



การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากสไลด์ไตลายเหลืองและกล้วยไม้สกุลหวาย  
ลูกผสมของไทย



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากสไลด์ไตลายเหลืองและกล้วยไม้  
สกุลหวายลูกผสมของไทย



โดย  
นางสาวจินตนา จันทร์ท่า

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี  
มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2565  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES FROM *EUPHORBIA*  
*LACTEA* HAW AND THAI HYBRID *DENDROBIUMS*.



By  
MISS Jintana JANTHAM


A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (CHEMISTRY)  
Department of CHEMISTRY  
Silpakorn University  
Academic Year 2022  
Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากสลัดได  
ลายเหลืองและกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมของไทย  
โดย นางสาวจินตนา จันทำ  
สาขาวิชา เคมี แผนก ก แบบ ก 2 ปริญญาโทบริหารศึกษาศาสตร์  
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล

---

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรงค์ นิรมพาลี)  
พิจารณาเห็นชอบโดย  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัลลภ คันธิยงค์)  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล)  
..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ อธิพรชัย)



61317201 : เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : สลัดไดลายเหลือง, กล้วยไม้ไทยลูกผสมพันธุ์โจแดง

นางสาว จินตนา จันทา: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากสลัดไดลายเหลืองและกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมของไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร รัชยานิล

### บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากสลัดไดลายเหลืองด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี พบสาร 16 ตัวได้แก่ในกลุ่ม diterpene 4 ตัวคือ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1), *ent*-16S,17-dihydroxykuaran-3-one (EL-2), 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (EL-3) และ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL-4) พบสารในกลุ่ม pentacyclic triterpene 4 ตัวคือ friedelin (EL-4), friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-6), taraxerol (EL-7) และ friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-8) พบสารในกลุ่ม Cycloartane 3 ตัวคือ cycloart-23Z-ene-5 $\beta$ ,25-diol (EL-9) และ สารผสมระหว่าง 24R-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) และ 24S-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11) พบสารในกลุ่ม steroids 3 ตัวคือสารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol (EL-12) และ stigmasterol (EL-13) และ  $\beta$ -sitosterol glucoside (EL-14) และนอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม flavonoids 2 ตัวคือ afzelin (EL-15) และ quercitrin (EL-16) โดยสารทุกตัวได้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง 4 ชนิดได้แก่ HepG2, HN22, HCT116 และ HeLa พบว่าสารในกลุ่ม cycloartane คือ EL-9 และสารผสมระหว่าง EL-10 และ EL-11 มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหัวและลำคอและเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งในช่วง 90.7-92.3% ที่ความเข้มข้น 100  $\mu$ M

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate จากลำต้นกล้วยไม้ไทยลูกผสมพันธุ์โจแดงโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี พบสารประกอบในกลุ่ม phenanthrene 3 ชนิดคือ nudol (DS-1), confurasin (DS-2) และ lusianthidin (DS-3) และยังพบสารในกลุ่ม bibenzyls 2 ชนิดคือ gigantol (DS-4) และ tristin (DS-5) สารทุกตัวถูกนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบพบว่า confurasin และ gigantol มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด 5  $\mu$ g/mL โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 79.42% และ 71.57% ตามลำดับและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ Raw 264.7



61317201 : Major (CHEMISTRY)

Keyword : *Euphorbia lactea* Haw, cancer cell lines, *Dendrobiums*, anti-inflammatory activity

MISS Jintana JANTHAM : Chemical constituents and biological activities from *Euphorbia lactea* Haw and Thai hybrid *Dendrobiums*. Thesis advisor : Assistant Professor Kanok-on Rayanil, Ph.D.

#### Abstract

Chemical investigation of the aerial part of *Euphorbia lactea* Haw resulted in the isolation of sixteen known compounds including four diterpenes; *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1), *ent*-16S,17-dihydroxykuanan-3-one (EL-2), 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (EL-3) and 3,12-di-*O*-acetyl-8-*O*-tigloylingol (EL-4) four pentacyclic triterpenes; friedelin (EL-4), friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-6), taraxerol (EL-7) and friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-8), three cycloartanes; cycloart-23Z-ene-5 $\beta$ ,25-diol (EL-9) and a mixture of 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) and 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11), three steroids; a mixture of  $\beta$ -sitosterol (EL-12) and stigmasterol (EL-13),  $\beta$ -sitosterol glucoside (EL-14) and two flavonoids; afzelin (EL-15) and quercitrin (EL-16). All compounds were evaluated for their anticancer activity against four human cancer cell lines HepG2, HN22, HCT116 and HeLa. Among these, EL-9 and a mixture of EL-10 and EL-11 showed good cytotoxicity against HN22 and HeLa cell line with %inhibition values in the range of 90.7-92.3% at 100  $\mu$ M.

Chemical investigation of the aerial part of Thai hybrid *Dendrobiums* resulted in the isolation of three phenanthrenes; nudol (DS-1), confurasin (DS-2) and lusianthidin (DS-3) and two bibenzyls; gigantol (DS-4) and tristin (DS-5). All of the isolates were tested for anti-inflammatory effects by inhibiting nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophage cells. Confurasin and gigantol show strong exhibit anti-inflammatory activity with 79.42% and 71.57% inhibition, respectively, at 5  $\mu$ g/mL.





## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. กนกอร ระย้านิล อาจารย์ที่ปรึกษา  
งานวิจัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำตลอดเวลาที่ทำงานวิจัย รวมทั้งช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง  
ต่างๆของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. พัลลภ คັນธิยงค์ และ ผศ. ดร. อนันต์ อธิพร กรรมการสอบ  
วิทยานิพนธ์ ที่กรุณาช่วยตรวจแก้ไข ให้แนวคิดและคำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ปุรินทร์ เจริญสุขใส และ ผศ. ดร. ปวริศ วงศ์ประยูร ที่ช่วยกรุณาให้  
คำแนะนำในด้านการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร

ขอขอบคุณ ดร. ยุภา ปู่แดงอ่อน และ คุณวิริญญา สุกทัศน์ะวิชานะ ที่ช่วยเหลือในการทำ lab  
และการเรียนรวมถึงให้กำลังใจในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณ ดร. กุลจิรา บัวบาน, นายสิทธิศักดิ์ เอ็กเชื้อ, นายธนวัฒน์ กว้างสวาสดี, นางสาวนิ  
สาชล ศรีวิสัย, นางสาวรุ่งทิภา ศรีสุพรรณ, นางสาวลลิตา ศิวประภา อาจารย์และเพื่อนๆที่อยู่ต่าง  
มหาวิทยาลัย ที่คอยช่วยเหลือในเรื่องการเรียน การทำ lab ตลอดคอยช่วยแก้ไขและช่วยอ่านเล่ม  
Thesis และยังให้คำแนะนำในการสอบและกำลังใจในเรื่องต่างๆ

ขอบพระคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก  
ความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมีตลอดงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยแจ้ง  
ข่าวสารต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัยตลอดปริญญาโท

สุดท้ายนี้ คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเพื่อตอบแทนพระคุณ  
ครอบครัว เพื่อนๆ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาว จินตนา จันทร์ทำ

## สารบัญ

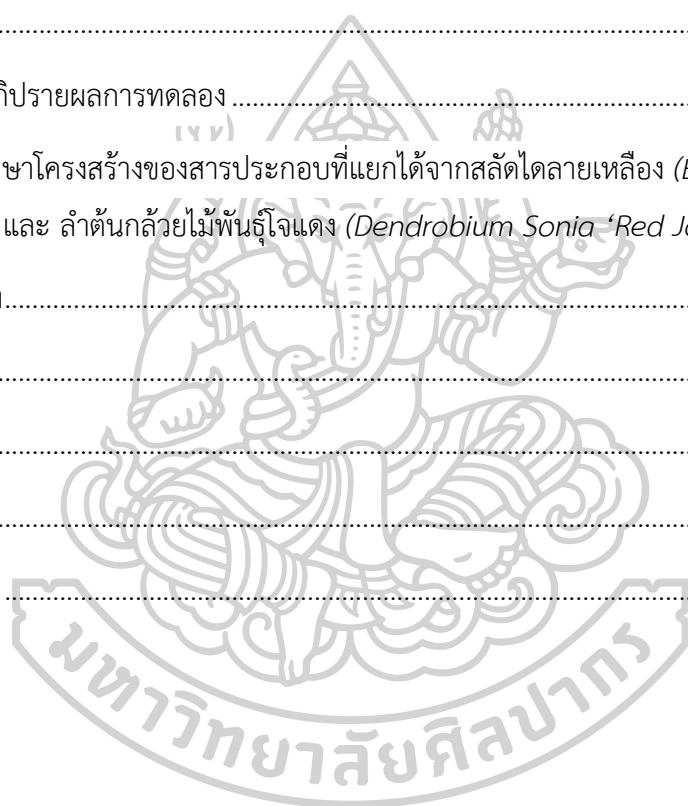
	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ฌ
สารบัญตาราง.....	๗
สารบัญรูปภาพ.....	จ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 มะเร็ง (cancer).....	1
1.2 สาเหตุของการเกิดมะเร็ง (carcinogenesis).....	2
1.3 การอักเสบ (inflammation).....	3
1.4 แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน พืชในวงศ์ Euphorbiaceae.....	4
1.5 รายละเอียดต้นไม้มั้ที่ทำการศึกษ.....	6
1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
1.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับสล็อตไคลายเหลือง.....	7
1.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับพืชในวงศ์ Euphorbiaceae.....	8
1.7 แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน พืชในวงศ์ Orchidaceae.....	19
1.8 รายละเอียดต้นไม้มั้ที่ทำการศึกษ.....	21
1.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับพืชในวงศ์ Orchidaceae.....	21
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	30
บทที่ 2.....	31

การทดลอง.....	31
2.1 เครื่องมือและสารเคมี.....	31
2.2 พืชที่ใช้ในงานวิจัย.....	31
2.3 การศึกษาเบื้องต้น (Preliminary study).....	32
2.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นสลอดไต่ลายเหลือง.....	33
2.4.1 การเตรียมส่วนสกัดหยาบลำต้นสลอดไต่ลายเหลือง (Crude-EL).....	33
2.4.2 การสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบสลอดไต่ลายเหลือง.....	34
2.5 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น Hexane ของต้นสลอดไต่ลายเหลือง โดยใช้เทคนิค Flash column chromatography.....	35
2.5.1 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด hexane ของลำต้นสลอดไต่ลายเหลือง.....	37
2.5.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-33 โดยใช้เทคนิค Column chromatography.....	37
2.5.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-30 โดยใช้เทคนิค Column chromatography.....	38
2.5.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-26 โดยใช้เทคนิค Column chromatography.....	40
2.5.5 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-26-11 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography.....	42
2.5.6 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารในกลุ่ม triterpene โดยการตกผลึกซ้ำ (recrystallization).....	43
2.5.7 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-22 โดยใช้เทคนิค Column chromatography.....	44
2.5.8 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-21 โดยใช้เทคนิค Column chromatography.....	45
2.5.9 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-17 โดยใช้เทคนิค การตกผลึก (Recrystallization).....	46

2.5.10 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-34 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	46
2.5.11 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-34-1 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	47
2.6 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น ethyl acetate ของต้นสลัดไต่ลายเหลือง โดยใช้เทคนิค Flash column chromatography .....	48
2.6.1 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นสลัดไต่ลายเหลือง .....	49
2.6.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-20 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	49
2.6.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-20-4 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography.....	50
2.6.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-21 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	51
2.7 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง ( <i>Dendrobium Sonia 'Red Jo'</i> ).....	82
2.7.1 การเตรียมส่วนสกัดหยาบลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (Crude-DS) .....	82
2.7.2 การสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง .....	83
2.7.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง ( <i>Dendrobium Sonia 'Red Jo'</i> ).....	84
2.8 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง .....	87
2.8.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-10 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	88
2.8.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-9 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography.....	89
2.8.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-13 โดยใช้เทคนิค preparative chromatography .....	90

2.8.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-12 โดยใช้เทคนิค Column chromatography .....	91
2.8.5 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-24 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography.....	92
บทที่ 3 .....	99
ผลการทดลอง .....	99
3.1 Structure Elucidation .....	99
3.1.1 <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1) .....	99
3.1.2 <i>ent</i> -16S,17-diacetylkuan-3-one (EL-2Ac).....	101
3.1.3 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (EL-3).....	103
3.1.4 3,12-di- <i>O</i> -acetyl-8- <i>O</i> -tigloylingol (EL-4).....	105
3.1.5 Friedelin (EL-5).....	106
3.1.6 Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6).....	108
3.1.7 Friedelan-3 $\beta$ -ol (EL- 7).....	110
3.1.8 Taraxerol (EL-8) .....	112
3.1.9 Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9).....	114
3.10 24 <i>R</i> -cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24 <i>S</i> -cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11) .....	116
3.11 สารผสมระหว่าง $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol (EL-12 และ EL-13).....	118
3.12 $\beta$ -sitosterol glucoside acetate (EL-14Ac) .....	119
3.13 Afzelin acetate (EL-15Ac).....	120
3.14 Quercitrin acetate (EL-16Ac).....	122
3.15 Nudol (DS-1).....	123
3.16 Confurasin (DS-2).....	124

3.17 Lusianthidin (DS-3).....	125
3.18 Gigantol (DS-4).....	126
3.19 Tristin (DS-5).....	127
3.2 การทดสอบความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็ง (Cancer cell) ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จาก สลัดไคลายเหลือง .....	128
3.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง.....	132
บทที่ 4 .....	135
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง .....	135
4.1 การศึกษาโครงสร้างของสารประกอบที่แยกได้จากสลัดไคลายเหลือง ( <i>Euphorbia lactea</i> <i>Haw</i> ) และ ลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง ( <i>Dendrobium Sonia 'Red Jo'</i> ) .....	135
รายการอ้างอิง.....	137
ภาคผนวก ก .....	141
ภาคผนวก ข .....	146
ภาคผนวก ค .....	252
ประวัติผู้เขียน .....	266



## สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงน้ำหนักและลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดลำดับส่วนของต้นสลัดไต่ลายเหลือง .....	35
ตารางที่ 2.2 แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H.....	35
ตารางที่ 2.3 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-33.....	38
ตารางที่ 2.4 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-30.....	39
ตารางที่ 2.5 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26.....	40
ตารางที่ 2.6 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26-10.....	41
ตารางที่ 2.7 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26-11.....	42
ตารางที่ 2.8 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-22.....	44
ตารางที่ 2.9 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-21.....	45
ตารางที่ 2.10 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-34.....	46
ตารางที่ 2.11 แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-E.....	48
ตารางที่ 2.12 แสดงลักษณะและน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-20.....	50
ตารางที่ 2.13 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-E-20-4.....	50
ตารางที่ 2.14 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-21.....	52
ตารางที่ 2.15 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-1.....	56
ตารางที่ 2.16 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-2Ac.....	57
ตารางที่ 2.17 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-3.....	58
ตารางที่ 2.18 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-4.....	60
ตารางที่ 2.19 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-5.....	62
ตารางที่ 2.20 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-6.....	64

ตารางที่ 2.21 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-7 .....	66
ตารางที่ 2.22 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-8 .....	68
ตารางที่ 2.23 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-9 .....	70
ตารางที่ 2.24 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ (EL-10 และ EL-11).....	72
ตารางที่ 2.25 ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR spectra ของ (EL-12-EL-13).....	74
ตารางที่ 2.26 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-14Ac .....	76
ตารางที่ 2.27 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-15Ac .....	78
ตารางที่ 2.28 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ EL-16Ac .....	80
ตารางที่ 2.29 แสดงน้ำหนักและลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดลำดับส่วนของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจ แดง .....	84
ตารางที่ 2.30 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E.....	84
ตารางที่ 2.31 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-10.....	88
ตารางที่ 2.32 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-9 .....	89
ตารางที่ 2.33 แสดง fraction DS-E-13-1 ถึง DS-E-13-4 ที่ได้จากการแยก fraction DS-E-13 .....	90
ตารางที่ 2.34 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-12.....	91
ตารางที่ 2.35 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-24.....	92
ตารางที่ 2.36 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ DS-1 .....	94
ตารางที่ 2.37 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ DS-2 .....	95
ตารางที่ 2.38 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ DS-3 .....	96
ตารางที่ 2.39 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ DS-4 .....	97
ตารางที่ 2.40 ข้อมูล $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ และ HMBC NMR spectra ของ DS-5 .....	98



## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Euphorbiaceae .....	5
รูปที่ 2 รูปแสดงลำต้นของสลัดไต่ลายเหลือง.....	6
รูปที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากจากน้ำยางของ <i>Euphorbia lactea</i> Haw .....	7
รูปที่ 4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำยางจากส่วนสกัด EtOAc ใน <i>Euphorbia lactea</i> .....	8
รูปที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol ของ <i>Euphorbia guyoniana</i> .....	9
รูปที่ 6 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate ของ <i>Euphorbia hylonoma</i> .....	10
รูปที่ 7 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol ของ <i>Euphorbia aphylla</i> .....	11
รูปที่ 8 แสดงองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม diterpenes ของพืชในวงศ์ Euphorbiaceae .....	12
รูปที่ 9 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด acetone ของ <i>Euphorbia soongarica</i> .....	13
รูปที่ 10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol ของ <i>Euphorbia schimperi</i> .....	14
รูปที่ 11 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนเหนือดิน ของ <i>Euphorbia pulcherrima</i> .....	16
รูปที่ 12 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol ของ <i>Euphorbia stracheyi</i> Boiss .....	17
รูปที่ 13 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วน methanol จากลำต้นของ <i>Euphorbia royleana</i> ...19	
รูปที่ 14 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Orchidaceae.....	20
รูปที่ 15 รูปแสดงกล้วยไม้สกุลหลายสกุลผสมพันธุ์สีแดง .....	21
รูปที่ 16 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด MeOH-CHCl <sub>3</sub> (1:1) จาก <i>Maxillaria densa</i> .....	22
รูปที่ 17 แสดงองค์ประกอบทางเคมีจากลำต้นของ <i>Dendrobium moniliforme</i> .....	22
รูปที่ 18 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วน methanol จาก <i>Dendrobium huoshanense</i> .....	23
รูปที่ 19 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก <i>Dendrobium nobile</i> .....	24
รูปที่ 20 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จาก <i>Dendrobium findlayanum</i> .26	
รูปที่ 21 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จาก <i>Dendrobium findlayanum</i> .27	

รูปที่ 22 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก <i>Dendrobium nobile</i> .....	28
รูปที่ 23 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก <i>Dendrobium findlayanum</i> ....	29
รูปที่ 24 แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมส่วนสกัดหยาบของส่วนเหนือดินสไลด์ไต่ลายเหลือง (Crude extract).....	33
รูปที่ 25 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction).....	34
รูปที่ 26 แผนผังการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด hexane ของลำต้นสไลด์ไต่ลายเหลือง .....	37
รูปที่ 27 แผนผังการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นสไลด์ไต่ลายเหลือง ....	49
รูปที่ 28 แสดงโครงสร้างสารที่แยกได้จากสไลด์ไต่ลายเหลือง .....	55
รูปที่ 29 แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมส่วนสกัดหยาบของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง (Crude-DS)..	82
รูปที่ 30 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction).....	83
รูปที่ 31 แผนผังแสดงการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง .....	87
รูปที่ 32 แสดงโครงสร้างสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง .....	93
รูปที่ 33 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-1 .....	99
รูปที่ 34 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-2 .....	101
รูปที่ 35 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-3 .....	103
รูปที่ 36 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-4 .....	105
รูปที่ 37 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-5 .....	106
รูปที่ 38 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-6 .....	108
รูปที่ 39 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-7 .....	110
รูปที่ 40 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-8 .....	112
รูปที่ 41 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-9 .....	114
รูปที่ 42 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-10-EL-11 .....	116

รูปที่ 43 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-12-EL-13 .....	118
รูปที่ 44 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-14....	119
รูปที่ 45 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-15Ac	120
รูปที่ 46 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-16Ac	122
รูปที่ 47 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-1.....	123
รูปที่ 48 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-2.....	124
รูปที่ 49 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-3.....	125
รูปที่ 50 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-4.....	126
รูปที่ 51 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-5.....	127



## บทที่ 1

### บทนำ

**1.1 มะเร็ง (cancer)** เกิดจากความผิดปกติที่สารพันธุกรรมของเซลล์ร่างกายทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวและเจริญเติบโตมากกว่าปกติ ส่งผลให้เกิดเป็นก้อนเนื้อผิดปกติที่ไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตได้ และลุกลามไปยังอวัยวะข้างเคียง โดยชนิดของมะเร็งจะสามารถแบ่งได้ดังนี้ มะเร็งที่เกิดจากเยื่อบุผิว (carcinomas) มะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (sarcomas) มะเร็งที่เกิดจากเม็ดเลือดในไขกระดูก (leukemias) มะเร็งที่เกิดจากระบบภูมิคุ้มกัน (lymphomas) และมะเร็งที่เกิดจากระบบสมองและไขสันหลัง (central nervous system) โดย 90% ของมะเร็งที่พบจะเป็นชนิด carcinomas

**ระยะของมะเร็งแบ่งเป็น 4 ระยะ** ระยะที่ 1 tumor เป็นระยะที่มีเนื้อเยื่อขนาดเล็กเกิดขึ้นใหม่ภายในอวัยวะ ระยะที่ 2 benign เป็นระยะที่เนื้อเยื่อมีขนาดใหญ่ขึ้นแต่ยังไม่ลุกลาม ระยะที่ 3 malignant เป็นระยะที่เนื้อเยื่อขนาดใหญ่ลุกลามไปยังอวัยวะข้างเคียง และระยะที่ 4 metastases เป็นระยะที่เนื้อเยื่อขนาดใหญ่จนลุกลามทั่วอวัยวะข้างเคียงและลุกลามเข้าไปยังระบบน้ำเหลืองทำให้แพร่ไปทั่วร่างกาย

#### ลักษณะของเซลล์มะเร็ง

1. เซลล์มะเร็งสามารถเจริญเติบโตและมีการแบ่งตัวได้โดยอาศัยยีนและโปรตีนในการควบคุมการเข้าสู่ระยะต่างๆของการแบ่งตัว แต่เซลล์มะเร็งมีความผิดปกติของยีนทำให้กลไกการควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติและไม่สามารถควบคุมได้

2. เซลล์มะเร็งจะเกิดจากการแบ่งตัวของเซลล์ที่ผิดปกติเพียงเซลล์เดียว โดยต้นกำเนิดพบว่าทุกเซลล์มะเร็งเกิดความผิดปกติในการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมคู่ที่ 9 และ 22 เรียกว่า Philadelphia chromosome

