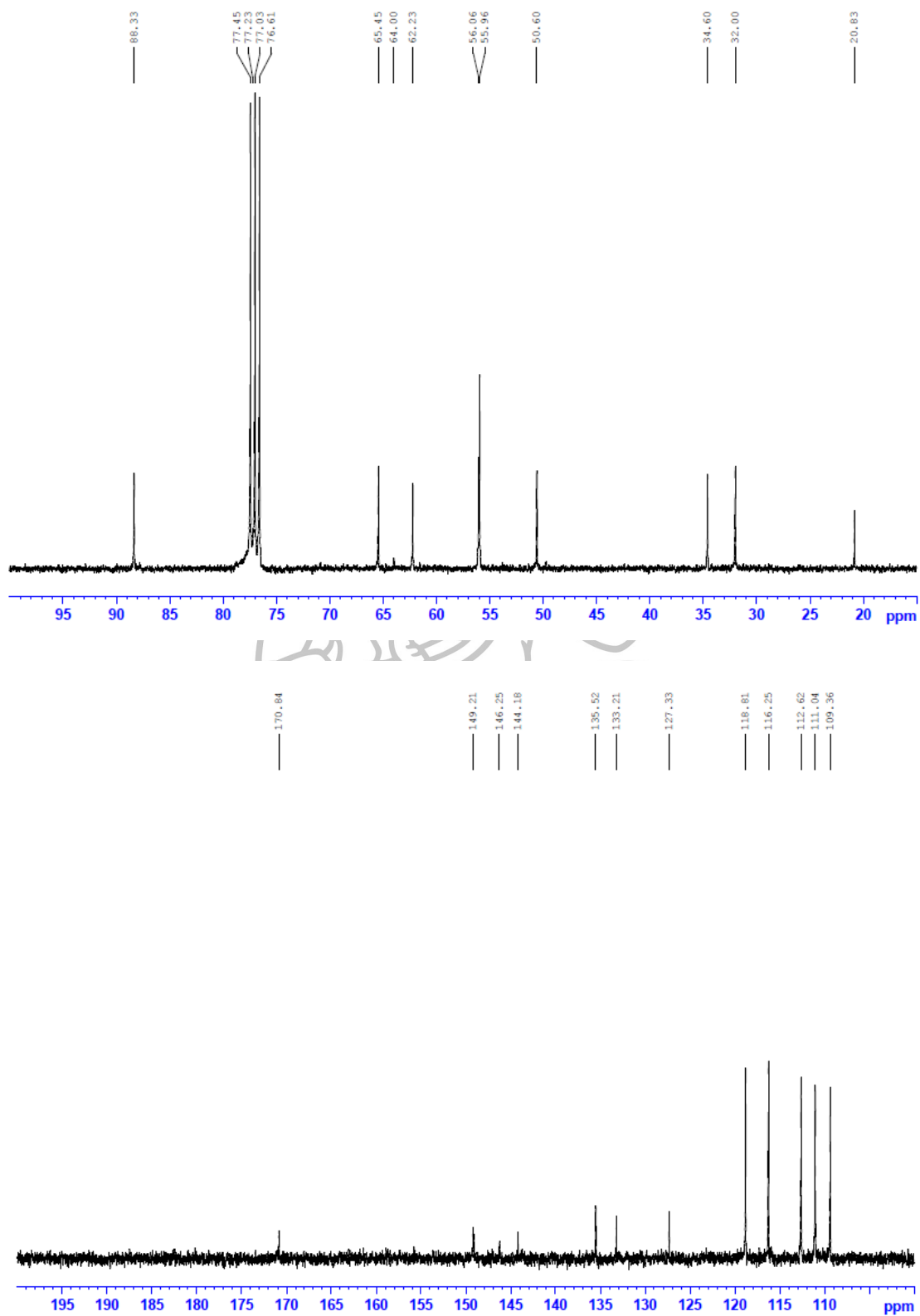


ภาพผนวก ข.3 ^1H NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

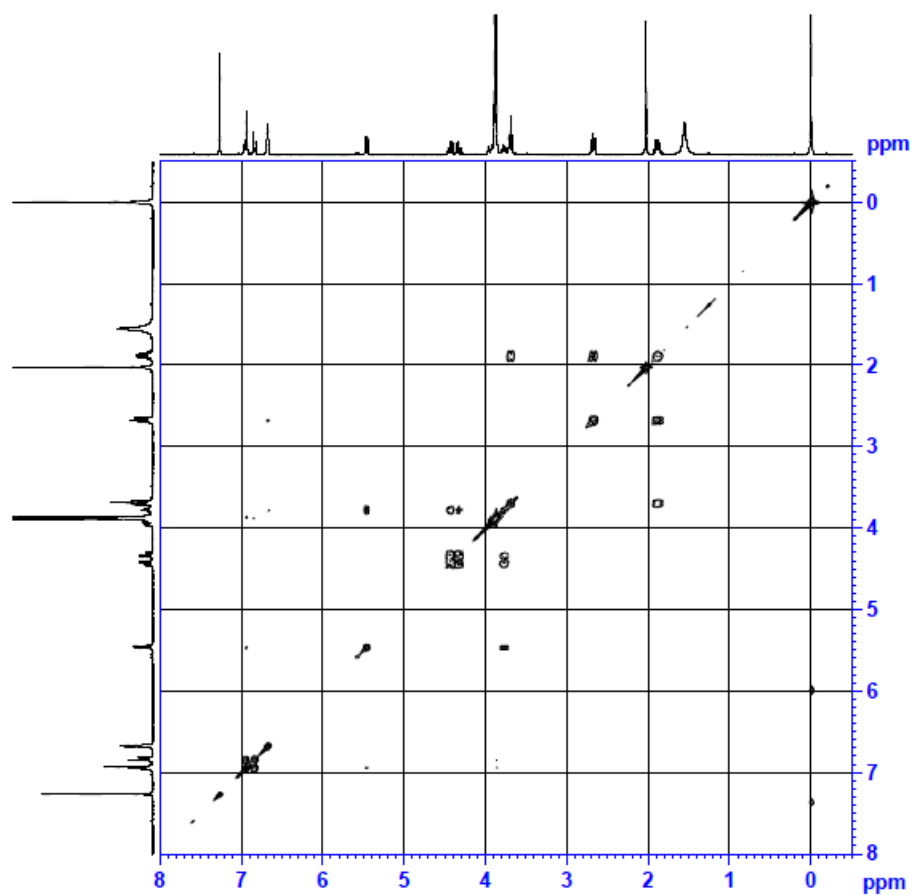


ภาพผนวก ข.2 ^{13}C NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)