3. มีการกลายพันธุ์ซ้ำที่เซลล์เดิมอย่างน้อย 5 ครั้งจึงเกิดเป็นเซลล์มะเร็ง และมีอัตราการอยู่รอดสูงเนื่องจากมีอัตราการแบ่งตัวเร็ว เพิ่มจำนวนสูง และสามารถสร้างเส้นเลือดใหม่เพื่อนำอาหารและออกซิเจนมาเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเติบโต (angiogenesis)

4. การตายของเซลล์ เซลล์ปกติจะมีกระบวนการบังคับให้เซลล์ที่ผิดปกติตายไป (apoptosis) เพื่อควบคุมเจริญเติบโตของเซลล์ แต่ถ้าเซลล์แบ่งตัวผิดปกติมากขึ้นแต่กระบวนการ apoptosis เท่าเดิมจะส่งผลให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็ง หรือหากกระบวนการ apoptosis ลดลงจะส่งผลให้เซลล์ที่ผิดปกติไม่ถูกกำจัดและทำให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็ง

**1.2 สาเหตุของการเกิดมะเร็ง (carcinogenesis) การกลายพันธุ์หรือการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมเป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็ง โดยสาเหตุของการกลายพันธุ์มีดังนี้**

1. การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองโดยตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองไม่ได้มีสาเหตุจากสิ่งที่มากระตุ้น โดยอาจเกิดจากปัจจัยดังนี้ การจำลอง DNA ผิดพลาด (DNA replication machinery) การแทนที่เบสผิดพลาดทำให้การจับคู่เบสผิดปกติ (base-pair substitution) การเพิ่มหรือขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ทำให้เกิดการเคลื่อนของรหัสพันธุกรรม และเกิดการแปลรหัสเปลี่ยนแปลงไป (Frameshift mutation) และการเกิด Deamination หรือการหลุดออกของหมู่อะมิโนของเบสทำให้เบสเปลี่ยนชนิดและเกิดการจับคู่ที่ผิดพลาด

2. การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำ (induce mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดจากสารเคมีหรือรังสี หรือสิ่งที่มากระตุ้น เรียกว่าสิ่งก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) ทำให้ DNA หรือ RNA ของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

2.1 รังสี (radiation) ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา และรังสีคอสมิก ทำให้เกิดไอออนไนเซชันมีผลต่อการแตกหักของโครโมโซม ส่วนรังสีอัลตราไวโอเล็ต จะมีผลโดยตรงกับเบสทำให้เบสเปลี่ยนแปลงและขัดขวางกระบวนการจำลอง DNA ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์

2.2 สารเคมี (chemical) ได้แก่ สารที่มีโครงสร้างคล้ายเบส เช่น 5-bromouracil และ 2-aminopurine มีผลต่อการจับคู่เบสเปลี่ยนแปลงไป หรือสารที่มีผลต่อการเปลี่ยนโครงสร้างและคุณสมบัติของเบสที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้เกิดการกลายพันธุ์

**การแพร่กระจายของมะเร็ง** การแพร่กระจายจะเกิดในระยะ malignant และ metastases โดยจะเริ่มจากเนื้อเยื่อมีขนาดใหญ่ลุกลามไปยังอวัยวะข้างเคียงและ ไปสู่อวัยวะที่อยู่ห่างไกลทั่วร่างกาย โดยมีวิธีดังนี้

1. ทางหลอดเลือด เมื่อเซลล์มะเร็งมีขนาดใหญ่จนไม่สามารถเจริญเติบโตที่อวัยวะเดิมจะมีการหลุดจากก้อนเนื้อเยื่อเข้าสู่หลอดเลือดทางหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ไปยังอวัยวะอื่นไกลเคียงที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะกับการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ หรืออาจจะอยู่ตามกระแสเลือด

2. ทางหลอดน้ำเหลือง เมื่อเซลล์มะเร็งลุกลามไปยังท่อน้ำเหลือง และต่อมน้ำเหลืองเมื่อต่อมน้ำเหลืองไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ เซลล์มะเร็งจะเจริญเติบโต และกระจายผ่านท่อน้ำเหลืองไปยังอวัยวะอื่นทั่วร่างกาย

3. Implantation เป็นการกระจายรอยโรคเดิมไปสู่อวัยวะอื่นโดยการฝังตัวของเซลล์หรือโดยการใช้เครื่องมือนำไป แต่การแพร่กระจายโดยวิธีนี้พบได้น้อย

4. Seeding of body cavities เซลล์มะเร็งลุกลามไปตามช่องว่างภายในร่างกาย เช่น ช่องเยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มหัวใจ เยื่อบุช่องท้อง เป็นต้น

**สถิติการเกิดมะเร็ง** จากการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการรักษาพบว่า จำนวนผู้ป่วยมะเร็งเพิ่มขึ้นทุกระดับอายุ ทุกอาชีพ โรคมะเร็งที่พบมากในเพศชาย อวัยวะที่พบว่าเป็นมะเร็งมากตามลำดับ คือ ลำไส้ใหญ่ ท่อน้ำดี ปอด ต่อมลูกหมาก และ หลอดอาหาร เป็นต้น โรคมะเร็งที่พบมากในเพศหญิง อวัยวะที่พบว่าเป็นมะเร็งมากตามลำดับ คือ เต้านม ลำไส้ใหญ่ ปากมดลูก ปอด และท่อน้ำดี เป็นต้น (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2563)

**1.3 การอักเสบ (inflammation)** เป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อการติดเชื้อจุลินทรีย์ และสิ่งที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย อาการที่ปรากฏของการอักเสบ คือ ปวด บวม แดง และร้อน (Mequanint et al., 2011) กระบวนการอักเสบประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทำให้เลือดมาเลี้ยงเพิ่มขึ้น มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวมายังเนื้อเยื่อที่ถูกกระตุ้นเพิ่มมากขึ้นเพื่อกำจัดสิ่งเร้าที่ทำให้เกิดการอักเสบเหล่านี้ (Kumar et al., 2007) ในขณะที่มีปฏิกิริยาการอักเสบเกิดขึ้น เซลล์แมคโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งจะหลั่งสารสื่อกลางในการอักเสบชนิดต่างๆ เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) และพรอสตาแกลนดิน E2 (prostaglandins E2) และไซโตไคน์ (cytokine) เป็นต้น (Van der Vliet, 2000; Jung et al., 2009) เพื่อช่วยในการกำจัดสิ่งรุกราน อย่างไรก็ตามการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบต่างๆ ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้มีการทำลายเนื้อเยื่อ ปัจจุบันพบว่าการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบที่มากเกินไปหรือหลังเป็นระยะเวลาต่อเนื่องเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิวิทยาของโรคต่างๆ เช่น โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) ภาวะช็อคจากการติดเชื้อ (Septic shock) โรคเบาหวาน และโรคอักเสบต่างๆ (Van der Vliet, 2000; Coleman, 2001; Guzik et al., 2003) การยับยั้งการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบ เช่น ไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน E2 ที่มากเกินไปนี้เป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันและรักษาโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้ ในปัจจุบันมีความพยายามในการค้นหาโมเลกุลสารจากธรรมชาติที่สามารถลดการ หลั่งสารสื่อกลางการอักเสบเหล่านี้ เพื่อนำไปสู่การผลิทยาต้านการอักเสบที่มีประสิทธิภาพสูง แต่มีผลข้างเคียงที่ต่ำพืชเป็นแหล่งสำคัญของสารประกอบฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอักเสบ (Huang et al., 2006) และมีรายงานว่าพืชสมุนไพรเป็น

แหล่งสำคัญของสารต้านอักเสบจากธรรมชาติ เช่น *Sanguisorba officinalis*, *Lophatherum gracile*, *Scutellaria baicalensis* และ *Crotoxylum formosum* เป็นต้น (Zhang et al., 2011; Diaz et al., 2012; Ravipati et al., 2012 และ Rodanant et al., 2012)

Nitric oxide (NO) จัดเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นสารสื่อกลางการอักเสบ NO สังเคราะห์ขึ้นจาก L-arginine และโมเลกุลของ ออกซิเจนโดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) โดย NO ที่สร้างขึ้นจากกระบวนการ ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพของการอักเสบ เช่น การขยายตัวของหลอดเลือดเมื่อเกิดการบาดเจ็บ ภาวะหัวใจขาดเลือด เกิดการอักเสบแบบ ฉับพลัน และเรื้อรัง (Libby, 2007; Zedler and Faist, 2006) โดย NO ที่เพิ่มมากกว่าปกติจะทำปฏิกิริยากับ peroxide anion radical ( $O_2^{\cdot -}$ ) เกิดเป็น peroxynitrite ( $ONOO^{\cdot -}$ ) ที่มีฤทธิ์รุนแรงฆ่าจุลินทรีย์ได้และยังสามารถ ทำลายเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บทำให้เกิดการอักเสบเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการยับยั้ง NO เป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ

#### 1.4 แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน พืชในวงศ์ Euphorbiaceae

พืชและพืชสมุนไพรเป็นแหล่งของสารเคมี (phytochemicals) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ตัวอย่างขององค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากพืชได้แก่ สเตียรอยด์ (Steroids) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และรักษาโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงได้ (Jeremy M. et al., 2002) <sup>1</sup> สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Beer et al., 2002; Pourmorad et al., 2006) ต้านอักเสบ (Sharma et al., 2011) <sup>2</sup> [2] [2] และเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Ghasemzadeh et al., 2010) <sup>3</sup> แอลคาลอยด์ (alkaloids) มีฤทธิ์ต้านอักเสบ และเป็นพืชต่อเซลล์มะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรจึงมีความสำคัญไม่เพียงแต่ให้ประโยชน์ด้านการรักษาโรคเท่านั้น แต่ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชและพืชสมุนไพรชนิดนั้นๆ ด้วย <sup>[4]</sup>

พืชในวงศ์ Euphorbiaceae ที่รู้จักกันดีได้แก่ สลัดได สลัดไต่ลายเหลือง สบู่ดำ คริสต์มาส มันทึบ และยางพารา ได้ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในยาแผนโบราณ จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าได้มีการรายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีของพืชในวงศ์ Euphorbiaceae ซึ่งพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิดเช่น triterpenoids, diterpenoids, flavonoids และ alkaloids เป็นต้น และนอกจากนี้ยังพบว่ามีการรายงานองค์ประกอบทางเคมีโดยแยกได้จากน้ำยางของพืชในวงศ์นี้พบสาร friedalan-3 $\alpha$ -ol, taraxerol, taraxerone, euphorbium, euphorbol, caoutchouc, huratoxin, tinyatoxin,  $\alpha$ -euphorol,  $\beta$ -amyrin, cycloartenol และ euphol เป็น

ต้น (Gewali, M.B., et al., 1990) และจากการสืบค้นข้อมูลมีการรายงานว่าสาร phorbol ที่พบใน  
น้ำยางเป็นสารร่วมเร่งทำให้เกิดมะเร็ง (Co-carcinogenic activity) และเป็นตัวช่วยรักษามะเร็งใน  
เม็ดเลือดได้ (Mizuo, M., et al., 1989)<sup>[5]</sup>



สลัดได



มันสำปะหลัง

รูปที่ 1 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Euphorbiaceae





### 1.5 รายละเอียดต้นไม้มั้ที่ทำการศึกษ

สลัดไ้ดลยเล็อง ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euphorbia lactea* Haw. เป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae มีถิ่นกำเนิดในเอเชียเขตร้อน จัดเป็นไม้มึนต้นขนาดเล็กจำพวกเดียวกับตะบองเพชร มีความสูงของต้นประมาณ 3-6 เมตร ลำต้นแตกกิ่งก้านมาก ตามต้นและกิ่งเป็นรูปสามเหลี่ยมและสี่เหลี่ยมอวบน้ำ เว้าคอดต่อกัน ผิวเรียบ ขอบสันหรือตามแนวเหลี่ยมเป็นหยักและมีหนามคู่อเล็กแหลม 1 คู่ ทุกส่วนของต้นมียางสีขาวขุ่น ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด และวิธีการปักชำกิ่ง พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย มักขึ้นตามภูเขาที่มีหินปูน หรือที่แห้งแล้งบนก้อนหิน หรือบนภูเขา (Shi et al., 2008) <sup>6</sup> มีรายงานสรรพคุณต่างๆที่ใช้ในตำรายาโบราณของ สลัดไ้ดลยเล็อง ซึ่งสรรพคุณจะแตกต่างกันตามส่วนต่างๆที่นำมาใช้ได้แก่ น้ำยางมีความเป็นพิษสูงมาก และระคายเคืองมาก มีฤทธิ์ทำให้อาเจียน ถ้าถูกผิวหนังจะอักเสบ คัน ผองแดงและไหม้ ถ้าเข้าตาอาจจะทำให้ตาบอดได้ต้องนำมาผ่านการลดพิษก่อนด้วยการต้มหรือตุ๋น จนกระทั่งน้ำยางรวมกันเป็นก้อนจึงนำมาใช้เป็นยาได้ ซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนัง ใช้ทาเพื่อรักษาหูด กลากเกลื้อน นอกจากนี้ยังออกฤทธิ์แก้หัด มีฤทธิ์เป็นยาถ่ายอย่างแรง รักษาโรคริดสีดวงลำไส้ ริดสีดวงทวารหนัก ยาทำให้อาเจียน ยาถ่ายน้ำเหลือง ถ่ายเสมหะ และโลหิตเป็นพิษ แก่นมีสรรพคุณเป็นยาแก้ลม ส่วนรากและต้นมีสรรพคุณเป็นยาแก้ แก้ว หอบหืด เป็นต้น <sup>[7]</sup>

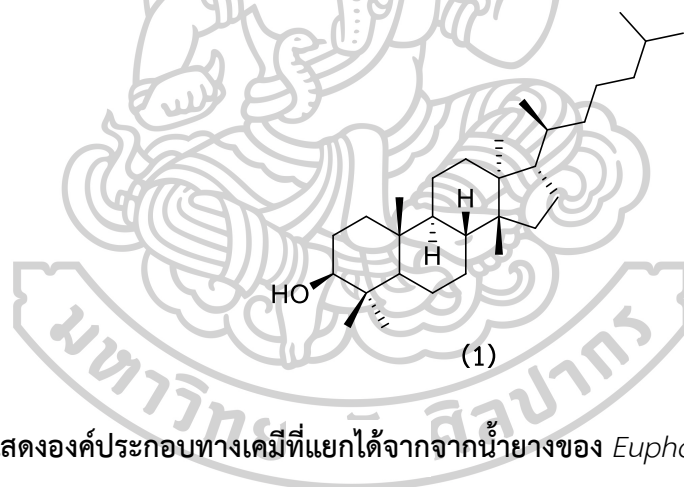


รูปที่ 2 รูปแสดงลำต้นของสลัดไ้ดลยเล็อง

## 1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับสกัดไตรเตออยด์

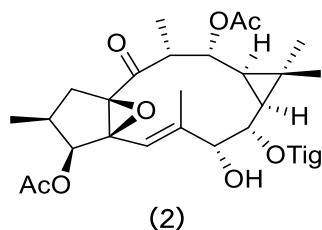
ปี ค.ศ. 2010 A. Fernandez-Arche และคณะได้แยก tirucallol (1) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม triterpene จากน้ำยางของ *Euphorbia lactea* Haw. โดยใช้ preparative column และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างของสารโดยใช้เทคนิค spectroscopic data (NMR และ CG-MS) พบสารประกอบในกลุ่ม triterpene 60% ซึ่งคิดเป็น tirucallol 0.3% ในน้ำยาง และกลุ่มผู้วิจัยก็ได้นำ tirucallol ไปทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยทดสอบในหูของหนู ซึ่งใช้ 12-Otetradecanoylphorbol-acetate (TPA) เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการอักเสบผลปรากฏว่า tirucallol มีการยับยั้งการต้านการอักเสบที่ใกล้เคียงกับยา Indomethacin และนอกจากนี้ก็ได้นำ tirucallol ไปทดสอบกับ เซลล์ปกติ (cell alone) โดยใช้ tirucallol ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100  $\mu\text{M}$  ผลปรากฏว่าที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  มีความสามารถในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ได้ดีที่สุดและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ แต่ไม่สามารถยับยั้งการผลิต PEG<sub>2</sub> ได้<sup>[8]</sup>



รูปที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากจากน้ำยางของ *Euphorbia lactea* Haw

ในปีเดียวกัน Liliana Avila และคณะได้แยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำยางจากส่วนสกัด ethyl acetate ใน *Euphorbia lactea* โดยพบองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม diterpene 1 ชนิดคือ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (2) จากนั้นกลุ่มของผู้วิจัยได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบ diterpene ชนิดนี้ พบว่ามีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของเชื้อ HIV-1 ที่ฝังตัวอยู่แสดงตัวออกมาทำงานได้ดีมาก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาผู้ติดเชื้อ HIV-1 ควบคู่ไปกับวิธี Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) นอกจากนี้ผู้วิจัยยังศึกษาผลของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (2) ใน Jurkat-LAT-GFP cells เพื่อศึกษาการทำงานของ Protein kinase C (PKC) pathway โดยพบว่า 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (2) เกิดผ่าน

pathway ดังกล่าว เนื่องจากเมื่อทำการทดลองเทียบกับ PKC inhibitor G<sub>0</sub>6976 และ G<sub>0</sub>66850 ซึ่งเป็น positive control สามารถทำให้การกระตุ้นการแสดงออกของเชื้อเพิ่มขึ้น<sup>[9]</sup>

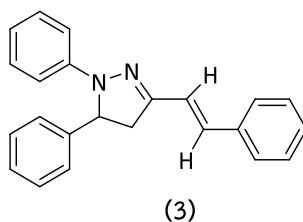


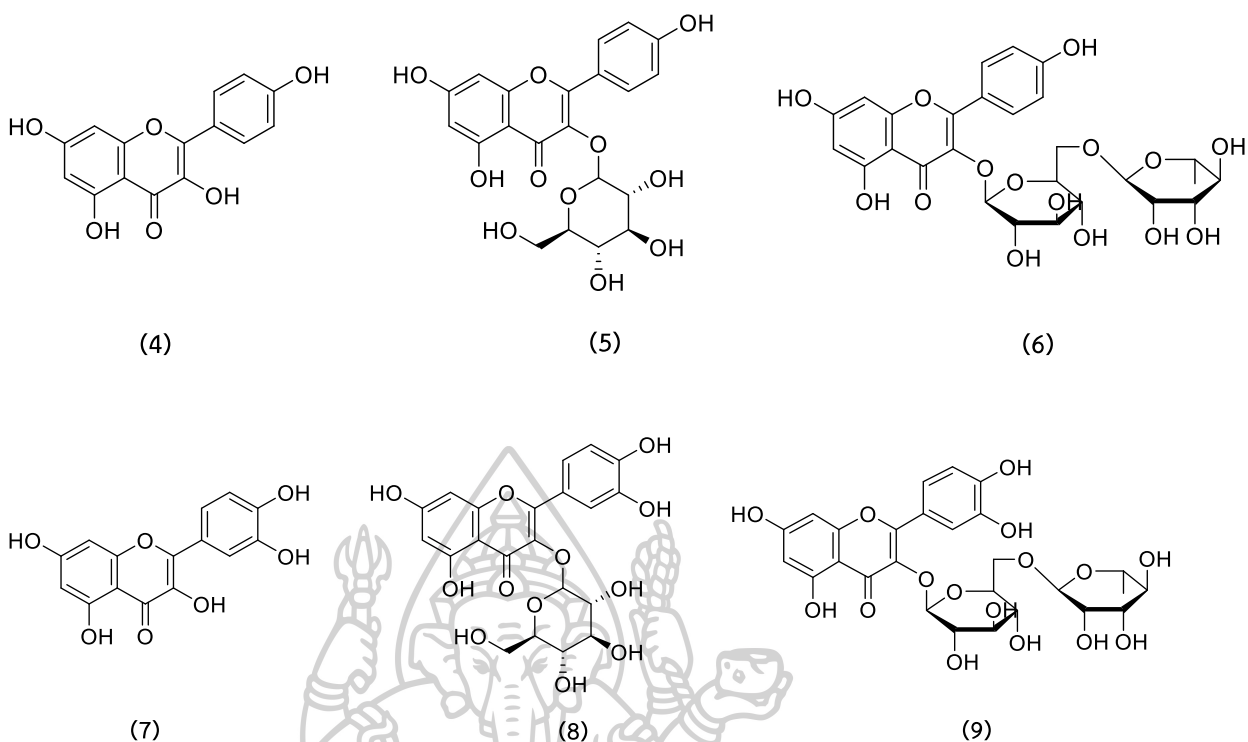
รูปที่ 4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำยางจากส่วนสกัด EtOAc ใน *Euphorbia lactea*

ในปี ค.ศ. 2018 Wongprayoon, P และ Charoensuksai, P. ได้นำส่วนสกัด ethanol ส่วนเหนือดิน ของ *Euphorbia lactea* Haw. มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธี MTT assay พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (HN22) ได้ดี นอกจากนี้ยังศึกษาการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell migration) ที่ความเข้มข้นต่างๆได้แก่ 12.5, 25, 50 และ 100 µg/ml โดยวิธี wound-healing assays ผลปรากฏว่าที่ความเข้มข้น 100 µg/ml มีการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง (HN22) ได้ดีที่สุดในกลุ่มผู้วิจัยได้ศึกษา การตายของเซลล์ (apoptotic effect) ด้วยเทคนิค flow cytometry analysis พบว่า ส่วนสกัดหยาบ *Euphorbia lactea* Haw สามารถเพิ่ม G1 phase ในวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) แสดงให้เห็นถึงการตายของเซลล์ในช่วงเริ่มต้นวัฏจักร โดยจากการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่า *Euphorbia lactea* Haw เป็นพืชที่น่าสนใจที่จะนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในการต้านมะเร็งต่อไป<sup>[10]</sup>

### 1.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับพืชในวงศ์ Euphorbiaceae

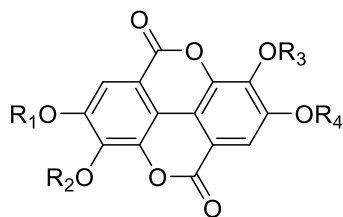
ปี ค.ศ. 2010 Tarek Boudiar และคณะได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จากส่วนเหนือดินของ *Euphorbia guyoniana* พบ alkaloid ชนิดใหม่ คือ 1,5-diphenyl-3-styryl-2-pyrazoline (3) พร้อมกับสารที่เคยมีรายงานการค้นพบมาก่อนแล้ว คือสารกลุ่ม flavonoids 6 ชนิดได้แก่ kaempferol (4), kaempferol 3-O-glucoside (5), kaempferol 3-rutinoside (6), quercetin (7), quercetin 3-O-glucoside (8), และ rutin (9)<sup>[11]</sup>





รูปที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol ของ *Euphorbia guyoniana*

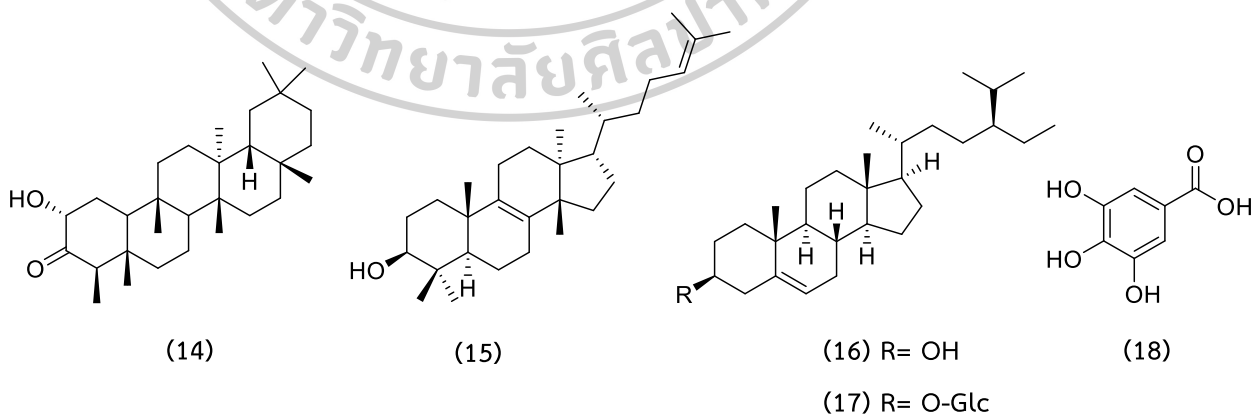
ปี ค.ศ. 2011 Zengjun Guo และคณะได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate จากราก *Euphorbia hylonoma* สามารถแยกสารในกลุ่ม bibenzyl 4 ชนิดได้แก่ 3,3',4-tri-*O*-methylellagic acid (**10**), 3,3'-di-*O*-methylellagic acid (**11**), 3-*O*-methylellagic acid (**12**) และ 3,3'-di-*O*-methylellagic acid-4'-*O*- $\beta$ -dxylopyranosid (**13**). และได้นำสารประกอบทั้ง 4 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ผลปรากฏว่า 3-*O*-methylellagic acid (**12**) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $97.48 \pm 5.27$  ( $\mu\text{g/mL}$ )

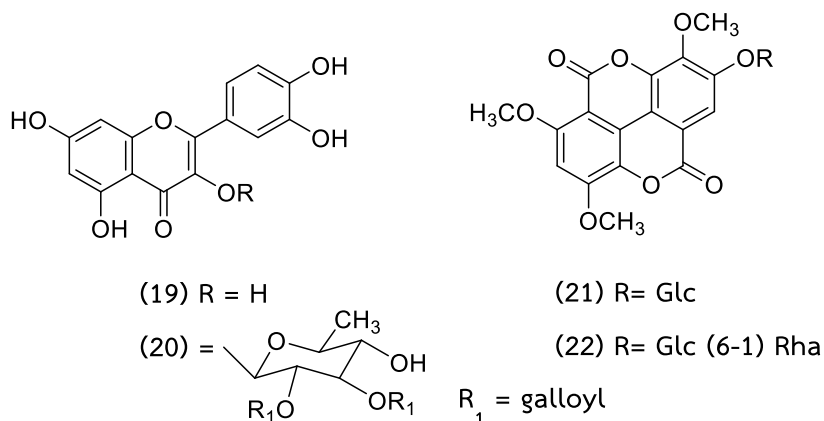


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Compound 10	Me	Me	H	Me
Compound 11	Me	H	H	Me
Compound 12	Me	H	H	H
Compound 13	Me	Xyl	H	Me

**รูปที่ 6** แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate ของ *Euphorbia hylonoma*

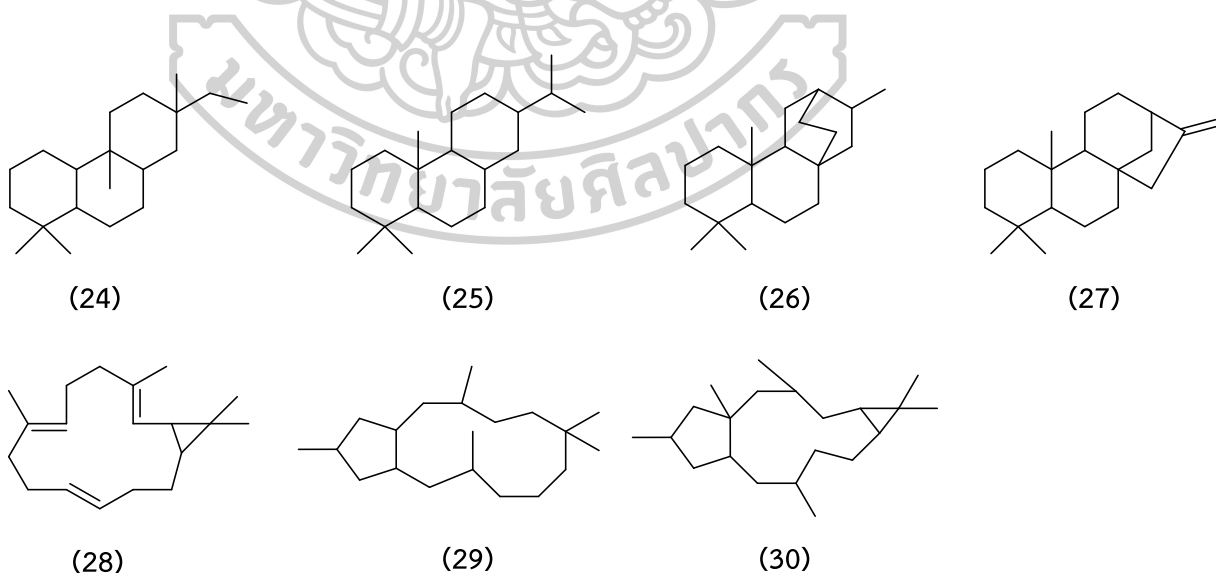
ปี ค.ศ. 2013 Zedan Z. Ibraheim และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากส่วนเหนือดินของ *Euphorbia aphylla* พบองค์ประกอบทางเคมี 9 ชนิดคือ  $\beta$ -amyrone (14), euphol (15),  $\beta$ -sitosterol (16),  $\beta$ -sitosterol-glucoside (17), gallic acid (18), quercetin (19), quercetin-3-O-(2'',3''-digalloyl)- $\alpha$ -L-rhamnoside (20), 3,4,3'-O-trimethyl ellagic acid-4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (21) และ 3,4,3'-tri-O-methyl ellagic acid-4'-rutinoside (22) [12]

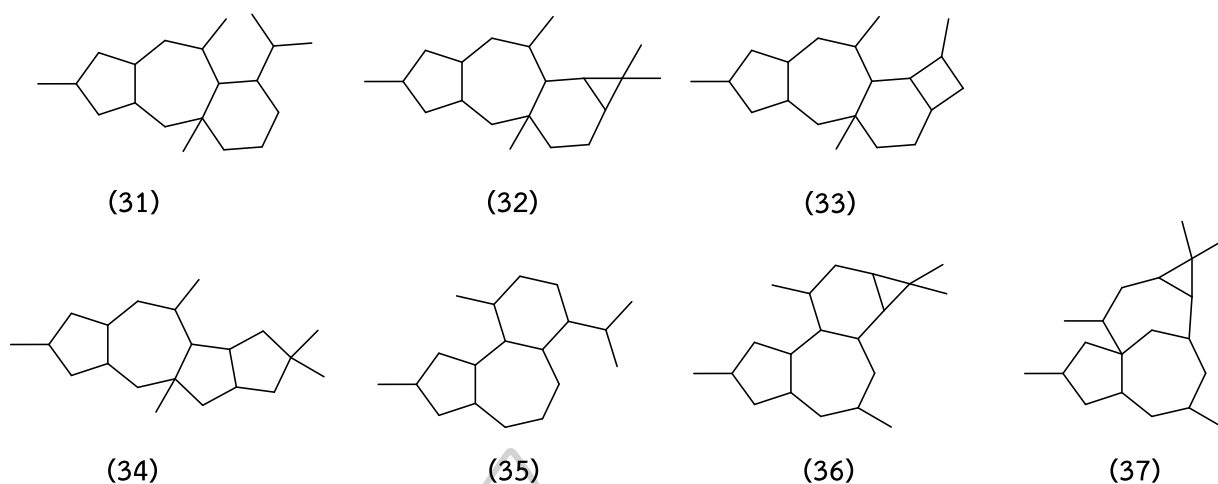




**รูปที่ 7** แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol ของ *Euphorbia aphylla*

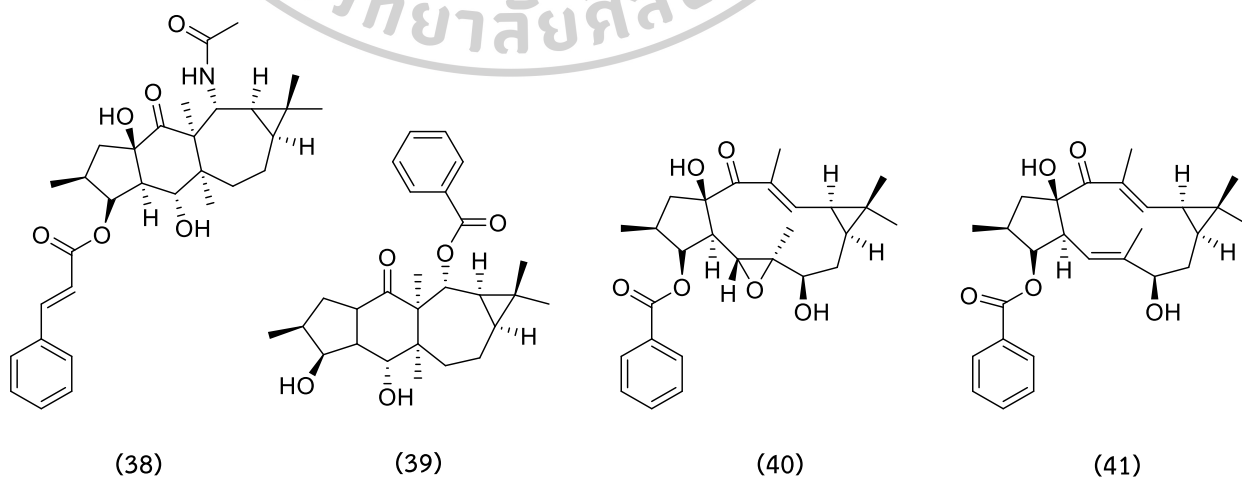
ปี ค.ศ. 2014 Andrea Vasas และ Judit Hohmann ได้ทำการรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแยกองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม diterpenes ของพืชในวงศ์ Euphorbiaceae ซึ่งแยกจากทุกส่วนของพืช ได้แก่ ลำต้น ใบ ราก เมล็ด ส่วนเหนือดิน และยาง โดยพืชส่วนใหญ่จะสกัดด้วย 95% methanol หรือ ethanol โดยได้รายงานโครงสร้างหลักของสาร 14 ชนิด ในกลุ่ม diterpenes ดังนี้ rosane (24), abietane (25), atisane (26), kaurene (27), casbane (28), jatrophone (29), lathyrane (30), myrsinane (31), premysinane (32), cyclomysinane (33), pepluane (34), daphanane (35), ligiane (36) และ ingenane (37) <sup>[13]</sup>

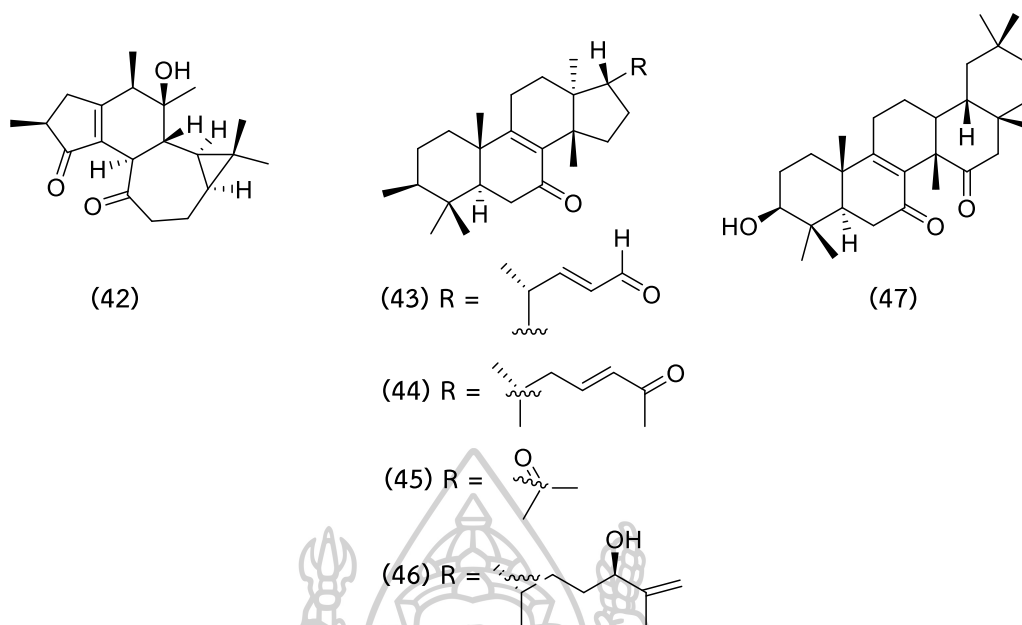




**รูปที่ 8** แสดงองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม diterpenes ของพืชในวงศ์ Euphorbiaceae

ปี ค.ศ. 2017 Jie Gao และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด acetone จากทุกส่วนของ *Euphorbia soongarica* พบองค์ประกอบทางเคมีชนิดใหม่ในกลุ่ม terpenoids 10 ชนิด คือ sooneuphoramine (38), sooneuphorone (39), soongalathyrone A (40), soongalathyrone B (41), soongajatrochol (42), sooneuphanones A–C (43–45), sooneuphanone D (46) และ soonoleanone (47) ทั้งนี้พบว่าองค์ประกอบ sooneuphanone D (46) ความเข้มข้น 10  $\mu\text{M}$  ผสมกับยา Navalbine ซึ่งเป็นยาเคมีบำบัดที่ใช้รักษามะเร็งหลายชนิด ซึ่งรวมถึงมะเร็งเต้านมและมะเร็งปอดที่ไม่ใช่เซลล์ขนาดเล็ก ผลปรากฏว่ามีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด KBv200 โดยมีค่า  $\text{IC}_{50}(\mu\text{M}) < 0.003$  [14]

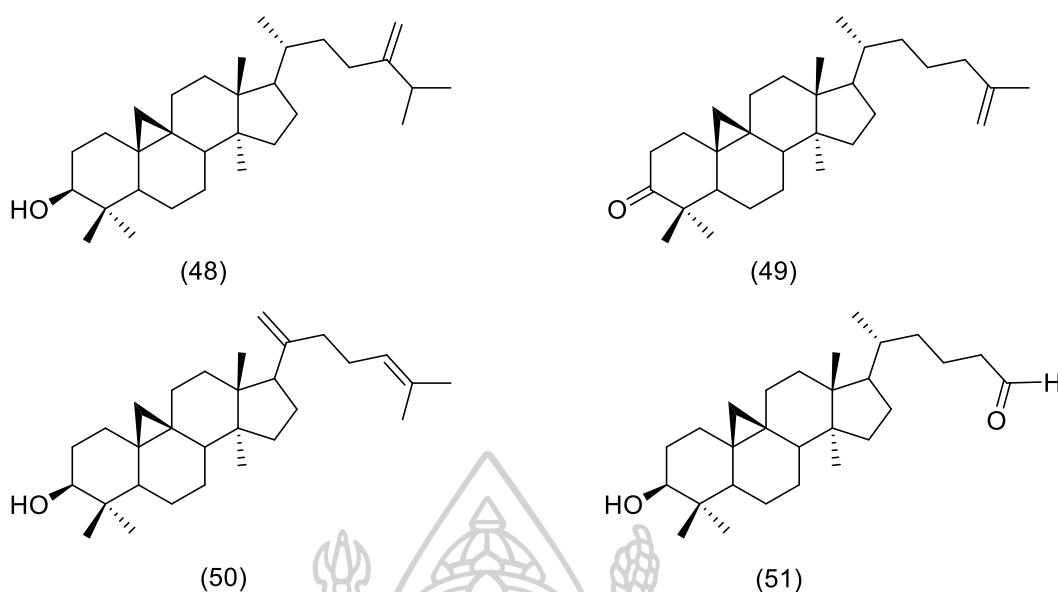




รูปที่ 9 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด acetone ของ *Euphorbia soongarica*

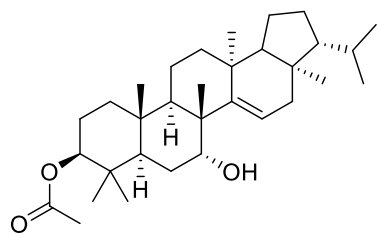
ปี ค.ศ. 2019 Mohamed F.S. Banjar และคณะ ได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของ ส่วนสกัด methanol จากส่วนเหนือดินของ *Euphorbia schimperi* พบองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม cycloartane 4 ชนิด ได้แก่ 24-methylenecycloartane (48), cycloart-25-en-3-one (49), cycloschimperol A [cycloart-20,24-dien-3 $\beta$ -ol] (50) และ cycloschimperol B [26,27-dinor-3 $\beta$ -hydroxycycloartan-25-al] (51) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของ cycloschimperols A [cycloart-20,24-dien-3 $\beta$ -ol] (50) และ cycloschimperol B [26,27-dinor-3 $\beta$ -hydroxy cycloartan-25-al] (51) เป็นสารชนิดใหม่ และผู้วิจัยได้นำสารทั้ง 4 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเต้านม adenocarcinoma (MCF-7), มะเร็งตับ hepatocellular (HepG2) และลำไส้ใหญ่ (HCT-116) โดยใช้วิธี sulphorhodamine B assay (SRB) โดยผลการ ทดลองพบว่า cycloart-25-en-3-one (49) และ cycloschimperol B (51) มีฤทธิ์การยับยั้ง เซลล์มะเร็งทั้ง 3 เซลล์ ได้แก่ HCT-116, HepG2 และ MCF-7 ได้ใกล้เคียงกับยา Doxorubicin ที่เป็น positive control โดย cycloart-25-en-3-one (49) มีค่า IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M) เท่ากับ  $1.9 \pm 0.4$ ,  $2.3 \pm 0.2$  และ  $4.7 \pm 0.1$  ( $\mu$ M) cycloschimperol B (51) มีค่า IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M) เท่ากับ  $1.8 \pm 0.1$ ,  $1.4 \pm 0.1$  และ  $2.1 \pm 0.01$  ( $\mu$ M) เมื่อเทียบกับยา Doxorubicin ที่เป็น positive control ซึ่งมีค่า IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M) เท่ากับ  $0.2 \pm 0.01$ ,  $0.6 \pm 0.1$  และ  $0.18 \pm 0.01$  ( $\mu$ M) [15]



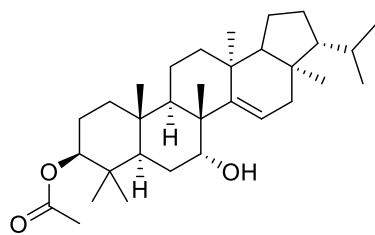


รูปที่ 10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol ของ *Euphorbia schimperi*

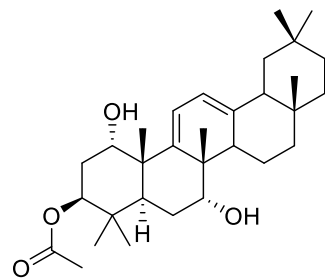
ปี ค.ศ. 2019 Yan Dai และคณะ ได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนเหนือดิน ของ *Euphorbia pulcherrima* โดยสกัดด้วย 80% acetone ใน น้ำ พบสารชนิดใหม่ 3 ชนิดได้แก่ euphorimaoid A (52), euphorimaoid B (53), 1 $\alpha$ -hydroxy-3 $\beta$ -acetoxy-olean-9,12-diene (54) นอกจากนี้ยังพบ 3 $\beta$ -acetyloxy-olean-13(18)-en-12-one (55) และ 18,19-epoxyolean-3 $\beta$ -ol acetate (56) ซึ่งพบสารนี้เป็นครั้งแรกจากธรรมชาติ และยังพบ teuviscins A (57), supinenolone C acetate (58) , supinenolone E acetate (59), supinenolone E (60), 3 $\beta$ -acetoxy-30-nor-20-oxolupane (61), 3 $\beta$ -hydroxyhop-22(29)-ene (62), 3 $\beta$ -acetoxyolean-12-en-11-one (63), olean-12-ene-11 $\alpha$ -methoxy-3 $\beta$ -acetate (64), (24*R*)-cycloartane-3 $\beta$ ,24,25-triol (65), (24*R*)-cycloartane-3 $\alpha$ ,24,25-triol (66), cycloart-(23*Z*)-ene-3 $\alpha$ ,25-diol (67), cycloeucalenol (68) และ stigmastan-4-en-3-one (69). ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม triterpenes ที่เคยมีผู้วิจัยค้นพบมาก่อนหน้านี้ และได้นำสารทั้งหมดไปทดสอบการยับยั้งการเกิดโรคกระดูกพรุน (osteoclastogenesis) ใน BMMs cell ผลการทดลองสาร supinenolone C acetate (57) และ supinenolone E acetate (58) มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุด <sup>[16]</sup>



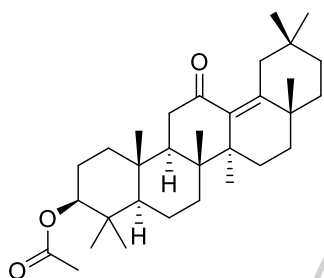
(52)



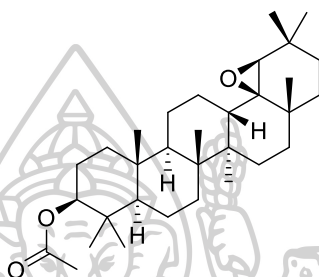
(53)



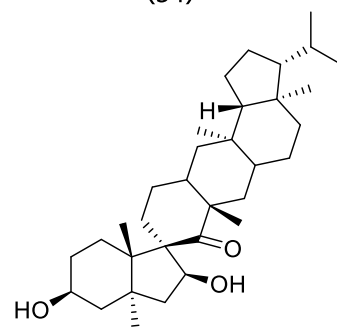
(54)