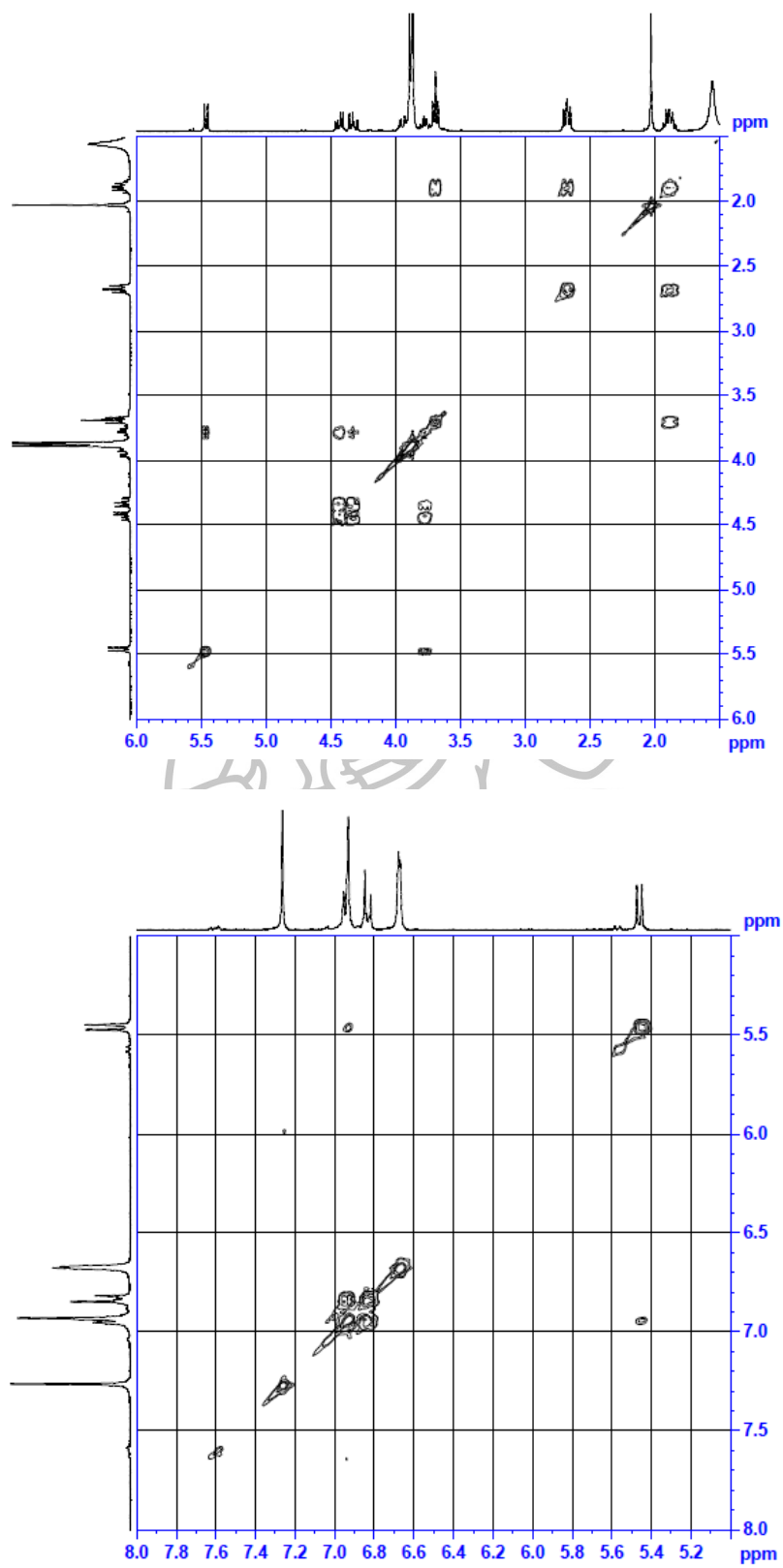


ภาพผนวก ข.2 ^{13}C NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