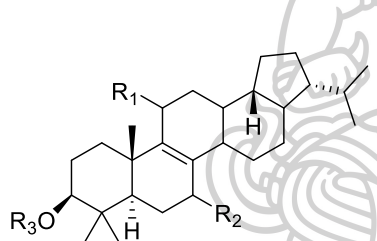
(55)



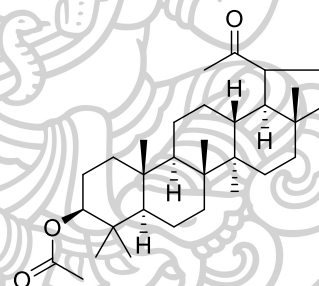
(56)



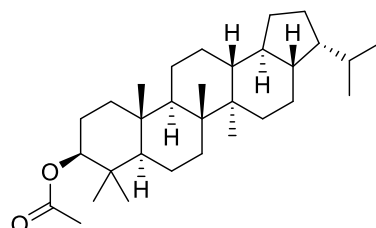
(57)



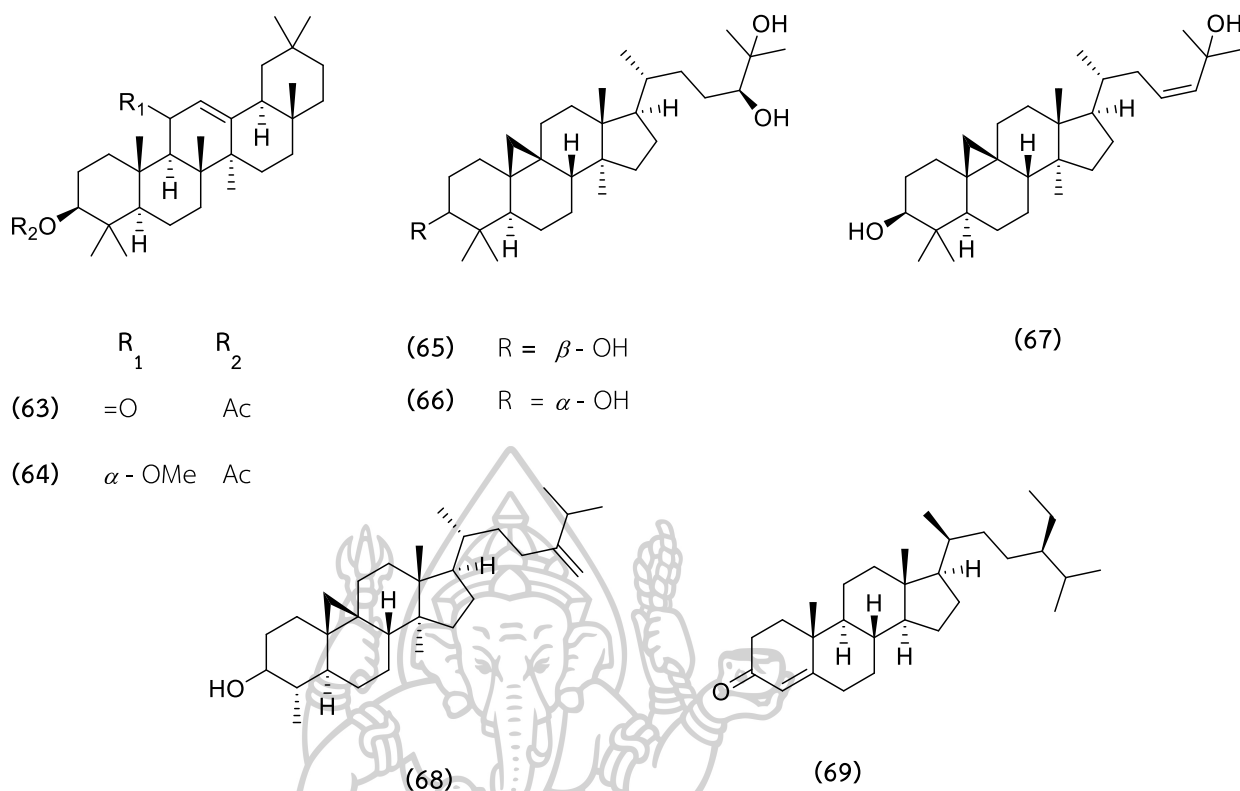
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
(58)	=O	=O	Ac
(59)	H	=O	Ac
(60)	H	=O	H



(61)

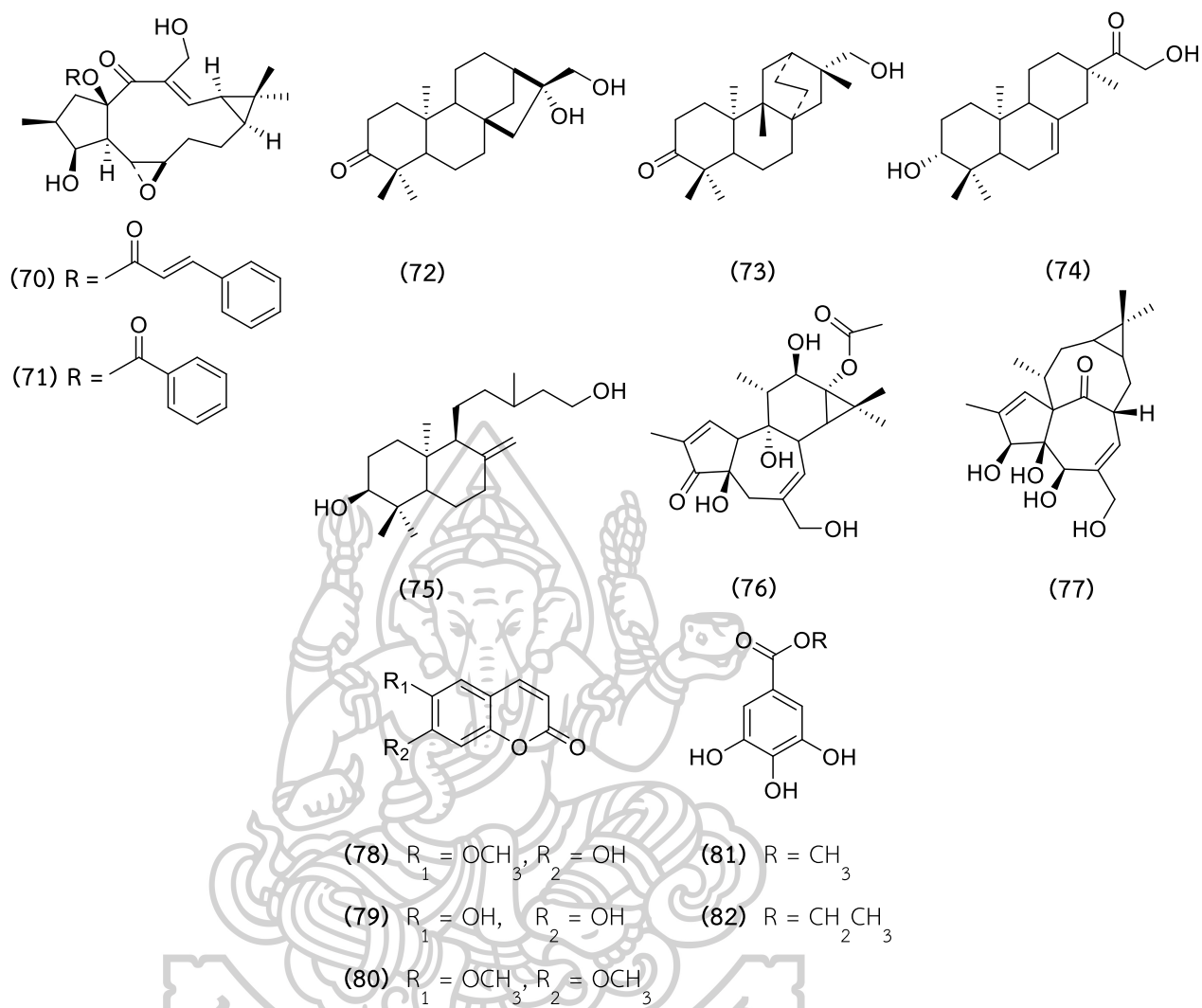


(62)



รูปที่ 11 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนเหนือดิน ของ *Euphorbia pulcherrima*

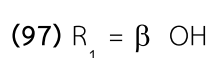
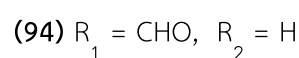
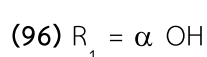
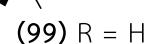
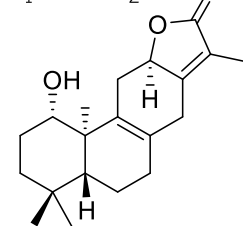
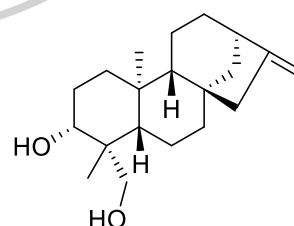
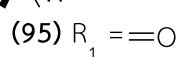
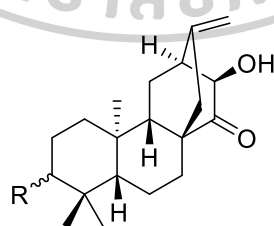
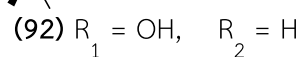
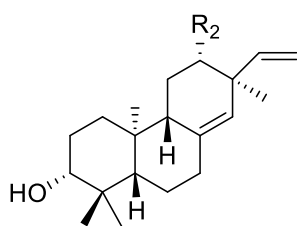
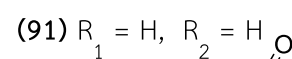
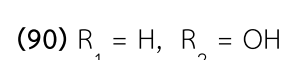
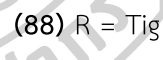
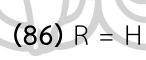
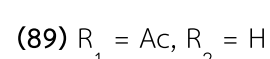
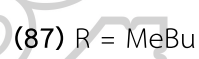
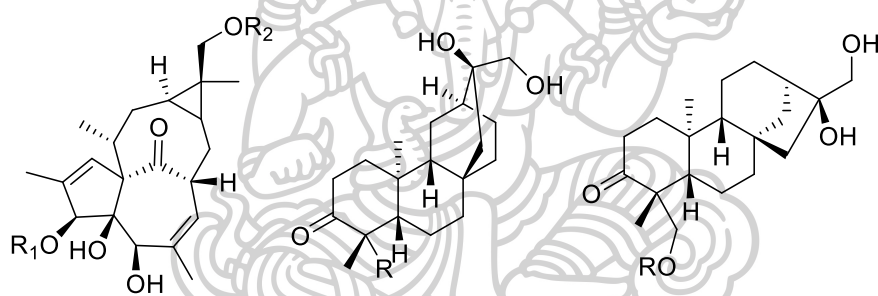
ปี ค.ศ. 2019 Tie Liua และคณะ ได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากทุกส่วนของ *Euphorbia stracheyi* Boiss สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีได้ทั้งหมด 14 ชนิด แบ่งเป็น 4 กลุ่มได้แก่ diterpenes 8 ชนิด jolkinol A (70), jolkinol A', *ent*-(16*R*)-16,17-dihydroxykauran-3-one (71), *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (72), *ent*-3 $\beta$ ,16-dihydroxyiso-pimar-7-ene-2,15-dione (73), 3 $\beta$ ,15-dihydroxy-labd-8(17)-ene (74), phorbol-13-actate (75) และ  $\alpha$  ingenol (76) monoterpene ได้แก่ boscialin (77), coumarins 3 ชนิด ได้แก่ scopoletin (78), esculetin (79) และ 6,7-dimethoxycoumarin (80) และ phenols 2 ชนิด ได้แก่ methyl gallate (81) และ ethyl gallate (82) นอกจากนี้ยังพบว่า สาร 3 $\beta$ ,15-dihydroxy-labd-8(17)-ene (74) และ boscialin (77) เป็นการค้นพบครั้งแรกของพืชในวงศ์ *Euphorbia* <sup>[17]</sup>

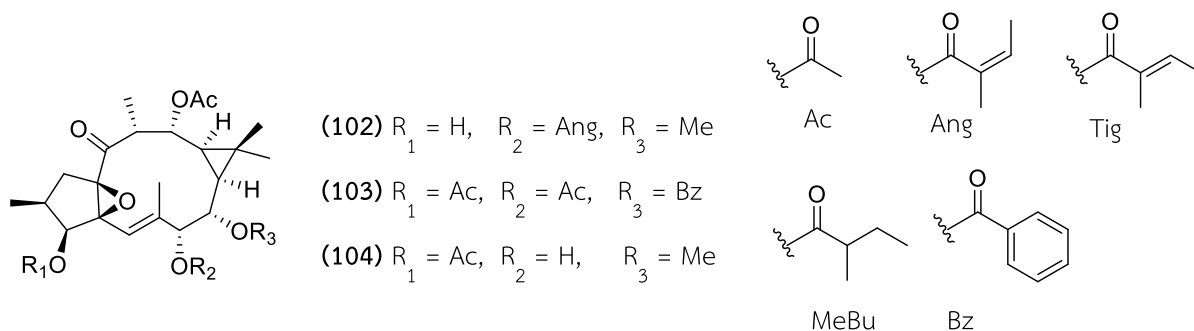


รูปที่ 12 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol ของ *Euphorbia stracheyi* Boiss

ในปีเดียวกัน Peixia Wang และคณะ ได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จากลำต้นของ *Euphorbia royleana* สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีได้ทั้งหมด 21 ชนิดโดยแบ่งเป็น 6 กลุ่ม คือingenane 2 ชนิดคือ (3*S*,4*S*,5*R*,8*S*,10*S*,11*R*,13*R*,14*R*,15*R*)-3β-*O*-angeloyl-17-tigloyloxy-20-deoxyingenol (**83**) และ(3*S*,4*S*,5*R*,8*S*,10*S*,11*R*,13*R*,14*R*,15*R*)-3β-*O*-angeloyl-17-benzoyloxy-20-deoxyingenol (**84**), *ent*-atisane 2 ชนิด ได้แก่ (4*R*,5*S*,8*S*,9*R*,10*S*,12*S*,16*S*)-*ent*-19-acetoxyloxy-16α,17-dihydroxyatisan-3-one (**85**) และ (4*R*,5*R*,8*S*,9*R*,10*S*,12*S*,16*S*)-*ent*-16α,17-dihydroxy-19-noratisan-3-one (**86**) *ent*-kaurane 2 ชนิด ได้แก่ (4*R*,5*S*,8*S*,9*R*,10*S*,13*R*,16*S*)-*ent*-16α,17-dihydroxy-19-(2-methylbutanoyloxy) kauran-3-one (**87**) และ β-equatorially (**88**) *ent*-isopimarane-type 1 ชนิด คือ

(4*R*,5*S*,8*S*,9*R*,10*S*,13*R*,16*S*)-*ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxy-19-tigloyloxykauran-3-one (**89**) *ent*-abietane 2 ชนิด ได้แก่ (1*S*,5*R*,9*R*,10*R*,12*R*)-1 $\alpha$ -acetoxyloxy-*ent*-abieta-8,13-dien-12 $\alpha$ ,16-olide (**90**) และ  $\beta$ -equatorially (**91**) *ent*-isopimarane-type 1 ชนิด คือ (3*R*,4*R*,5*S*,9*R*,10*S*,12*S*,13*S*)-*ent*-18-nor-8(14),15-isopimaradiene-3 $\beta$ ,12 $\beta$ ,4 $\alpha$ -triol (**92**) โดยองค์ประกอบทางเคมี (**84-92**) เป็นสารชนิดใหม่ และนอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม diterpenoid ได้ทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ antiquorine A (**93**), sandaracopimaradienolal (**94**), 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -dihydroxyent-8(14),15-isopimaradien-18-al (**95**), *ent*-13*S*-hydroxyatis16-ene-3,14-dione (**96**), *ent*-3 $\beta$ ,13-*S*-dihydroxyatis-16-ene-14-one (**97**), *ent*-3 $\alpha$ ,13*S*-dihydroxyatis-16-en-14-one (**98**), *ent*-3 $\beta$ ,19-dihydroxykaur-16-ene (**99**), eurifoloid D (100), eurifoloid E (**101**), 7-angeloyl-12-acetyl-8-methoxyingol (**102**), 3,7,12-triacetyl-8-benzoylingol (**103**), และ 3,12-diacetyl-7-hydroxy-8-methoxyingol (**104**)<sup>[18]</sup>





รูปที่ 13 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วน methanol จากลำต้นของ *Euphorbia royleana*

### 1.7 แนวเหตุผล ทฤษฎีสำคัญ หรือสมมติฐาน พืชในวงศ์ Orchidaceae

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae ทั่วโลกพบประมาณ 796 สกุล 19,000 ชนิด ในประเทศไทยพบกล้วยไม้พื้นเมืองประมาณ 167 สกุล 1,140 ชนิด (อบฉันท, 2549) โดยกล้วยไม้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ

- ลำต้น กล้วยไม้มีการเจริญเติบโตสองแบบคือ กลุ่มที่มีการเจริญด้านปลาย (monopodial) เช่น สกุลกุหลาบ (Aerides) สกุลสามปอย (Vanda) เป็นต้น และกลุ่มที่มีการเจริญด้านข้าง (sympodial) ลำต้นจะมีลักษณะคล้ายเหง้า เจริญทอดขนานไปกับพื้นหรือตามกิ่งไม้ เช่น สกุลหวาย (Dendrobium) เป็นต้น

- ราก เกิดที่โคนต้นหรือตามข้อ มีหน้าที่ยึดเกาะหรือช่วยสังเคราะห์ด้วยแสง มักมีเนื้อเยื่อสีขาวคล้ายฟองน้ำเรียกว่า วิลานเนน (velamen) ท่อหุ้มไว้ หรือบางชนิดมีรากสะสมอาหารแบบมันฝรั่ง (tuberous root)

- ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงแบบสลับ เรียงแบบเวียน หรือบางชนิดมีใบเดี่ยว และในบางชนิดใบอาจลดรูปไป

- ช่อดอก เป็นช่อเชิงหลั่น (corymb) ช่อกระจกระจ (raceme) ช่อแยกแขนง (panicle) หรือดอกเดี่ยว ออกที่ด้านข้างลำต้น ทั้งจากส่วนเหง้า หัว ข้อของลำลูกกล้วย หรือออกที่ปลายยอด

- ดอก สมบูรณ์เพศ สมมาตรด้านข้าง ขณะที่ดอกกำลังเจริญก้านดอกและรังไข่จะบิดตัวประมาณ 180 องศา (resupinate) ทำให้กลีบปากอยู่ด้านล่างของดอก ยกเว้นกล้วยไม้บางชนิดที่ก้านดอกและรังไข่ไม่บิดตัวโดยทั่วไปกล้วยไม้มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 3 กลีบ และมีเส้าเกสร เป็นแท่งตรงกลางดอก เป็นส่วนรวมของเกสรเพศผู้และเพศเมีย (ยกเว้นในวงศ์ย่อย Apostasioideae ที่เกสรเพศผู้และเพศเมียแยกจากกัน) ที่ปลายเส้าเกสรมีกลุ่มเรณู (pollinia) ซึ่งมีตั้งแต่ 2 ถึง 8 กลุ่ม ในบางสกุลกลุ่มเรณูจะมีกลุ่มเรณูย่อย ซึ่งแต่ละสกุลจะมีความแตกต่างกัน และบางสกุลกลุ่มเรณูอาจจะมีก้านกลุ่มเรณูด้วย (วรชาติ, 2558)

จากการศึกษางานวิจัยพบว่ากล้วยไม้สกุลหวาย มีลักษณะเด่น คือ ดอกมีสีม่วง ซึ่งเป็นสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) มีสารไซยานิดิน (Cyanidin) และพิโอนิดิน (Peonidin) (พลอยขวัญ กาญจนสุรัตน์, 2557) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่า ส่วนของดอกกล้วยไม้หวายม่วง แดง (Dendrobium Sonia) มีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สูงใกล้เคียงกับวิตามินซี ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน (Reference standard) พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น มากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อลิตร สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ถึงประมาณ 87.45% เปรียบเทียบกับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 96.00% รวมถึงมีการนำเอาสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สายพันธุ์ต่างๆ มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อช่วยบำรุงและปกป้องผิวจากมลภาวะภายนอกและลดริ้วรอย อีกทั้งยังพบว่า การนำส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้สายพันธุ์ต่างๆ เช่น หัวใต้ดิน หรือ ดอก ไปใช้ทางการแพทย์ตลอดจนมีการทดสอบความปลอดภัยเพื่อใช้ในมนุษย์ (วรพร ศีลศร, 2554)



รูปที่ 14 รูปแสดงตัวอย่างพรรณไม้วงศ์ Orchidaceae

## 1.8 รายละเอียดต้นไม้มั้ที่ทำการศึกษา



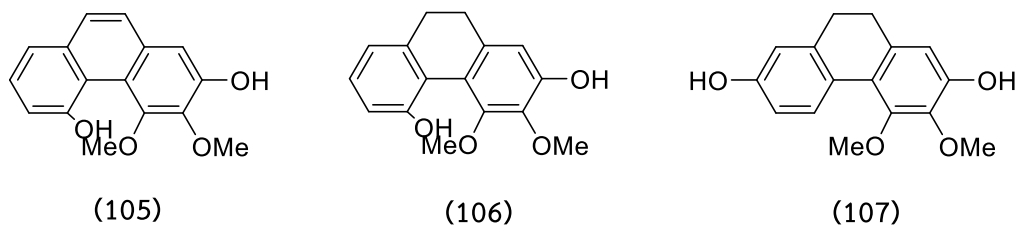
รูปที่ 15 รูปแสดงกล้วยไม้สกุลหลายลูกผสมพันธุ์โจแดง

กล้วยไม้พันธุ์โจแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium Sonia 'Red Jo'* เป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: พืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบซิมโพเตียล คือ เป็นกล้วยไม้ที่มีลำลูกกล้วยเมื่อลำต้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จะแตกหน่อเป็นลำต้นใหม่และเป็นกอ ใบเรียงสลับกันหรือเรียงซ้อนทับกัน ใบเดี่ยวแบนแข็งแรง สีเขียว เส้นใบขนานกันไปตามความยาวของใบ ดอกช่อ ออกตามซอกใบ ดอกเรียงสลับ 6-8 คู่ ปลายคี่ กลีบเลี้ยง 3 กลีบ สีเดียวกับกลีบดอก แต่สีเข้มกว่าเล็กน้อย กลีบดอก 5 กลีบ มักมี 3 สีภายใน 1 ดอก มีกลีบดอก 1 กลีบเปลี่ยนรูปร่างไปเนื่องจากมีเกสรเพศผู้ และยอดเกสรเพศเมียลดรูปมารวมอยู่ด้วยกัน มีลักษณะเป็นปาก (labellum) มีสีเข้มเด่นชัดกว่ากลีบอื่น