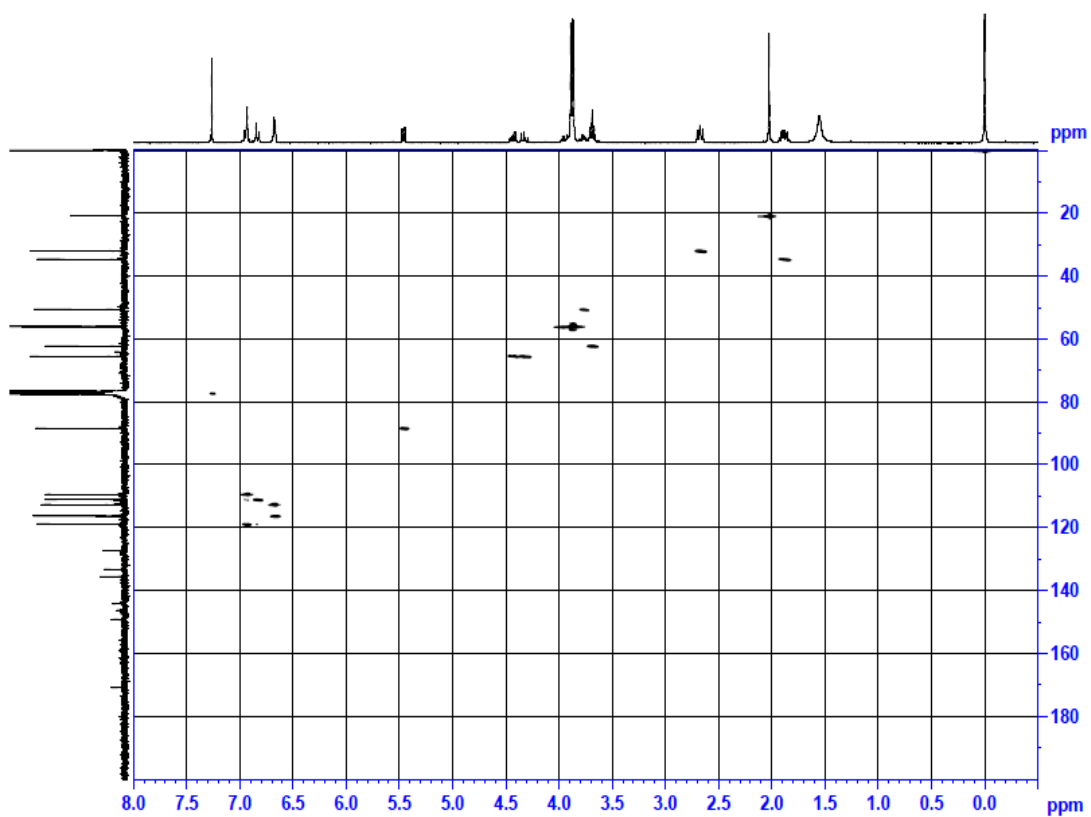


ภาพผนวก ข.3 COSY NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)



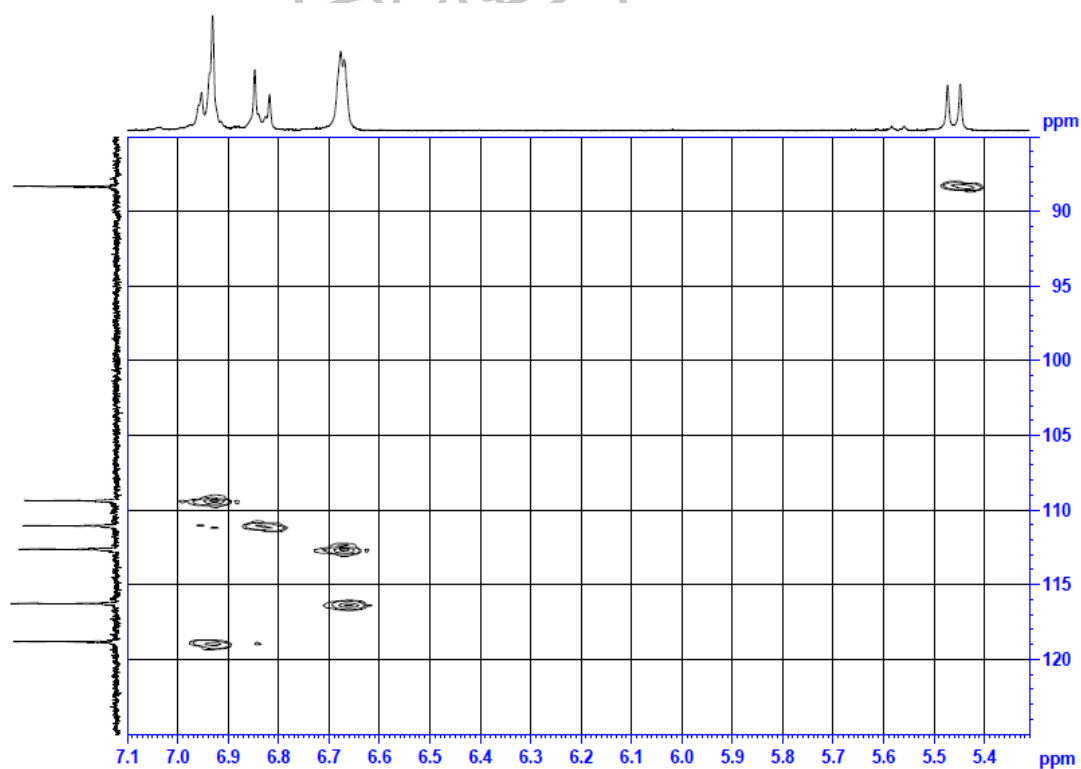
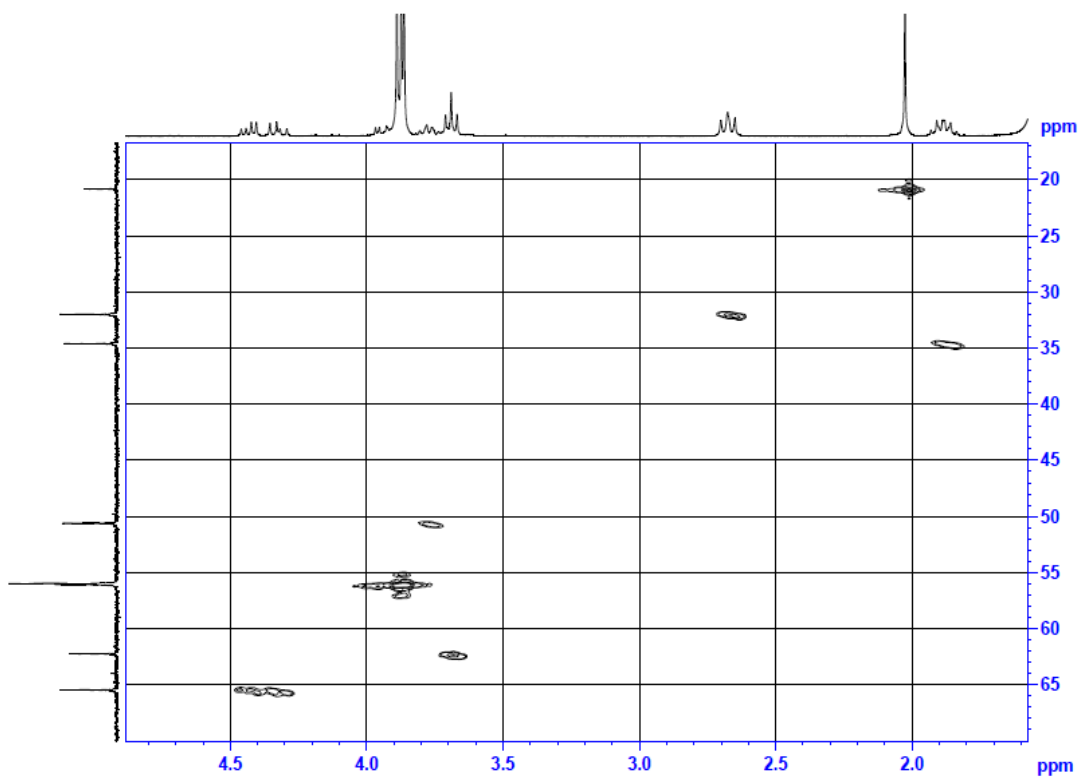