## 1.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับพืชในวงศ์ Orchidaceae

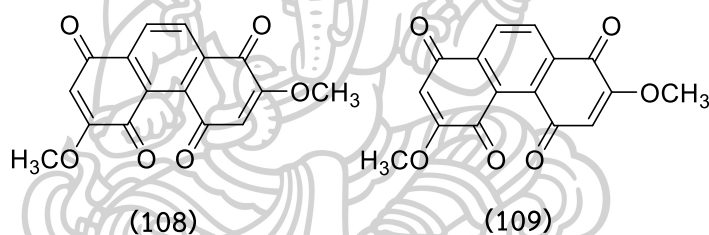
ปี ค.ศ. 1999 Samuel Estrada และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของ *Maxillaria densa* จากทุกส่วนของพืช โดยสกัดด้วย MeOH-CHCl<sub>3</sub> (1:1) สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม phenanthrene ได้ทั้งหมด 3 ชนิด โดยแบ่งเป็นสารประกอบชนิดใหม่ 2 ชนิดคือ s, 2,5-dihydroxy-3,4-dimethoxyphenanthrene (105) และ 9,10-dihydro-2,5-dihydroxy-3,4-dimethoxyphenanthrene (106) นอกจากนี้ยังพบ 2,7-dihydroxy-3,4-dimethoxyphenanthrene (107) และนอกจากนี้ยังได้มีการนำ Crude extract ของ *Maxillaria densa* ที่สกัดด้วย MeOH-CHCl<sub>3</sub> (1:1) ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งภาวะต่อมลูกหมากโต (spasmolytic activity) โดยมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.62 (0.13 µg/mL) เมื่อเทียบกับ Papaverine ที่ใช้เป็นตัว positive control ซึ่งมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.62 (0.13 µg/mL) <sup>[19]</sup>





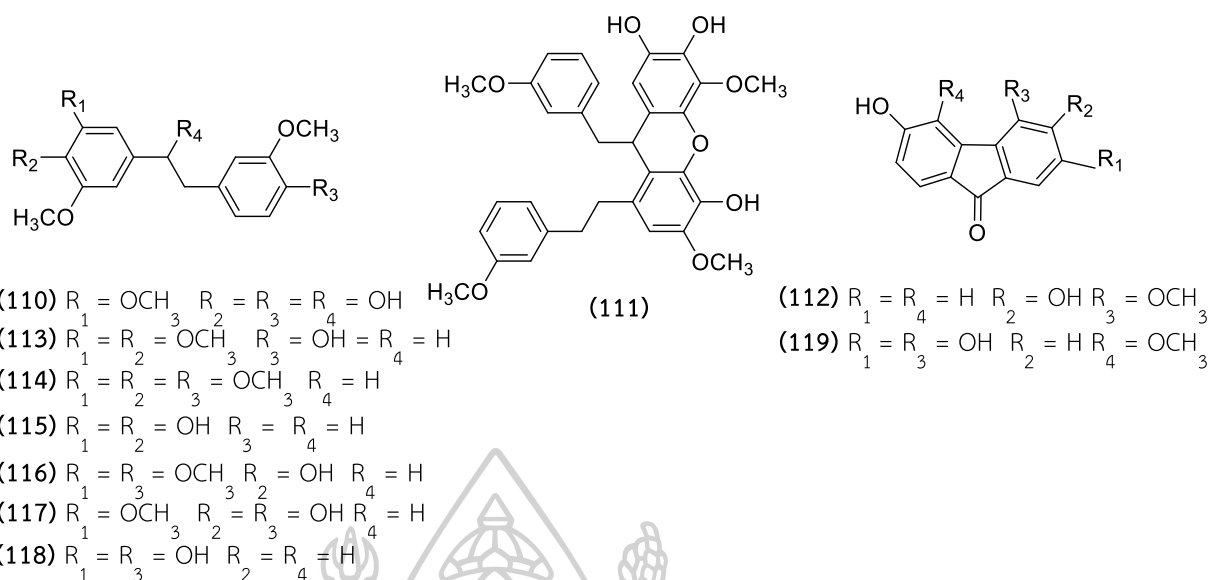
รูปที่ 16 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด MeOH-CHCl<sub>3</sub> (1:1) จาก *Maxillaria densa*

ปี ค.ศ. 2001 Tzong-Huei Lin และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีจากลำต้นของ *Dendrobium moniliforme* โดยแยกสารประกอบในกลุ่ม phenanthraquinones ชนิดใหม่ได้ 2 ชนิดได้แก่ moniliformin (108) และ denbinobin (109) และได้นำสารทั้ง 2 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) จากผลการทดสอบ denbinobin (109) มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบเมื่อทดสอบในหลอดทดลอง [20]



รูปที่ 17 แสดงองค์ประกอบทางเคมีจากลำต้นของ *Dendrobium moniliforme*

ปี ค.ศ. 2007 Xue Zhang และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากลำต้นของ *Dendrobium nobile* โดยแยกสารประกอบในกลุ่ม bibenzyl derivatives ชนิดใหม่ได้ 2 ชนิดได้แก่ nobilin D (110) และ nobilin E (111) และสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม fluorenone ได้แก่ nobilone (112) และนอกจากนี้ยังพบสารประกอบที่เคยมีผู้วิจัยรายงานไว้ก่อนหน้านี้อีก 7 ชนิดนอกจากนี้ยังได้มีการนำสารทั้ง 10 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ Free radical scavenging activity (DPPH) และ Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และทดสอบการยับยั้งการเกิด NO [21]

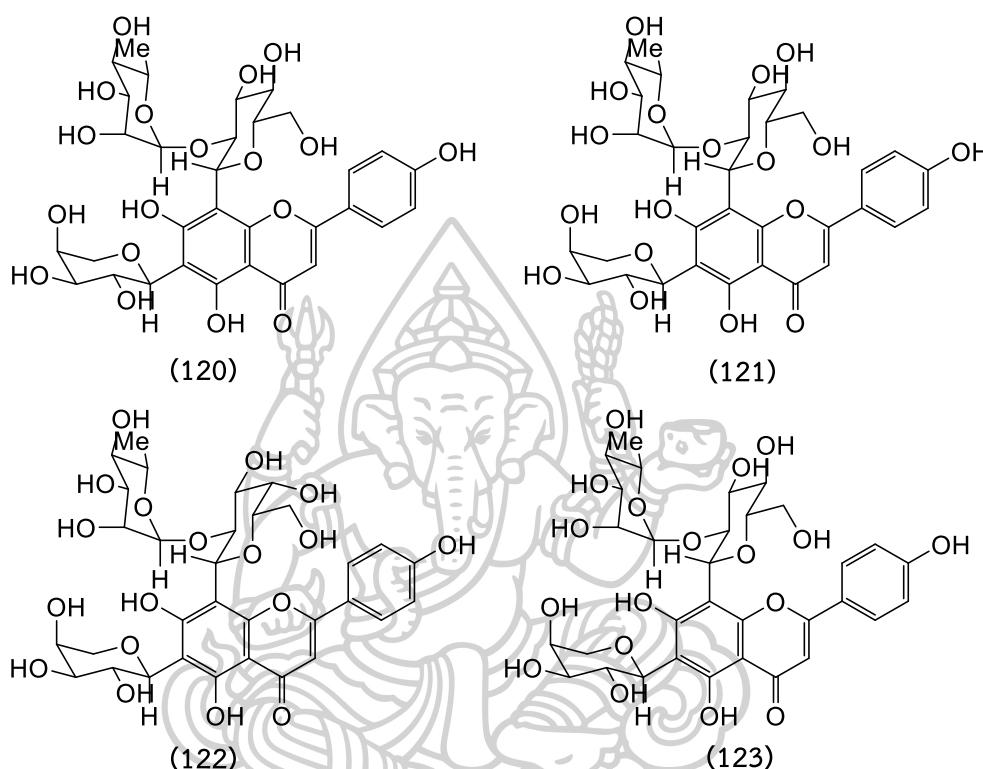


### รูปที่ 18 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วน methanol จาก *Dendrobium huoshanense*

จากผลทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบหมายเลข 110-119 สามารถสรุปได้ว่า สารประกอบ 110, 112, 114, 116, 117 และ 119 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าหรือเทียบเท่ากับวิตามินซีในการทดสอบ DPPH โดยมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ  $19.9 \pm 0.8$ ,  $21.4 \pm 0.4$ ,  $21.8 \pm 0.4$ ,  $14.0 \pm 0.1$  และ  $14.5 \pm 0.3$  เมื่อเทียบกับ วิตามินซี (Vitamin C) ที่ค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ  $18.0 \pm 0.2$  (และ สารประกอบ 1, 3, 4 และ 7-10 ซึ่งมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ  $0.274 \pm 0.006$ ,  $0.432 \pm 0.005$ ,  $0.299 \pm 0.008$ ,  $0.280 \pm 0.005$  และ  $0.596 \pm 0.003$   $\mu\text{M}$  แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าวิตามินซี (Vitamin C) ที่มีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ  $0.172 \pm 0.004$   $\mu\text{M}$  ในการทดสอบ ORAC และนอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้มีการศึกษาการทดสอบการยับยั้ง NO ของสารหมายเลข 110-115 และ 116-119 จากผลการทดลอง สารประกอบ 110, 111 และ 119 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิด NO โดยมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 15.3, 19.2 และ 13.4  $\mu\text{M}$  เมื่อเทียบกับ resveratrol ซึ่งมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 23.5  $\mu\text{M}$

ปี ค.ศ. 2010 Chia-Chuan Chang และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จากลำต้น ของ *Dendrobium huoshanense* โดยแยกสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม 6,8-di-C-glycosyl flavones ได้ 4ชนิดได้แก่ 6-C-( $\alpha$ -Arabinopyranosyl)-1-C-[(2-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl)- $\beta$ -glucopyranosyl]apigenin (120), 6-C-( $\beta$ -Xylopyranosyl)-1-C-[(2-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl)- $\beta$ -glucopyranosyl]apigenin (121), 6-C-( $\alpha$ -Arabinopyranosyl)-1-C-[(2-O-

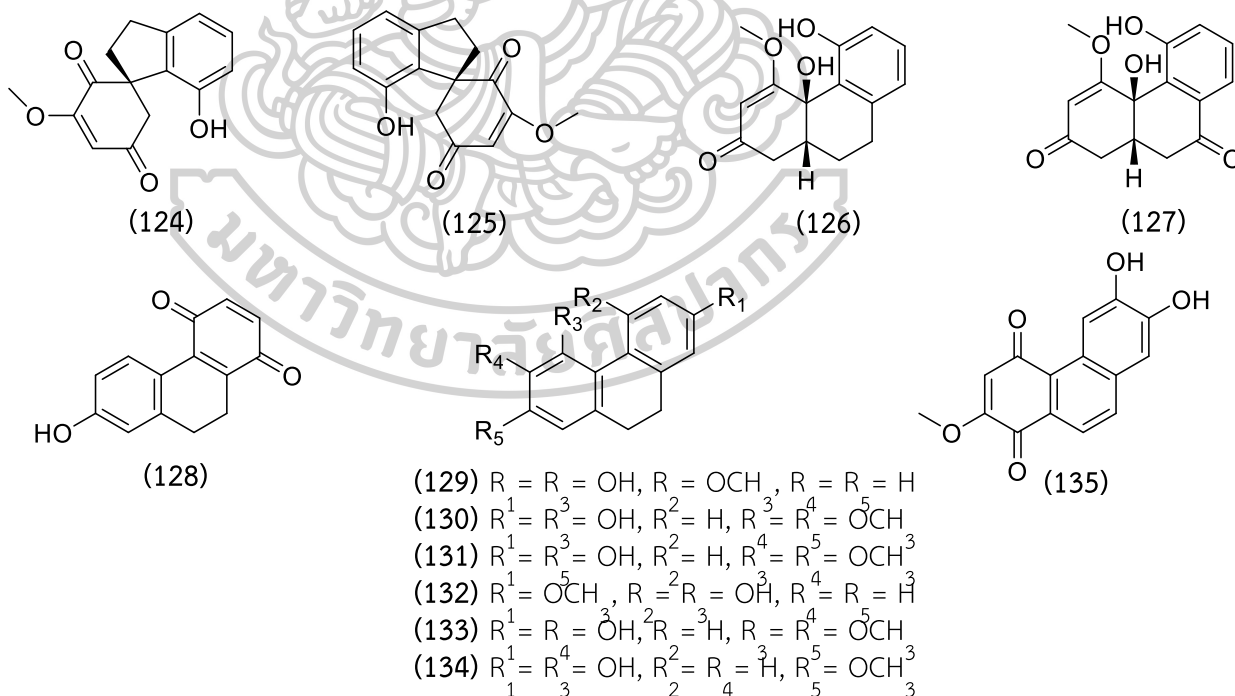
$\alpha$ -rhamnopyranosyl)- $\beta$ -galactopyranosyl]apigenin (122) และ 6-C-[(2-O- $\alpha$ -Rhamnopyranosyl)- $\beta$ -glucopyranosyl]-1-C- $\alpha$ -arabinopyranosyl]apigenin (123) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอีก 7 ชนิดที่เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้<sup>[22]</sup>

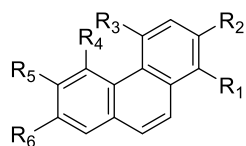


รูปที่ 19 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก *Dendrobium nobile*

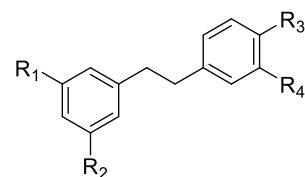
ปี ค.ศ. 2016 Xue-Ming Zhou และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากลำต้น ของ *Dendrobium nobile* โดยแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 28 ชนิด โดยแบ่งเป็นสารประกอบที่เป็น enantiomeric pair 2 ชนิดคือ spirodiketones, (+)- and (-)-denobilone A (124 และ 125) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม phenanthrene 3 ชนิดคือ enobilones B และ C (126 และ 127), 7-hydroxy-9,10-dihydro-1,4-phenanthredione (128) สารประกอบในกลุ่ม biphenanthrenes 3 ชนิดคือ denthysinol A (145), denthysinol B (146), denthysinol C (147) เป็นสารประกอบชนิดใหม่ สารประกอบในกลุ่ม phenanthrene 11 ชนิดคือ hircinol (129), ephemeranthol-A (130), erianthridin (131), 4,5-dihydroxy-2-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene (132), flavanthridin (133), lusianthridin (134), 6,7-dihydroxy-2-methoxy-1,4-

phenanthrenedione (135), moscatin (136), confusarin (137), nudol (138), lusianthrin (139) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ สารประกอบในกลุ่ม bibenzyl 5 ชนิด ได้แก่ 3',4-dihydroxy-3,5'-dimethoxybibenzyl (140), 3-hydroxy-5-methoxybibenzyl (141), batatasin III (142), tristin (143), 3,3',5'-trihydroxybibenzyl (144) พบสารประกอบในกลุ่ม biphenanthrenes 4 ชนิด คือ , denthyrsinol (148), pochinenin G (149), pochinenin D (151), และ 4,4',7,7'-tetrahydroxy-2,2'-dimethoxy-9,9',10,10'-tetrahydro-1,1'-phenanthrene (151). นอกจากนี้ยังได้มีการนำสารประกอบทั้ง 28 ชนิดไปศึกษาการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราชนิดต่างๆจากผลการทดลองสารหมายเลข 124-139 และ 145-151 ไม่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราชนิดต่างๆ และสารหมายเลข 140-144 มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อรา *A. brassicicola*, *P. parasitica* var. *Nicotianae*, *C. capsica*, *B. oryzae*, *D. medusaea* Nitschke, *C. paradoxa* Moreau, *E. turcicum*, *P. thaea* และ *A. citri* ได้ดี โดยมีค่า MIC ( $\mu\text{M}$ ) สูงกว่า prochloraz ที่เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา [23]

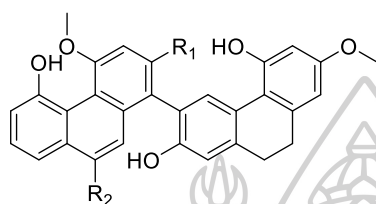




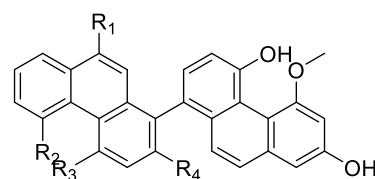
- (136)  $R = R = R = H, R = R = OH, R = OCH_3$   
 (137)  $R^1 = R^5 = R^6 = OCH_3, R^4 = R = OH, R = H$   
 (138)  $R^1 = R^4 = H, R = R^3 = OH, R^6 = R = OCH_3$   
 (139)  $R^1 = R^3 = H, R^2 = R^6 = R = OH, R^5 = OCH_3$



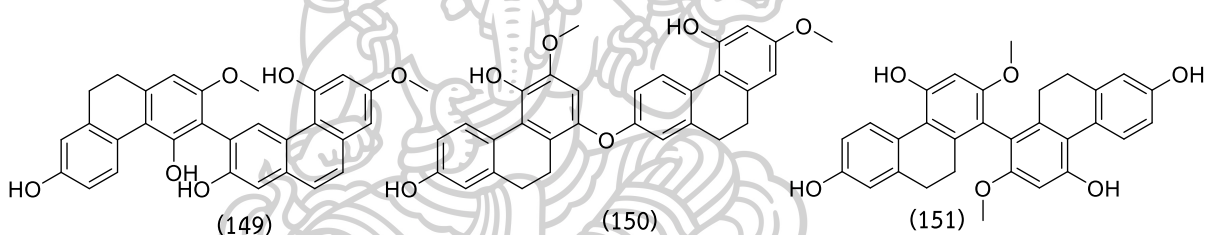
- (140)  $R = R = OCH_3, R = R = OH$   
 (141)  $R^1 = OCH_3, R^3 = OH, R^3 = R = H$   
 (142)  $R^1 = OCH_3, R^2 = R = OH, R^4 = H$   
 (143)  $R^1 = R = R^3 = OH, R^4 = OCH_3$   
 (144)  $R^1 = R^2 = R^3 = OH, R^4 = H$



- (145)  $R = OCH_3, R = OH$   
 (146)  $R^1 = OH, R^2 = H$

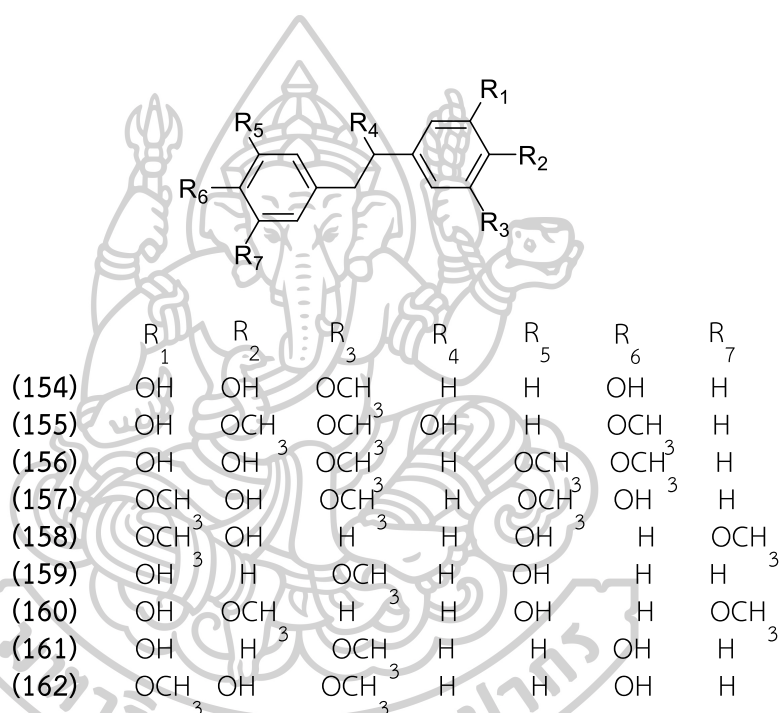
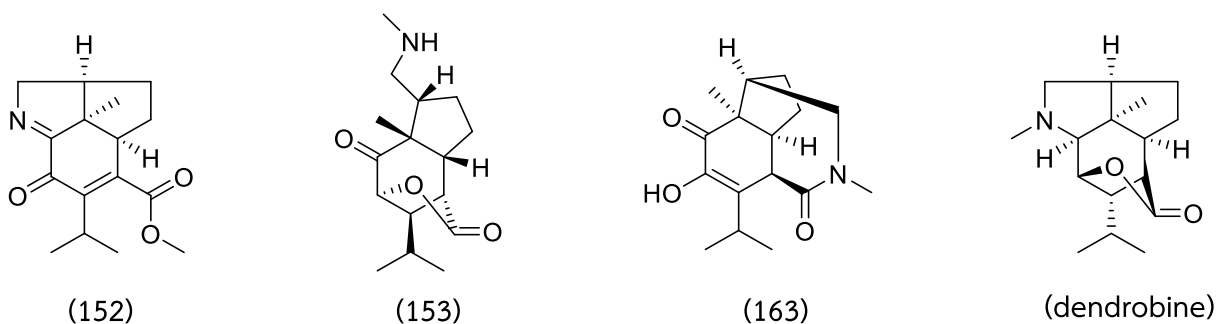


- (147)  $R = R = OH, R = R = OCH_3$   
 (148)  $R^1 = H, R^2 = R^4 = OH, R^3 = OCH_3$



รูปที่ 20 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จาก *Dendrobium findlayanum*