ภาพผนวก ข.3 COSY NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

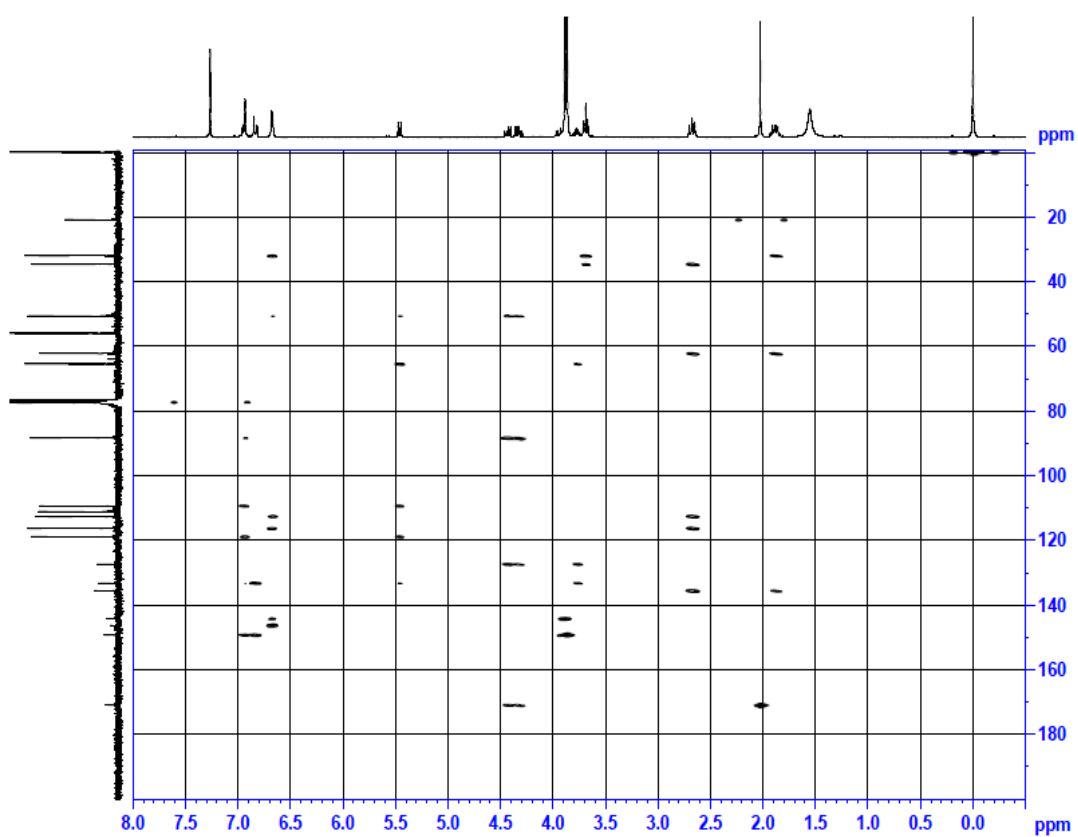


ภาพผนวก ๗.4 HMQC