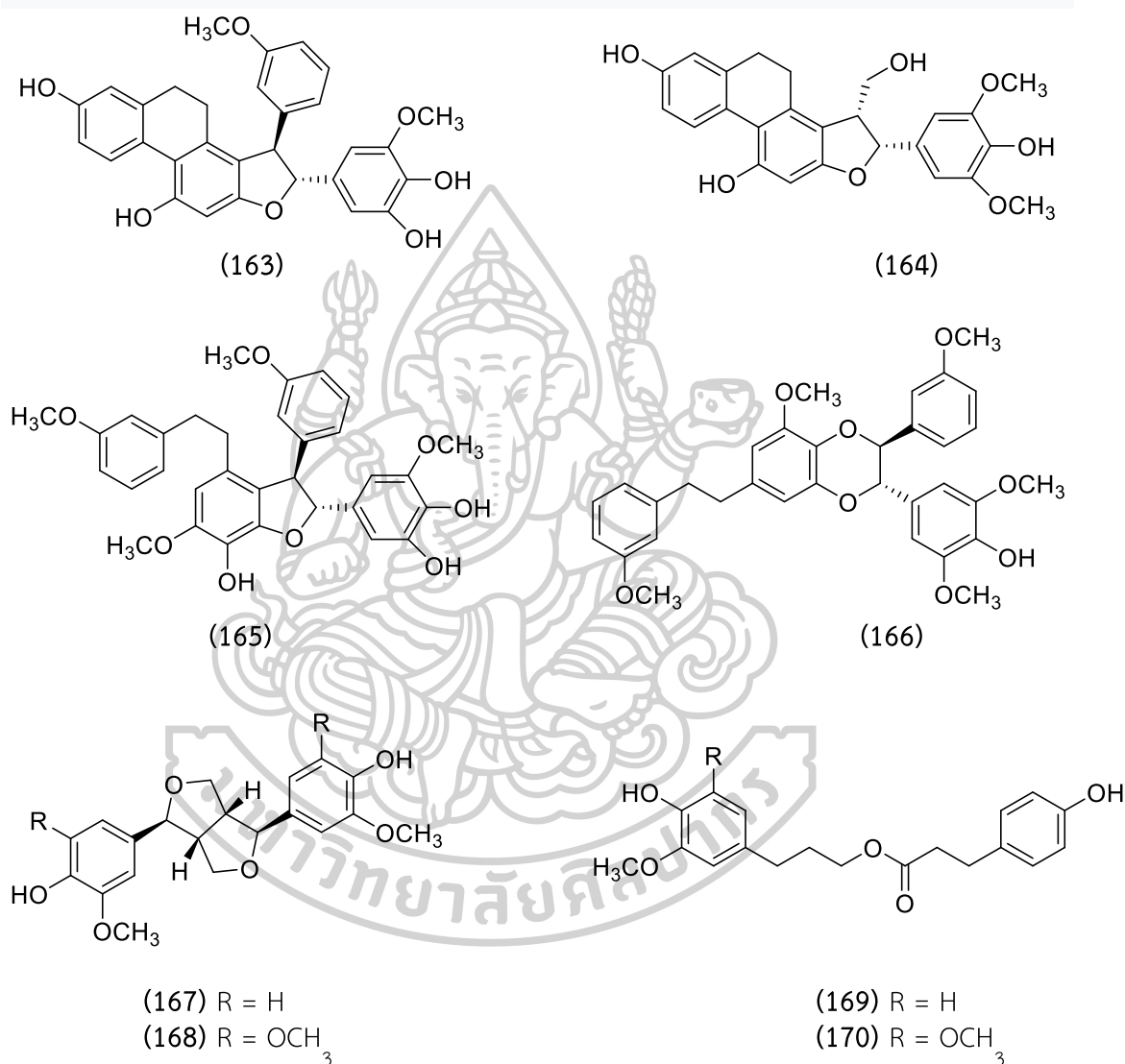
ปี ค.ศ. 2020 Gui-Yuan Liu และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จากลำต้น ของ *Dendrobium findlayanum* โดยแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 12 ชนิด แบ่งเป็นสารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม alkaloids 2 ชนิดได้แก่ dendrofindline A (152) และ dendrofindline B (153) สารประกอบชนิดใหม่ในกลุ่ม bibenzyl 3 ชนิดได้แก่ 3, 4, 4'-trihydroxy-5-methoxybibenzyl (154), (R)-3,  $\alpha$ -dihydroxy-4, 5, 4'-trimethoxybibenzyl (155) และ 3, 4-dihydroxy-5, 3', 4'-trimethoxybibenzyl (156) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอีก 6 ชนิดที่เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ซึ่งแยกได้จาก *Dendrobium findlayanum* และได้นำสาร ทั้ง 11 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์ MTT assay (Cytotoxicity) กับเซลล์ 3 ชนิดได้แก่ A172, SHSY5Y และ Hela พบว่าสารประกอบหมายเลข 6 สามารถยับยั้ง การเกิดของเซลล์เนื้องอกในมนุษย์ได้ดีซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.65-3.77  $\mu M$  [24]



รูปที่ 21 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จาก *Dendrobium findlayanum*

ปี ค.ศ. 2020 Lei Cheng และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากลำต้นของ *Dendrobium nobile* โดยแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 8 ชนิด แบ่งเป็น สารประกอบชนิดใหม่ 4 ชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่ม dihydrophenanthrofurans 2 ชนิด ได้แก่ dendronbibisline A (163) และ dendronbibisline B (164) และกลุ่ม bis-bibenzyl 2 ชนิด ได้แก่ dendronbibisline C (165) และ dendronbibisline D (166) และยังพบสารประจักษ์อีก 4 ชนิดซึ่งเคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ ได้แก่ pi-noresinol (167), syringaresinol (168), dihydroconiferyl dihydro-p-coumarate (169) และ dihydrocinapyl dihydro-p-coumarate (170). นอกจากนี้ผู้วิจัยก็นำสารที่แยกได้ไปทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง HepG2 ในหลอด

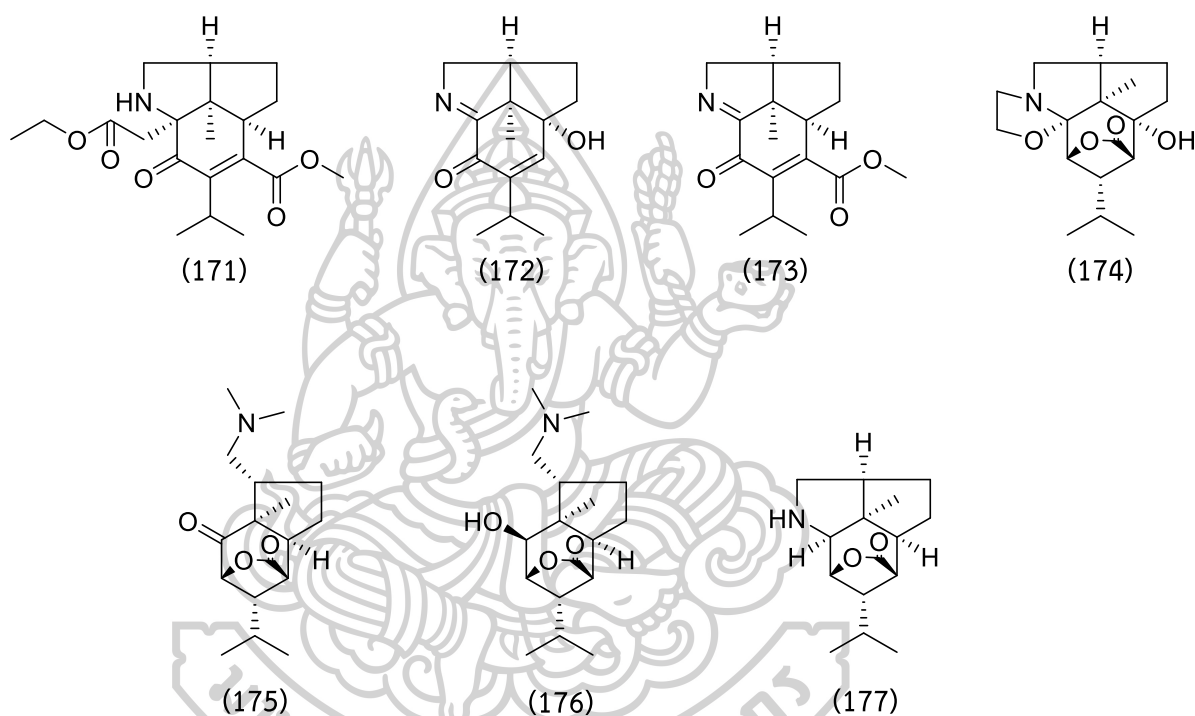
ทดลองโดยสารหมายเลข 1-4 มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $4.81 \pm 0.04 \mu\text{M}$ ,  $19.47 \pm 1.11 \mu\text{M}$ ,  $1.25 \pm 0.06 \mu\text{M}$ ,  $11.99 \pm 1.02 \mu\text{M}$  ตามลำดับ โดยมี taxol เป็น Positive control ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  น้อยกว่า  $0.02 \mu\text{M}$  [25]



รูปที่ 22 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก *Dendrobium nobile*

ปี ค.ศ. 2020 Dan Yang และคณะได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จากลำต้น ของ *Dendrobium findlayanum* โดยแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 7 ชนิด แบ่งเป็น สารประกอบชนิดใหม่ 4 ชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่ม alkaloids ได้ทั้งหมด 7 ชนิดซึ่งเป็นสารประกอบชนิดใหม่

2 ชนิดได้แก่ Findlayine E (171) และ Findlayine F (172) และพบสารที่เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้อีก 5 ชนิดได้แก่ findline A (173), 6-hydroxy-dendroxine (174), nobiline (175), dihydronobilonine (176) และ mubironine B (177) นอกจากนี้ผู้วิจัยก็ได้นำส่วนสกัดหยาบในชั้น EtOAc ของ *D. findlayanum* ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งความเป็นพิษกับเซลล์ HL-60, SMMC-7721, A-549 และ MCF-7 โดยมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 49.4, 61.3, 96.8, and 90.1 µg/mL ตามลำดับ [26]



รูปที่ 23 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethanol จาก *Dendrobium findlayanum*



### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสไลด์ไตลายเหลืองและลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดงและทำให้บริสุทธิ์เพื่อวิเคราะห์หาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคทาง spectroscopy
2. เพื่อค้นหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานการศึกษา
3. เพื่อนำส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity) และฤทธิ์การต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory)



## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือและสารเคมี

- จุดหลอมเหลว วัดด้วยเครื่อง Kofler hot stage apparatus
- ค่า Optical rotation วัดด้วยเครื่อง KRÜSS OPTRONIC digital polarimeters P300 ในสารละลาย  $\text{CHCl}_3$
- วัด IR ด้วยเครื่อง Perkin Elmer GX FT-IR spectrophotometer
- วัด UV ด้วยเครื่อง Hewlett Packard 8453 UV-VIS spectrometer
- 1D และ 2D NMR วัดในสารละลาย  $\text{CDCl}_3$  และ  $\text{CD}_3\text{OD}$  โดยมี TMS เป็นสารอ้างอิงภายใน โดยใช้เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer Brüker AVANCE 300 MHz (300 MHz สำหรับ  $^1\text{H}$  NMR และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}\text{C}$  NMR)
- วัดแมสสเปกตรัม ด้วยเครื่อง Micro TOF, Brüker Daltonic 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%  $\text{CeSO}_4$  ใน 10% aq.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เครื่อง Microplate reader รุ่น Benchmark จากบริษัท BIO-RAD

#### 2.2 พืชที่ใช้ในงานวิจัย

สลัดไดลายเหลือง (*Euphorbia lactea* Haw) ถูกเพาะปลูกในโรงเรือน กรุงเทพมหานคร ถูกเก็บรวบรวมในเดือนพฤษภาคมปี 2019 และถูกฝากไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และได้รับการยืนยันโดย ภค.ผศ.ดร. ปุรินทร์ เจริญสุขใส (SUPY.PC1)

กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia* 'Red Jo') ถูกเก็บรวบรวมในเดือนตุลาคม 2560 จากฟาร์มกล้วยไม้ มานะ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ถูกฝากไว้ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และได้รับการยืนยันพันธุ์ไม้โดย ผศ.ดร.กุลนาถ ออบสุวรรณ (SU20171001)

### 2.3 การศึกษาเบื้องต้น (Preliminary study)

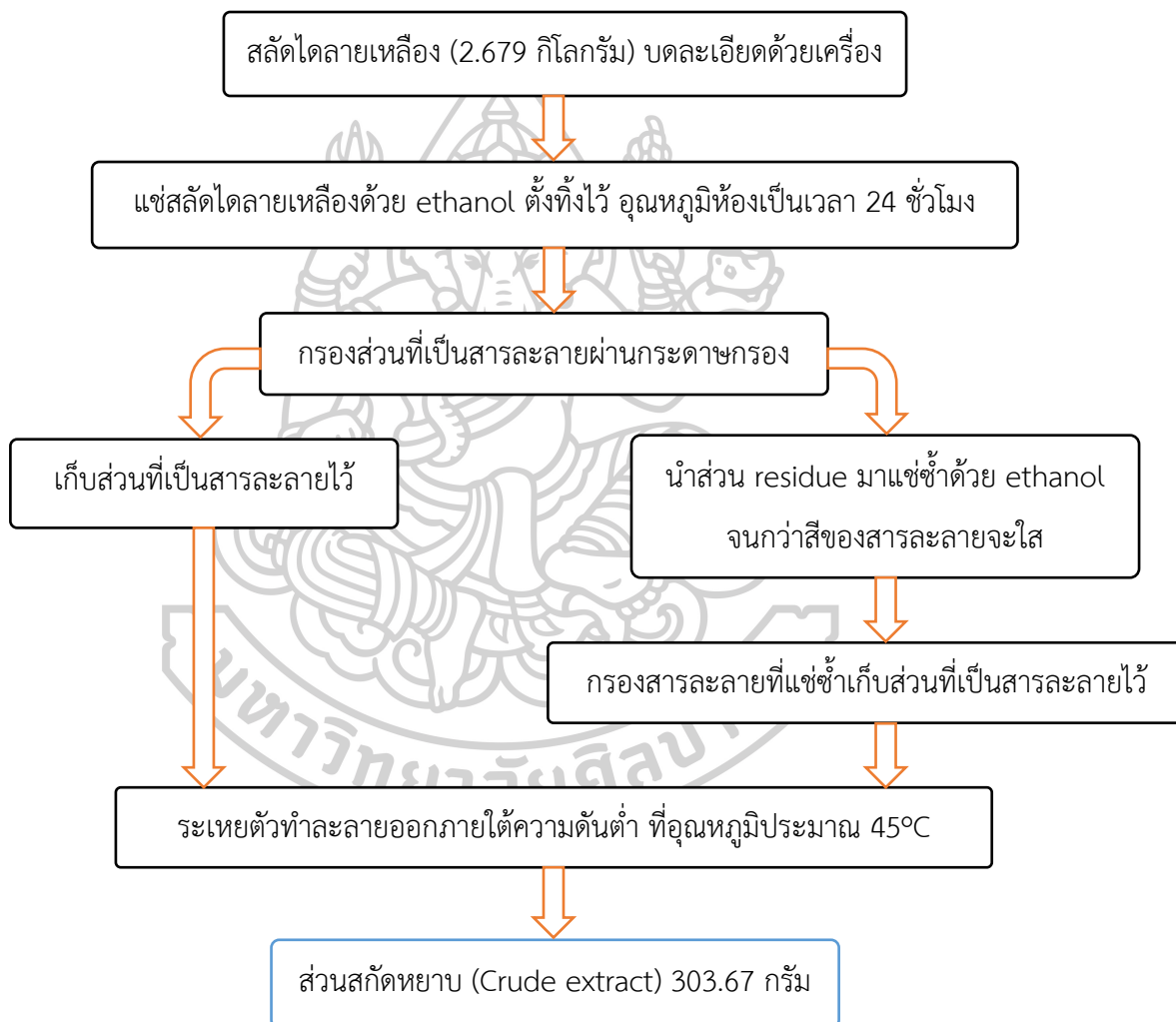
จากการศึกษาเบื้องต้น (Preliminary study) ได้มีการนำส่วนสกัดหยาบเอทานอล ส่วนเหนือดินของ *Euphorbia lactea* Haw. มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธี MTT assay กับเซลล์มะเร็ง 4 ชนิดได้แก่ เซลล์มะเร็งหัวและคอชนิด HN22, เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT116) และ เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด HN22 ได้ดี นอกจากนั้นยังศึกษาการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell migration) ที่ความเข้มข้นต่างๆได้แก่ 12.5, 25, 50 และ 100 µg/ml โดยวิธี wound-healing assays ผลปรากฏว่าที่ความเข้มข้น 100 µg/ml มีการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งชนิด HN22 ได้ดีที่สุด ต่อมากลุ่มผู้วิจัยได้ศึกษา การตายของเซลล์ (apoptotic effect) ด้วยเทคนิค flow cytometry analysis พบว่า ส่วนสกัดหยาบ *Euphorbia lactea* Haw สามารถเพิ่ม G1 phase ในวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) แสดงให้เห็นถึงการตายของเซลล์ในช่วงเริ่มต้นวัฏจักร โดยจากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่า *Euphorbia lactea* Haw เป็นพืชที่น่าสนใจที่จะนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในการต้านมะเร็งต่อไป

สำหรับลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง (*Dendrobium Sonia* 'Red Jo') ได้มีการนำส่วนสกัดหยาบชั้น เฮกเซน, เอทิลอะซิเตท, บิวทานอล และ น้ำ มาทดสอบฤทธิ์ความสามารถในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ผลการทดสอบทำให้ทราบว่าส่วนสกัดหยาบชั้น เอทิลอะซิเตท มีความสามารถในการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ได้ดีที่สุดถึง 70.63% จึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาองค์ประกอบเคมีของพืชในครั้งนี้

## 2.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นสัลดโตลายเหลือง

### 2.4.1 การเตรียมส่วนสกัดหยาบลำต้นสัลดโตลายเหลือง (Crude-EL)

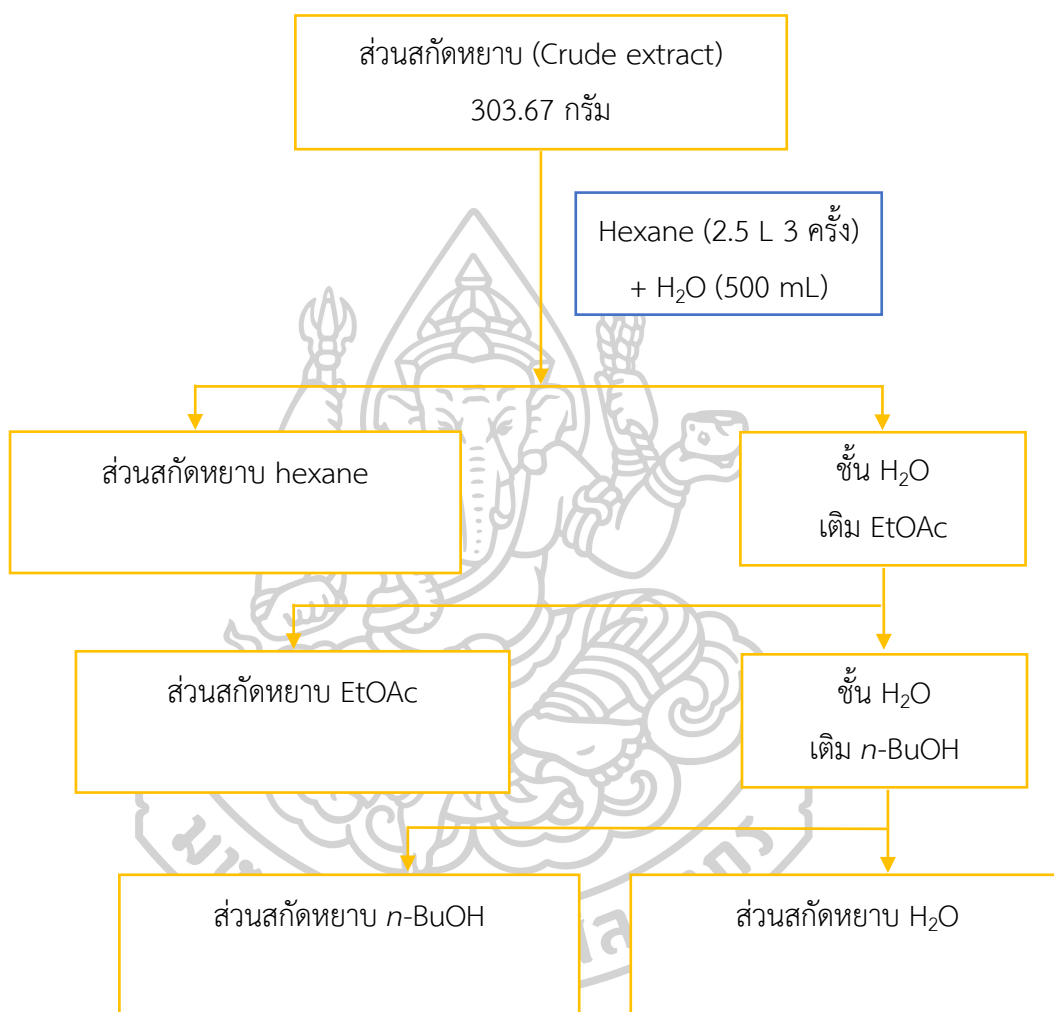
นำตัวอย่างลำต้นสัลดโตลายเหลืองแห้งบดละเอียด (น้ำหนัก 2.679 กิโลกรัม) มาแช่ด้วย ethanol ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากออก เก็บส่วนสารละลาย และนำส่วนที่เป็น กาก มาแช่ใน ethanol อีก 2 ครั้ง จากนั้นรวมส่วนที่เป็นสารละลายทั้งหมดไปทำการระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45 °C จะได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวปนดำ น้ำหนัก 303.67 กรัม (ภาพที่



รูปที่ 24 แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมส่วนสกัดหยาบของส่วนเหนือดินสัลดโตลายเหลือง (Crude extract)

## 2.4.2 การสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบสลัดไถลาย เหลือง

นำส่วนสกัดหยาบ (Crude extract) ที่ได้ 303.67 กรัม มาสกัดด้วย hexane, ethyl acetate และ *n*-butanol ได้ส่วนสกัดดังแผนภาพ 2.2



รูปที่ 25 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบสลัดไถลายเหลือง

ตารางที่ 2.1 แสดงน้ำหนักและลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดลำดับส่วนของต้นสลัดโตลายเหลือง

ส่วนสกัด	น้ำหนักของสาร (กรัม)	ลักษณะของสาร
Hexane extract	94.02	ของเหลวหนืดสีเขียวดำ
ethyl acetate extract	33.11	ของแข็งสีเขียวเข้ม
<i>n</i> -butanol extract	25.43	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน
water extract	120.06	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง

## 2.5 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น Hexane ของต้นสลัดโตลายเหลือง โดยใช้เทคนิค Flash column chromatography

นำส่วนสกัดชั้น Hexane แบ่งมา (46.15 กรัม, ของเหลวหนืดสีเขียวดำ) เคลือบลงบน silica gel 138.46 กรัม ซะ flash column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.20 cm โดยใช้ solvent gradient condition โดยเริ่มจาก 100% Hexane, EtOAc: Hexane, EtOAc, MeOH ตรวจสอบ TLC และรวมสารที่มีองค์ประกอบเหมือนกัน ระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งน้ำหนักสารในแต่ละ fractions แบ่งสารได้ 35 fractions (EL-H-1 ถึง EL-H-35) แสดงดังตารางที่ 2.2