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

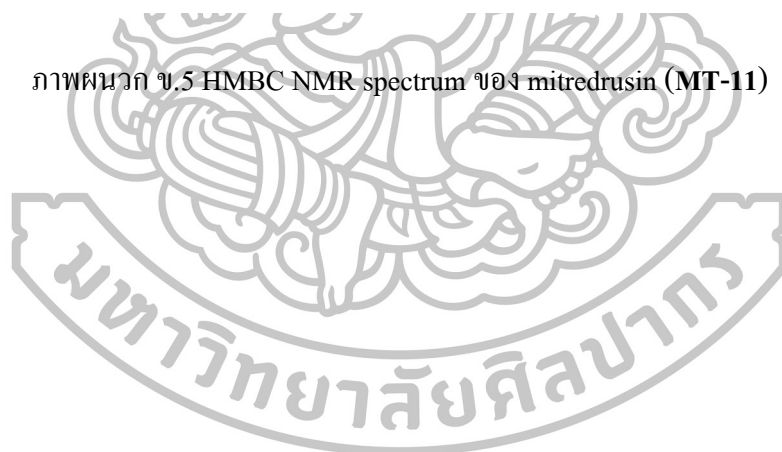


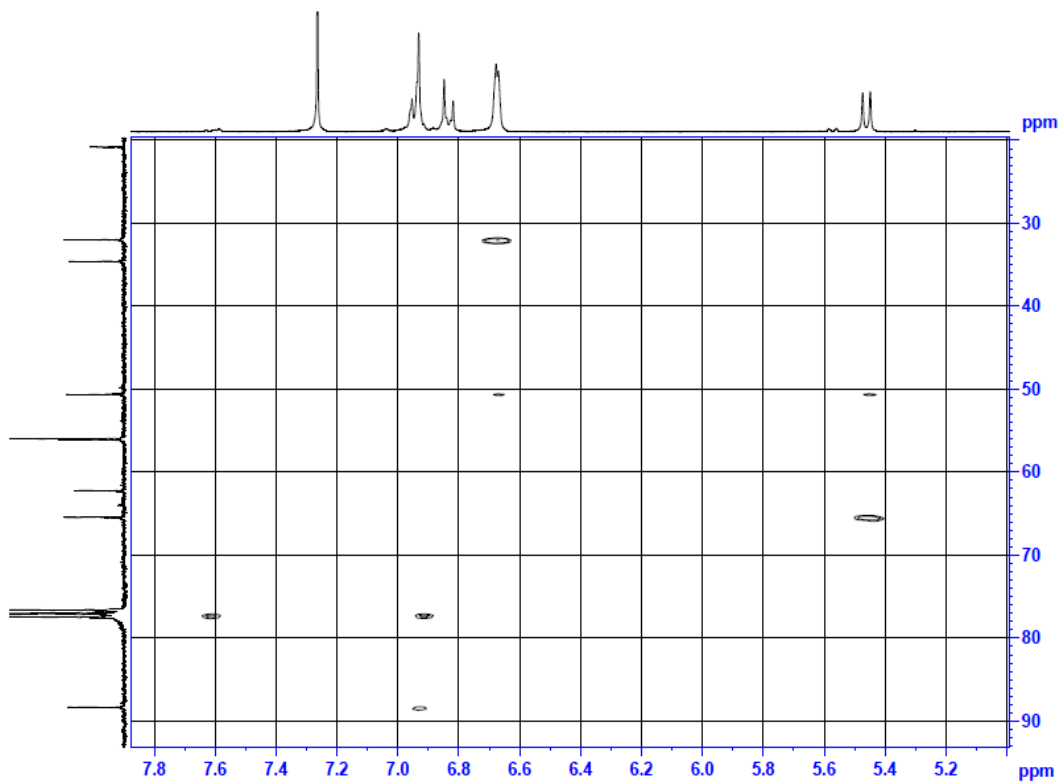
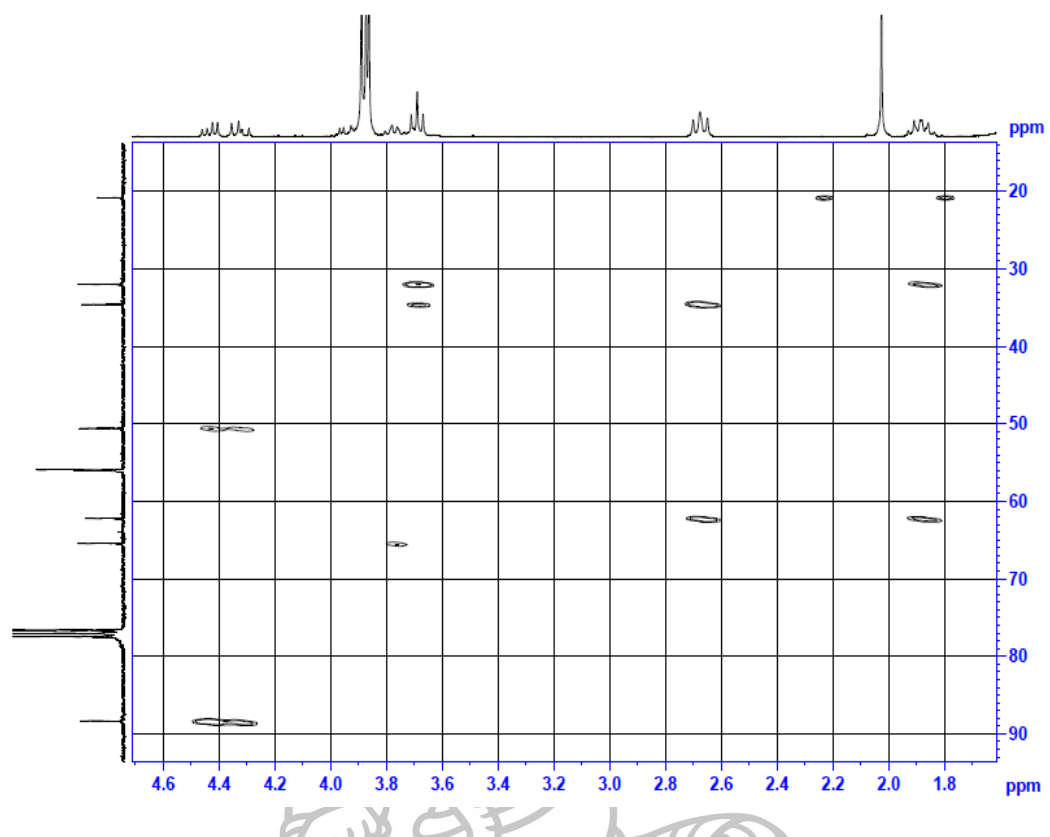