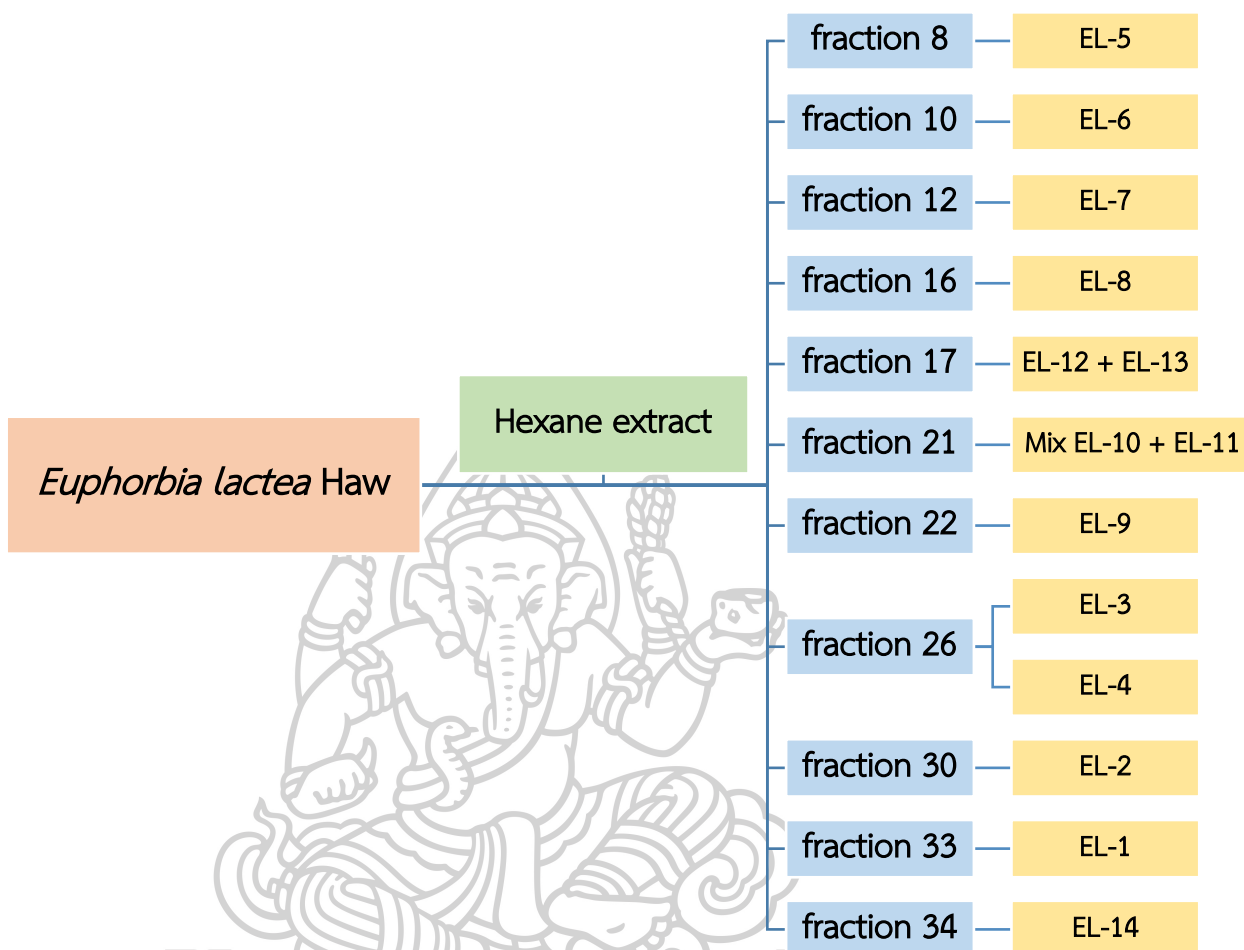
ตารางที่ 2.2 แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H

fraction	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะสาร
EL-H-1	1.3138	ผลึกสีขาว + Oil สีเหลือง
EL-H-2	1.1905	Oil สีเหลือง
EL-H-3	0.7205	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-4	0.1084	ผลึกสีขาว + Oil สีเหลือง
EL-H-5	0.4777	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-6*	0.6030	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-7	0.3909	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-8*	0.3297	ผลึกสีขาว + Oil สีเหลือง
EL-H-9	0.8036	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-10	0.8115	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

ตารางที่ 2.2 แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H (ต่อ)

fraction	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะสาร
EL-H-11	1.5081	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-12*	2.3503	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
EL-H-13	1.1072	ผลึกสีขาว + Oil สีเขียว
EL-H-14*	2.1090	ผลึกสีขาว + Oil สีเขียว
EL-H-15	0.5587	ผลึกสีขาว + Oil สีเขียว
EL-H-16*	0.5584	ผลึกสีขาว + Oil สีเขียว
EL-H-17	1.2710	ผลึกสีขาว + Oil สีเขียว
EL-H-18	0.3248	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
EL-H-19	1.2650	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
EL-H-20	2.1167	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21	1.2848	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22	0.7758	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-23	0.1499	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-24	0.7476	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-25	0.6654	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26	0.5240	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-27	0.1850	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-28	0.3773	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-29	0.7774	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30	0.9549	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-31	0.4415	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-32	0.3278	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-33	0.3103	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-34	0.2987	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-35	0.3034	ของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม

### 2.5.1 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด hexane ของลำต้นสลัดไถลายเหลือง



รูปที่ 26 แผนผังการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด hexane ของลำต้นสลัดไถลายเหลือง

### 2.5.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-33 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-33 (310.3 มิลลิกรัม, ของแข็งสีเขียวเข้ม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (980.5 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.8 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง  $\text{CHCl}_2$ : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 100:3:1, 90:3:1, 80:3:1 และ 70:3:1 พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 7 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ



ประมาณ 45°C ได้สารทั้งหมด 6 fraction ได้แก่ EL-H-33-1 ถึง EL-H-33-6 แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-33

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-33-1	26.5	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-H-33-2	20.4	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-H-33-3	7.0	ของแข็งสีขาว
EL-H-33-4	26.0	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-H-33-5	45.1	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-H-33-6	25.3	ของแข็งสีเขียวอ่อน

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ EL-H-33-3 (7.0 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า TLC chromatogram มีเพียง 1 spot ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)

### 2.5.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-30 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-30 (954.0 มิลลิกรัม, ของแข็งสีเขียวเข้ม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (2,890.4 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง  $\text{CHCl}_2$ : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  ในอัตราส่วน ดังนี้ 100:3:1 พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกันนำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 11 fraction (EL-H-30-1 ถึง EL-H-30-11) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-30

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-30-1	126.2	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-2	63.6	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-3	129.8	ของเหลวหนืดสีเหลือง
EL-H-30-4	104.9	ของเหลวหนืดสีเหลือง
EL-H-30-5	40.3	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-6	27.7	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-7	17.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-8	10.3	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-9	14.8	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-10	79.8	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-30-11	50.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ EL-H-30-3 (129.8 มิลลิกรัม) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่  $-\text{OH}$  จึงทำให้สารมีขั้วที่สูง และไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าว มาทำปฏิกิริยา acetylation

#### การทำ Acetylation ของ EL-H-30-3

นำ Fraction EL-H-30-3 (20.9 มิลลิกรัม) ใส่ลงใน round bottom flask หลังจากนั้นเติม pyridine 1.00 mL และ acetic anhydride 1.00 mL ตั้ง reflux ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 10% HCl ประมาณ 10 mL นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย Ethyl Acetate แล้วนำสารละลายในชั้น EtOAc มาเติม  $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำออก นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ ประมาณ 45 องศาเซลเซียส ได้ Crude product หนัก 40.5 mg จากนั้นนำไปแยกด้วย column chromatography (silica gel) mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7%, 10% และ 15% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC ได้ผลิตภัณฑ์ (EL-H-30-3Ac-2) น้ำหนัก 13.7 mg มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว เมื่อนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้าง

และเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสาร EL-H-30-3Ac-2 ชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น *ent*-16S,17-dihydriacetylkuaran-3-one (EL-2Ac)

#### 2.5.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-26 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-26 (524.0 มิลลิกรัม, ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม) ละลายด้วย CHCl<sub>2</sub> และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (1,597.2 มิลลิกรัม) 3-4 เท่า ของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Mix Hexane + Benzene ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7%, 10% และ 15% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ ประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 15 fraction (EL-H-26-1 ถึง EL-H-26-15) แสดงข้อมูลน้ำหนัก และลักษณะของสารในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-26-1	7.2	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-2	3.2	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-3	2.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-4	4.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-5	4.9	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-6	7.7	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-7	3.9	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-8	16.3	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-9	4.8	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-10	50.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-11	110.3	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-12	65.9	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-13	117.9	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

ตารางที่ 2.5 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26 (ต่อ)

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-26-14	17.1	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-26-15	18.1	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ EL-H-26-10 (50.4 มิลลิกรัม , ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ จึงได้ทำการแยกต่อโดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography

นำสาร fraction EL-H-26-10 (50.4 มิลลิกรัม, ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม) ละลายด้วย MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel 3-4 เท่าของน้ำหนักสาร และนำไปเคลือบลงบน RP-18 column

ชะ RP-18 column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH: H<sub>2</sub>O (4:1) พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL และล้าง column ด้วย 100% MeOH ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC (Thin Layer Chromatography) จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 4 fraction (EL-H-26-10-1 ถึง EL-H-26-10-4) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26-10

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-26-10-1	5.80	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-10-2	5.30	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-10-3	4.70	ของแข็งสีขาว

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ EL-H-26-10-1 (5.8 มิลลิกรัม , ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีเพียง 1 spot ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสาร EL-H-26-10-1 ชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (**EL-3**)

### 2.5.5 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-26-11 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography

นำสาร fraction EL-H-26-11 (110.3 มิลลิกรัม) ละลายด้วย MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel 3-4 เท่าของน้ำหนักสาร และนำไปเคลือบลงบน RP-18 column ซะ RP-18 column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH: H<sub>2</sub>O (4:1) พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL และล้าง column ด้วย 100% MeOH ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC (Thin Layer Chromatography) จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 8 fraction (EL-H-26-11-1 ถึง EL-H-26-11-8) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-26-11

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-26-11-1	5.3	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-11-2	6.5	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-11-3	4.7	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-11-4	29.1	ของแข็งสีขาว
EL-H-26-11-5	7.2	ของแข็งสีเขียวยอ่อน
EL-H-26-11-6	13.2	ของแข็งสีเขียวยอ่อน
EL-H-26-11-7	17.4	ของแข็งสีเขียวยอ่อน
EL-H-26-11-8	20.1	ของแข็งสีเขียวยอ่อน

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ EL-H-26-11-2 (6.5 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีเพียง 1 spot ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสาร EL-H-26-11-2 ชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (**EL-4**)

### 2.5.6 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารในกลุ่ม triterpene โดยการตกผลึกซ้ำ (recrystallization)

นำ Fraction **EL-H-6** น้ำหนัก 0.6030 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) ด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ (**EL-5**) ซึ่งเป็นผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.1069 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น friedelin (**EL-5**)

นำ Fraction **EL-H-8** น้ำหนัก 0.3297 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) ด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ (**EL-6**) ซึ่งเป็นผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.3001 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น friedelan-3 $\beta$ -ol (**EL-6**)

นำ Fraction **EL-H-12** น้ำหนัก 2.5303 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) ด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ (**EL-7**) ซึ่งเป็นผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.2006 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น taraxerol (**EL-7**)

นำ Fraction **EL-H-16** น้ำหนัก 0.5584 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) ด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ (**EL-8**) ซึ่งเป็นผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.3023 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น friedelan-3 $\alpha$ -ol (**EL-8**)

### 2.5.7 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-22 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-22 (775.8 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (2,427.5 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7% และ 10% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ  $45^\circ\text{C}$  แยกสารได้ทั้งหมด 9 fraction (EL-H-22-1 ถึง EL-H-22-9) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-22

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-22-1	12.8	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-2	9.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-3	5.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-4	15.0	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-5	90.5	ของแข็งสีขาวอ่อน
EL-H-22-6	51.7	ของแข็งสีขาวอ่อน
EL-H-22-7	48.6	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-8	40.6	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-22-9	78.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

นำ fraction EL-H-22-5 น้ำหนัก 0.0905 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) โดยล้างผลึกด้วย 100% Hexane และนำไปตกผลึกอีกรอบด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.0211 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (**EL-9**)

### 2.5.8 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-21 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-21 (1,284.8 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (3,860.5 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7% และ 10% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ  $45^\circ\text{C}$  แยกสารได้ทั้งหมด 9 fraction (EL-H-21-1 ถึง EL-H-21-9) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-21

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-21-1	12.8	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-2	9.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-3	5.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-4	15.0	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-5	90.5	ของแข็งสีขาวอ่อน
EL-H-21-6	51.7	ของแข็งสีขาวอ่อน
EL-H-21-7	48.6	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-8	40.6	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-H-21-9	78.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

นำ Fraction EL-H-21-5 น้ำหนัก 0.0905 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) โดยล้างผลึกด้วย 100% Hexane และนำไปตกผลึกอีกรอบด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้ผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.0211 กรัม (นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็นของผสมระหว่าง 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11)



## 2.5.9 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-17 โดยใช้เทคนิค การตกผลึก (Recrystallization)

นำ Fraction **EL-H-17** น้ำหนัก 1.2720 กรัม มาตกผลึกซ้ำ (recrystallization) ด้วย ethanol และให้ความร้อนบน hotplate ได้สารผสมระหว่าง (**EL-12 และ EL-13**) ซึ่งเป็นผลึกที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.0534 กรัม นำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเหมือนกับสารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol (**EL-12**) และ stigmasterol (**EL-13**)

## 2.5.10 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-34 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-H-34 (1,238.7 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาวขี้ม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (3587.2 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง  $\text{CHCl}_2$ : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 100:3:1, 90:3:1, 80:3:1 และ 70:3:1 พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้อุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ  $45^\circ\text{C}$  แยกสารได้ทั้งหมด 12 fraction (EL-H-34-1 ถึง EL-H-34-12) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-34

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-34-1	177.3	ของแข็งสีขาว
EL-H-34-2	94.2	ของแข็งสีขาว
EL-H-34-3	25.4	ของแข็งสีขาว
EL-H-34-4	4.5	ของแข็งสีขาว
EL-H-34-5	312.1	ของแข็งสีขาวขี้ม
EL-H-34-6	113.6	ของแข็งสีขาว
EL-H-34-7	84.2	ของแข็งสีขาวขี้ม
EL-H-34-8	63.4	ของแข็งสีขาวขี้ม
EL-H-34-9	135.6	ของแข็งสีขาวขี้ม

ตารางที่ 2.10 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-34 (ต่อ)

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-H-34-10	36.2	ของแข็งสีเขียวเข้ม
EL-H-34-11	11.3	ของแข็งสีเขียวเข้ม
EL-H-34-12	122.1	ของแข็งสีเขียวเข้ม

### 2.5.11 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-H-34-1 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ EL-H-34-1 (177.3 มิลลิกรัม) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่  $-\text{OH}$  จึงทำให้สารมีขั้วที่สูง และไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าว มาทำปฏิกิริยา acetylation

นำ fraction EL-H-34-1 (50.1 มิลลิกรัม) ใส่ลงใน round bottom flask หลังจากนั้นเติม pyridine 1.00 mL และ acetic anhydride 1.00 mL ตั้ง reflux ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 10% HCl ประมาณ 10 mL นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย ethyl acetate แล้วนำสารละลายในชั้น EtOAc มาเติม  $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำออก นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ ประมาณ 45 องศาเซลเซียส ได้ Crude product หนัก 70.5 mg จากนั้นนำไปแยกด้วย column chromatography (silica gel) mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 10%, 20%, 30% และ 40% พร้อมเก็บ fraction พร้อมเก็บ ตามลำดับครั้งละ 5 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC ได้ผลิตภัณฑ์ (EL-H-34-1Ac-2) น้ำหนัก 28.3 mg มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีขาว เมื่อนำไปตรวจสอบโครงสร้าง โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสาร EL-H-34-1Ac-2 ชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น  $\beta$ -sitosterol glucoside acetate (EL-14Ac)

## 2.6 การแยกสารจากส่วนสกัดชั้น ethyl acetate ของต้นสลัดโตลายเหลือง โดยใช้เทคนิค Flash column chromatography

นำส่วนสกัดชั้น ethyl acetate (30.13 กรัม, ของแข็งสีเขียวดำ) เคลือบลงบน silica gel 99.39 กรัม เคลือบลงบน silica gel 138.46 กรัม ชะ flash column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.20 cm โดยใช้ solvent gradient condition โดยเริ่มจาก 100% Hexane, EtOAc: Hexane, EtOAc, MeOH ตรวจสอบ TLC และรวมสารที่มีองค์ประกอบเหมือนกัน ระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักสารในแต่ละ fractions แบ่งสารได้ 25 fractions (EL-E-1 ถึง EL-E-25) แสดงดังตารางที่ 2.11

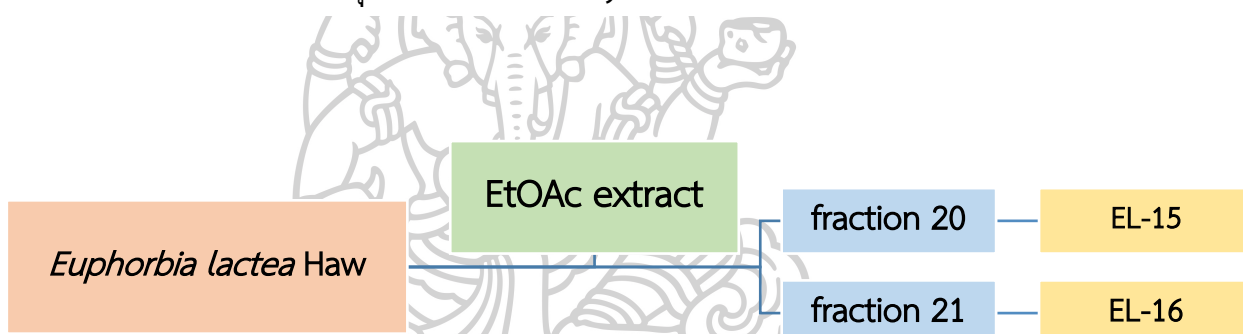
ตารางที่ 2.11 แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-E

fraction	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะสาร
EL-E-1	0.6666	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-2	1.9228	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-3	1.3179	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-4	1029.10	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-5	211.60	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-6	281.50	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-7	37.70	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-8	86.10	Oil สีเหลือง + ผลึกสีขาว
EL-E-9	28.40	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-E-10	168.70	ของแข็งสีเขียวเข้ม
EL-E-11	86.20	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-12	78.40	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-13	320.50	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-14	1357.60	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-15	736.30	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-16	2.0066	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-17	3.5285	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-18	1.2924	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

ตารางที่ 2.11 (ต่อ) แสดงตัวทำละลายที่ใช้ ลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-E

fraction	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะสาร
EL-E-19	1.8415	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-20	2.2748	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-21	0.5921	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-22	1.3743	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-23	2.5829	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-24	0.9797	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

### 2.6.1 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นสลอดลายเหลือง



รูปที่ 27 แผนผังการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นสลอดลายเหลือง

### 2.6.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-20 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-E-20 (แบ่งมา 510.1 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (1,554.0 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใส Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7% และ 10% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ  $45^\circ\text{C}$  แยกสารได้ทั้งหมด 6 fractions (EL-E-20-1 ถึง EL-E-20-6) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 แสดงลักษณะและน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-20

Fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-E-20-1	80	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-20-2	19.9	ของแข็ง + Oil สีเหลือง
EL-E-20-3	30.3	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-20-4	56.2	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-20-5	12.3	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-E-20-6	74.9	ของแข็งสีเขียวอ่อน

### 2.6.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-20-4 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography

นำสาร fraction EL-E-20-4 (56.2 มิลลิกรัม, ของแข็งสีเหลือง) ละลายด้วย H<sub>2</sub>O และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (153.4 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักสาร และนำไปเคลือบลงบน RP-18 column ซะ RP-18 column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH: H<sub>2</sub>O (2:1) และล้าง column ด้วย 100% MeOH ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 2 fractions (EL-E-20-4-1 ถึง EL-E-20-4-2) แสดงข้อมูลในตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.13 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-E-20-4

fraction	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-E-20-4-1	31.1	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-20-4-2	6.2	ของแข็งสีเหลือง

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) แบบ reversed phase (RP-18) ของ fraction (EL-E-20-4-1 และ EL-E-20-4-2) มีลักษณะสารและ TLC ขึ้นที่ค่า R<sub>f</sub> ใกล้เคียงกันจึงได้นำมารวมกันได้ เป็น EL-E-20-4-2 (37.3 มิลลิกรัม, ของแข็งสีเหลือง) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจจากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่ -OH จึงทำให้สารมีขั้วที่สูงและไม่สามารถแยกให้

บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าวมาทำปฏิกิริยา acetylation

#### การทำ Acetylation ของ EL-E-20-4-1

นำ Fraction EL-E-20-4-2 (10.5 มิลลิกรัม) ใส่ลงใน round bottom flask หลังจากนั้นเติม pyridine 1.00 mL และ acetic anhydride 1.00 mL ตั้ง reflux ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 10% HCl ประมาณ 10 mL นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย Ethyl Acetate แล้วนำสารละลายในชั้น EtOAc มาเติม anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำออก นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ได้ Crude product หนัก 14.1 mg จากนั้นนำไปแยกด้วย column chromatography (silica gel) mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 5%, 10%, 15%, 20%, 25% และ 30% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL ได้ผลิตภัณฑ์ EL-H-20-4-2Ac-2 (7.5 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ Fraction EL-E-20-4-2Ac-2 (7.5 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น Afzelin acetate (**EL-15Ac**)

#### 2.6.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน EL-E-21 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

นำสาร fraction EL-E-21 (แบ่งมา 592.1 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (1,554.0 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ชะ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 1%, 2%, 3%, 5%, 7% และ 10% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 10 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C แยกสารได้ทั้งหมด 13 fraction (EL-E-21-1 ถึง EL-E-21-13) ดังตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ EL-H-21

Code No.	น้ำหนักของสาร (mg)	ลักษณะของสาร
EL-E-21-1	24.5	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-21-2	32.0	ของแข็ง + Oil สีเหลือง
EL-E-21-3	38.4	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
EL-E-21-4	44.7	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-5	53.7	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-E-21-6	13.4	ของแข็งสีเขียวอ่อน
EL-E-21-7	35.4	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-8	21.8	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-9	35.7	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-10	21.6	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-11	19.9	ของแข็งสีเหลือง
EL-H-21-12	42.1	ของแข็งสีเหลือง
EL-E-21-13	18.8	ของแข็งสีเหลือง