ภาพผนวก ๔.4 HMQC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

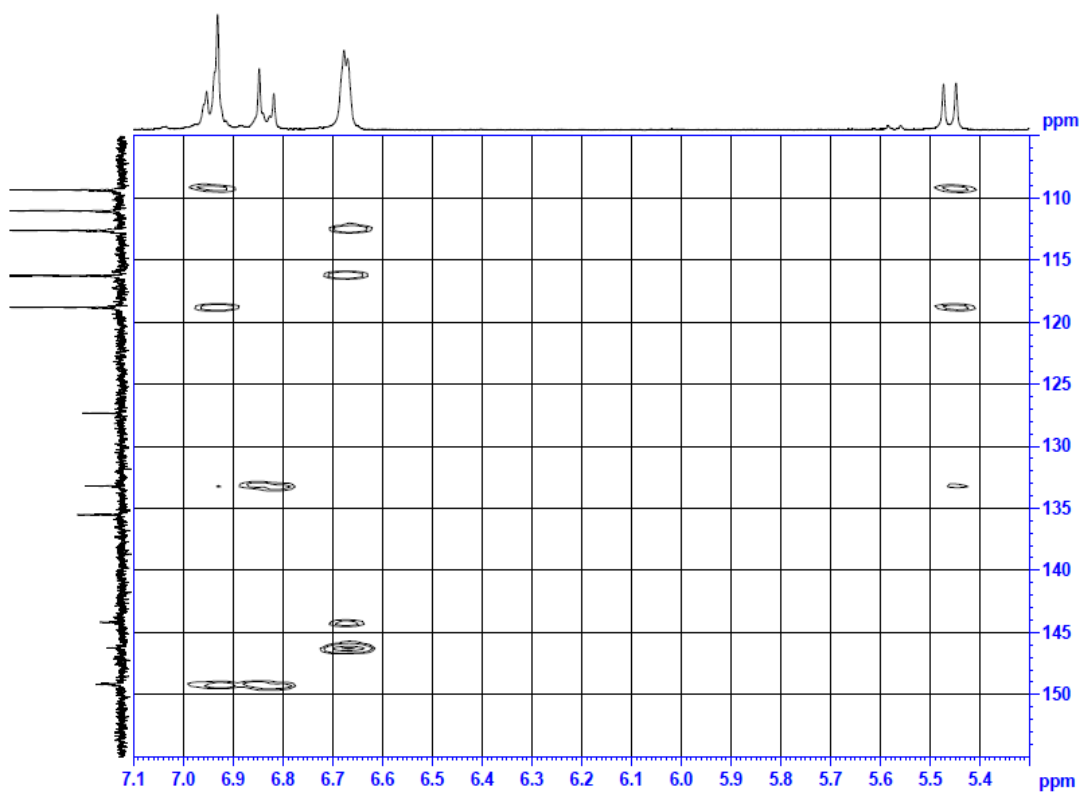
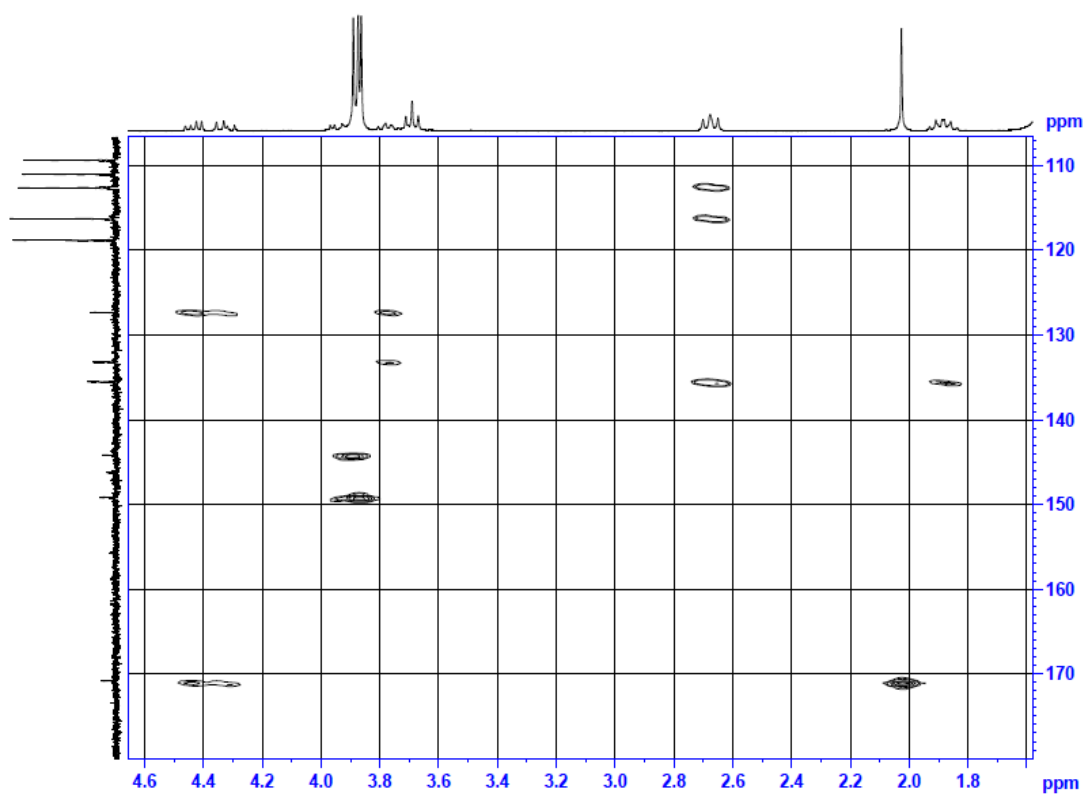


ภาพผนวก ๗.5 HMBC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)





ภาพผนวก ๕.5 HMBC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)



ภาพผนวก ๗.5 HMBC NMR spectrum ของ mitredrusin (MT-11)

ผลงานที่เผยแพร่

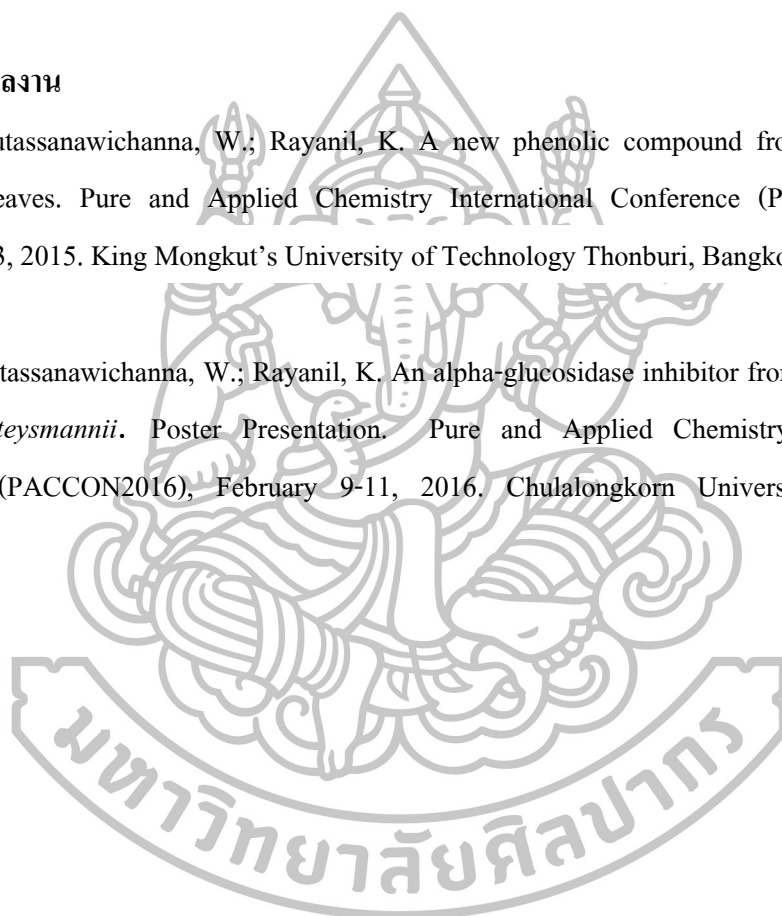
ผลงานตีพิมพ์

Rayanil, K.; Sutassanawichanna, W.; Suntornwat, O.; Tuntiwachwuttikul, P. A new dihydrobenzofuran lignan and potential α -glucosidase inhibitory activity of isolated compounds from *Mitrephora teysmannii*. *Nat. Prod. Res.* **2016**, in press.

การนำเสนอผลงาน

1. Sutassanawichanna, W.; Rayanil, K. A new phenolic compound from *Mitrephora teysmannii* leaves. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2015), January 21-23, 2015. King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand.

2. Sutassanawichanna, W.; Rayanil, K. An alpha-glucosidase inhibitor from the leaves of *Mitrephora teysmannii*. Poster Presentation. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2016), February 9-11, 2016. Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาววิริญญา สุทัศน์วิชานนะ
ที่อยู่	36/3 หมู่ 7 ตำบลบ่อพลับ อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2550	สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ. 2557	ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