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ Fraction EL-E-21-12 พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad อาจจะเป็นไปได้ว่ามีน้ำตาลติดอยู่กับโครงสร้าง เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้าง จึงต้องนำสารมาทำปฏิกิริยา acetylation (การเปลี่ยนหมู่  $-\text{OH}$  ให้เป็น หมู่ $-\text{OAc}$ )

#### การทำ Acetylation ของ EL-E-20-4-1

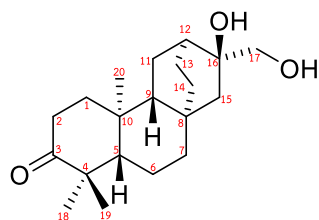
นำ Fraction EL-E-21-12 (42.1 มิลลิกรัม) ใส่ลงใน round bottom flask หลังจากนั้นเติม pyridine 1.00 mL และ acetic anhydride 1.00 mL ตั้ง reflux ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 10% HCl ประมาณ 10 mL นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย ethyl acetate แล้วนำสารละลายในชั้น ethyl acetate มาเติม  $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำออก นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ได้ Crude product หนัก 63.1 mg จากนั้นนำไปแยกด้วย column chromatography (silica gel) mobile phase gradient ความเข้มข้นที่เป็นอัตราส่วน

ระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 5%, 10%, 15%, 20%, 25% และ 30% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL ได้ผลิตภัณฑ์ EL-E-21-12Ac-4 (32.1 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว)

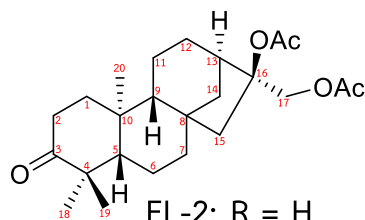
เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ Fraction EL-E-21-12Ac-4 (32.1 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS เมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น Quercitrin acetate (**EL-16Ac**)





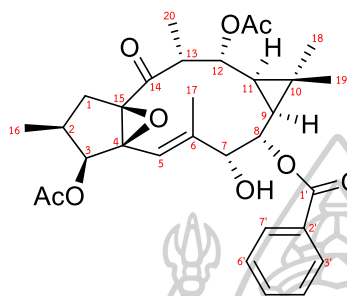


EL-1

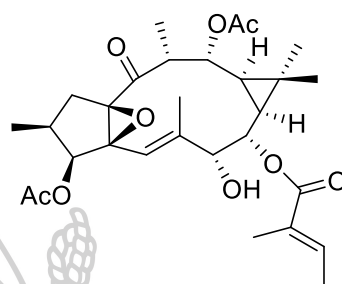


EL-2: R = H

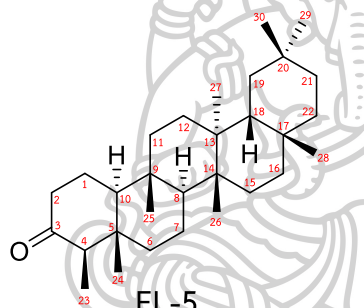
EL-2Ac: R = OAc



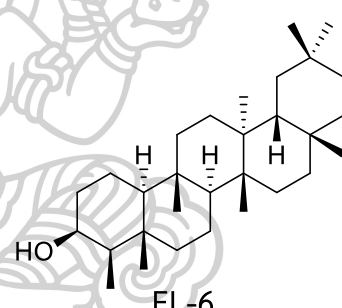
EL-3



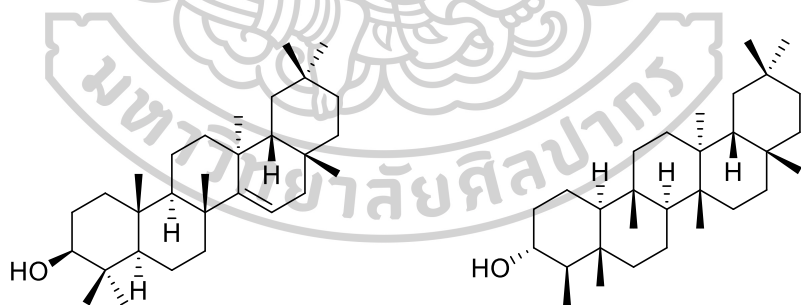
EL-4



EL-5

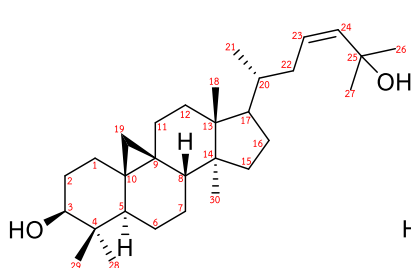


EL-6

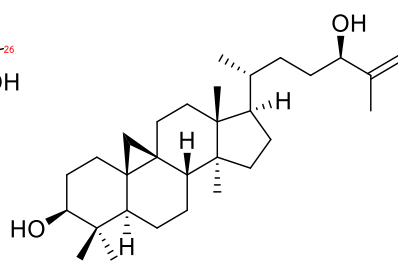


EL-7

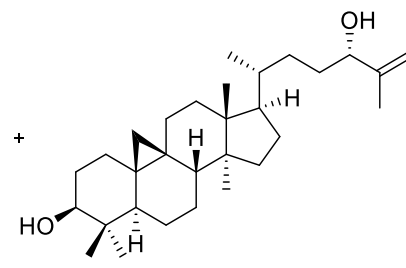
EL-8



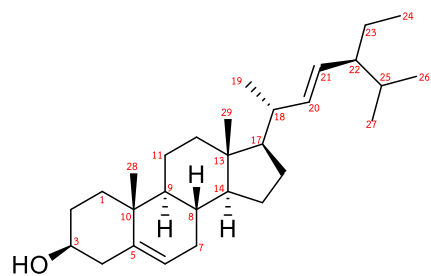
EL-9



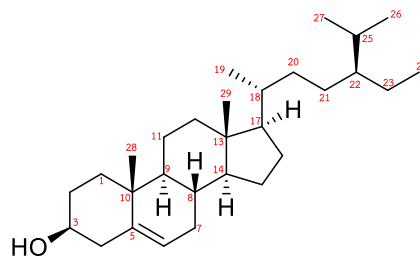
EL-10



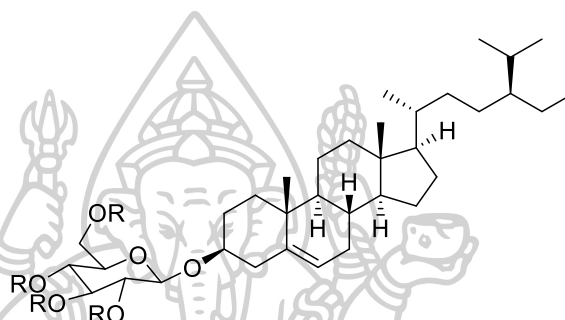
EL-11



EL-12

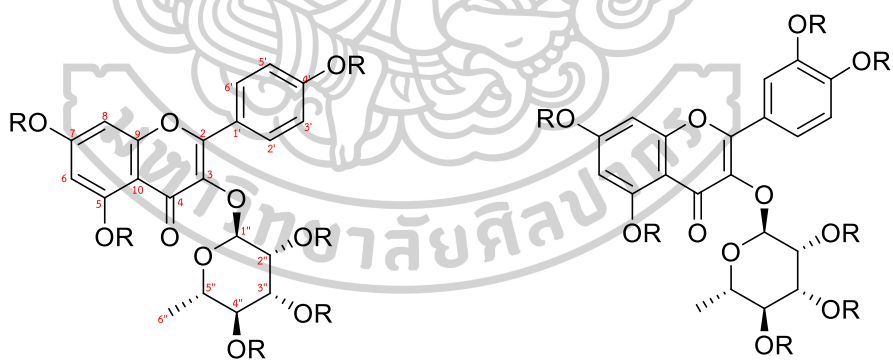


EL-13



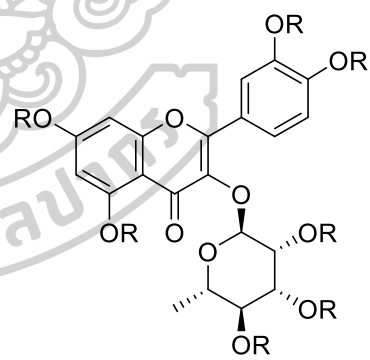
EL-14 : R = OH

EL-14Ac : R = OAc



EL-15 : R = OH

EL-15Ac : R = OAc



EL-16: R = OH

EL-16Ac : R = OAc

รูปที่ 28 แสดงโครงสร้างสารที่แยกได้จากสัดไต่ลายเหลือง

ตารางที่ 2.15 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-1

(ent-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	38.0	1.38 (m), 1.86 (m)	C-2, C-3, C-10
2	34.1	2.33 (ddd, $J = 9.1, 6.9, 6.8$ Hz), 2.58 (ddd, $J = 9.1, 6.9, 6.8$ Hz)	C-3, C-10
3	217.4	-	-
4	47.6	-	-
5	55.7	1.30 (m)	C-3, C-4, C-6, C-10, C-18, C-19
6	19.7	1.48 (m)	C-8, C-9, C-10
7	38.8	1.18 (m), 1.42 (m)	C-5, C-8, C-9, C-10
8	32.9	-	-
9	50.9	1.32 (m)	C-7, C-10, C-11, C-12, C-20
10	37.2	-	-
11	23.0	1.23 (m), 2.04 (m)	C-8, C-12, C-13, C-14
12	32.2	1.82 (m)	C-15
13	23.2	1.52 (m), 1.63 (m)	C-16
14	27.2	0.86 (m), 1.87 (m)	C-8, C-9, C-15
15	52.5	1.10 (m), 1.24 (m)	C-8, C-13, C-14, C-16
16	74.1	-	-
17	69.0	3.40 (d, $J = 11.0$ Hz), 3.55 (d, $J = 11.0$ Hz)	C-12, C-15, C-16
18	26.2	1.08 (s)	C-3, C-4, C-5, C-19
19	21.6	1.05 (s)	C-3, C-4, C-5, C-18
20	13.5	1.11 (s)	C-1, C-5, C-9, C-10

ตารางที่ 2.16 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-2Ac  
(ent-16S,17-diacetylkuaran-3-one acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	39.2	1.41 (m), 2.02 (m)	C-2, C-3, C-5, C-10
2	34.0	2.49 (d, $J = 8.6$ Hz)	C-1, C-3, C-4, C-10
3	217.9	-	-
4	47.1	-	-
5	54.2	1.16 (d, $J = 7.0$ Hz)	C-3, C-5, C-6, C-7
6	21.2	1.45 (m)	C-5, C-8, C-9
7	40.5	1.50 (m)	C-5, C-8, C-10
8	43.1	-	-
9	55.5	1.43 (m)	C-6, C-7, C-10
10	38.5	-	-
11	19.3	1.60 (m), 1.73 (m)	C-8, C-9, C-10
12	26.8	1.75 (m), 1.56 (m)	C-8, C-9, C-14
13	41.1	2.47 (d, $J = 8.6$ Hz)	-
14	36.8	1.15 (m), 1.95 (m)	C-9, C-15, C-16
15	50.3	1.85 (m), 1.70 (m)	C-8, C-9, C-16
16	86.8	-	-
17	66.0	4.40 (dd, $J = 1.5$ Hz)	C-13, C-15, C-16, $\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -16
18	27.3	1.08 (s)	C-4
19	21.0	1.03 (s)	C-4
20	17.6	1.07 (s)	C-1, C-9, C-10
$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -16	170.6	-	-
$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -16	21.7	2.04 (s)	$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -16
$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -17	170.9	-	-
$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -17	20.9	2.08 (s)	$\text{O}(\text{O})\text{CH}_3$ -17

ตารางที่ 2.17 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-3

(3,12-diacetyl-8-benzoylingol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	31.8	1.70 (dd, $J = 15.0, 0.9$ Hz) 2.84 (dd, $J = 15.0, 9.2$ Hz)	C-2, C-3, C-4, C-15, C-16
2	29.8	2.59 (m)	C-4, C-5, C-16
3	77.7	5.23 (d, $J = 8.4$ Hz)	C-1, C-2, C-5, C-16, $\text{OC(O)CH}_3$ -3
4	71.5	-	-
5	116.8	5.85 (brs)	C-6, C-7, C-15, C-16
6	141.3	-	-
7	76.4	4.40 (s)	C-5, C-6, C-8, C-9, C-17
8	75.1	4.78 (dd, $J = 10.6, 1.4$ Hz)	C-9, C-11, C-1'
9	23.6	1.55 (dd, $J = 10.6, 9.3$ Hz)	C-7, C-8, C-10, C-12, C-18, C-19
10	19.3	-	-
11	31.1	1.18 (dd, $J = 11.0, 9.3$ Hz)	C-8, C-12, C-10, C-19
12	70.8	4.92 (dd, $J = 11.0, 3.9$ Hz)	C-10, C-11, C-14, $\text{OC(O)CH}_3$ -12
13	43.4	2.96 (m)	C-14, C-20
14	207.6	-	-
15	73.8	-	-
16	17.0	0.92 (d, $J = 7.4$ Hz)	C-1, C-2, C-3
17	17.5	2.12 (s)	C-5, C-6, C-7
18	29.2	1.14 (s)	C-9, C-10, C-11, C-18
19	16.4	0.85 (s)	C-9, C-10, C-11, C-19
20	13.4	1.10 (d, $J = 7.4$ Hz)	C-13, C-14
$\text{OC(O)CH}_3$ -3	170.7	-	-
$\text{OC(O)CH}_3$ -3	21.0	2.09 (s)	$\text{OC(O)CH}_3$ -3
$\text{OC(O)CH}_3$ -12	170.4	-	-
$\text{OC(O)CH}_3$ -12	20.7	2.12 (s)	$\text{OC(O)CH}_3$ -12
1'	166.1	-	-

ตารางที่ 2.17 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-3  
(3,12-diacetyl-8-benzoylingol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
2'	129.9	-	-
3'	129.7	8.06 (m)	C-5', C-7'
4'	128.6	7.47 (m)	C-2', C-6'
5'	133.3	7.60 (m)	C-3'
6'	128.6	7.47 (m)	C-2', C-4'
7'	129.7	8.06 (m)	C-3', C-5'



ตารางที่ 2.18 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-4

(3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\longrightarrow$ C)
1	31.8	1.70 (dd, $J = 15.0, 0.9$ Hz) 2.84 (dd, $J = 14.9, 9.2$ Hz)	C-2, C-3, C-4, C-15, C-16
2	29.7	2.59 (m)	C-4, C-16
3	77.7	5.21 (d, $J = 8.4$ Hz)	C-16, $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -3
4	71.4	-	-
5	116.6	5.80 (s)	C-6, C-7, C-15, C-16
6	141.4	-	-
7	76.4	4.29 (s)	C-5, C-6, C-8, C-9, C-17
8	74.4	4.57 (dd, $J = 10.7, 1.4$ Hz)	C-9, C-11, C-1'
9	23.7	1.43 (m)	C-8, C-10, C-18
10	19.1	-	-
11	31.0	1.18 (m)	C-8, C-10, C-12, C-19
12	70.8	4.87 (dd, $J = 11.1, 3.9$ Hz)	C-10, C-11, C-14, $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -12
13	43.3	2.94 (m)	C-14, C-20
14	207.6	-	-
15	73.8	-	-
16	17.0	0.92 (d, $J = 7.3$ Hz)	C-1, C-2, C-3
17	17.5	2.11 (s)	C-5, C-6, C-7
18	29.1	1.12 (m)	C-9, C-10, C-11, C-18
19	16.4	0.83 (s)	C-9, C-10, C-11, C-19
20	13.3	1.10 (d, $J = 6.2$ Hz)	C-13, C-14
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -3	170.7	-	-
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -3	20.7	2.07 (s)	$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -3
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -12	170.5	-	-
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -12	21.0	2.10 (s)	$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -12
1'	167.5	-	-

ตารางที่ 2.18 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-4  
(3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
2'	128.4	-	-
3'	138.2	6.90 (m)	C-1', C-4', C-5'
4'	14.5	1.80 (m)	C-2'
5'	12.1	1.83 (m)	C-1', C-3'





ตารางที่ 2.19 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-5  
(friedelin,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	22.3	1.69 (m), 1.97 (m)	C-2
2	41.5	2.26 (s)	C-24
3	213.3	-	-
4	58.2	2.25 (q, J=6.3 Hz)	C-3, C-5, $\text{CH}_3$ -23, $\text{CH}_3$ -24
5	42.1	-	-
6	41.3	2.40 (m), 1.75 (m)	C-7, C-8, C-10
7	18.2	1.37 (m), 1.48 (m)	C-6, C-8
8	53.1	1.36 (m)	C-7, $\text{CH}_3$ -25, $\text{CH}_3$ -26
9	37.4	-	-
10	59.4	1.48 (m)	C-1, C-2, $\text{CH}_3$ -24, $\text{CH}_3$ -25
11	35.6	1.18 (s), 1.34 (m)	C-8, C-10, C-12, $\text{CH}_3$ -25
12	30.5	1.31 (m), 1.39 (m)	C-18, C-27
13	39.7	-	-
14	38.3	-	-
15	32.4	1.25 (m), 1.48 (m)	C-26
16	36.0	1.37 (m), 1.59 (m)	C-18, C-28
17	30.0	-	-
18	42.8	1.54 (m)	C-15, $\text{CH}_3$ -27, $\text{CH}_3$ -28
19	35.3	0.93 (m)	C-18
20	28.2	-	-
21	32.8	1.52 (m)	$\text{CH}_3$ -22, $\text{CH}_3$ -30
22	39.3	0.89 (s), 1.46 (m)	$\text{CH}_3$ -28
23	6.8	0.89 (3H, d, J= 6.3 Hz)	C-3, C-4, C-5
24	14.7	0.73 (s)	C-4, C-5, C-6
25	17.9	0.87 (s)	C-8, C-9, C-10
26	20.3	1.01 (s)	C-8, C-13, C-14, C-15

ตารางที่ 2.19 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-5  
(friedelin,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
27	18.7	1.05 (s)	C-12, C-13, C-14, C-18
28	32.1	1.18 (s)	C-16, C-17, C-22
29	31.8	1.00 (s)	$\text{CH}_3$ -30
30	35.0	0.95 (s)	$\text{CH}_3$ -29



ตารางที่ 2.20 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-6  
(friedelan-3 $\beta$ -ol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	15.8	1.52 (m), 1.59 (m)	C-3
2	35.2	1.90 (m)	C-3, C-4, C-10
3	72.8	3.73 (1H, m)	C-1, C-2, C-4, C-5
4	49.2	1.25 (m)	$\text{CH}_3$ -23, $\text{CH}_3$ -24
5	37.8	-	-
6	41.7	0.98 (m), 1.73 (dt, $J = 9.6, 3.3$ Hz)	C-7, C-8, H-10, $\text{CH}_3$ -24
7	17.6	1.40 (m), 1.37 (m)	C-6
8	53.2	1.39 (m)	C-6, C-9
9	37.1	-	-
10	61.3	0.92 (s)	C-2, C-6, C-8
11	35.6	1.38 (m), 1.39 (m)	$\text{CH}_3$ -25
12	30.6	1.33 (m), 1.35 (m)	$\text{CH}_3$ -27
13	38.4	-	-
14	39.7	-	-
15	32.3	1.19 (m), 1.29 (m)	$\text{CH}_3$ -26
16	36.1	1.31 (m), 1.52 (m)	$\text{CH}_3$ -28
17	30.0	-	-
18	42.8	1.57 (m)	$\text{CH}_3$ -27, $\text{CH}_3$ -28
19	35.3	1.35 (m), 1.44 (m)	$\text{CH}_3$ -29, $\text{CH}_3$ -30
20	28.2	-	-
21	32.8	1.26 (m), 1.29 (m)	$\text{CH}_3$ -29, $\text{CH}_3$ -30
22	39.3	1.45 (m), 1.49 (m)	$\text{CH}_3$ -28
23	11.6	0.93 (d, $J = 6.0$ Hz)	C-3, C-4, C-5
24	16.4	0.96 (s)	C-4, C-5, C-6, C-10
25	18.3	0.86 (s)	C-8, C-10, C-11
26	20.1	0.99 (s)	C-8

ตารางที่ 2.20 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-6  
(friedelan-3 $\beta$ -ol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
27	18.7	1.01 (s)	C-12, C-13, C-14, C-18
28	32.1	1.01 (s)	C-16, C-17, C-18, C-22
29	31.8	1.00 (s)	C-19, C-20, $\text{CH}_3$ -30
30	35.0	0.95 (s)	C-20, C-21, $\text{CH}_3$ -29



ตารางที่ 2.21 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-7  
(taraxerol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	37.1	1.63 (m)	C-4, C-5, C-9
2	27.1	1.59 (m)	C-3
3	79.1	3.19 (m)	C-2, C-4, $\text{CH}_3$ -23, $\text{CH}_3$ -24
4	38.8	-	-
5	55.5	0.79 (m)	C-6, $\text{CH}_3$ -23, $\text{CH}_3$ -24, $\text{CH}_3$ -25
6	18.8	1.49 (m), 1.64 (m)	C-5, C-7
7	41.3	1.34 (m), 2.03 (t, $J = 12.5, 3.2$ Hz)	C-5, C-6, C-8, C-9
8	39.0	-	-
9	49.3	1.43 (m)	C-7, $\text{CH}_3$ -25, $\text{CH}_3$ -26
10	38.0	-	-
11	17.5	1.51 (m), 1.62 (m)	C-9
12	33.1	1.36 (m)	C-11, $\text{CH}_3$ -27
13	37.6	-	-
14	158.1	-	-
15	116.9	5.53 (dd, $J = 8.2, 3.2$ Hz)	C-8, C-14, C-16, C-17, C-18, $\text{CH}_3$ -27
16	37.73	1.63 (m), 1.91 (dd, $J = 14.7, 3.1$ Hz)	C-14, C-15, C-17, C-18, $\text{CH}_3$ -28
17	35.8	-	-
18	48.7	0.96 (m)	C-15, C-16, $\text{CH}_3$ -27, $\text{CH}_3$ -28
19	36.7	0.96 (m), 1.30 (m)	$\text{CH}_3$ -29, $\text{CH}_3$ -30
20	28.8	-	-
21	33.7	1.53 (m)	$\text{CH}_3$ -29, $\text{CH}_3$ -30
22	35.1	1.02 (m), 1.35 (m)	$\text{CH}_3$ -28
23	28.0	0.98 (s)	C-3, C-4, C-5
24	15.5	0.80 (s)	C-3, C-4, C-5
25	15.4	0.93 (s)	C-5, C-9

ตารางที่ 2.21 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-7  
(taraxerol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
26	25.9	1.09 (s)	C-7, C-8, C-9, C-14
27	21.3	0.90 (s)	C-14, C-18
28	29.8	0.82 (s)	C-18, C-22
29	33.4	0.95 (s)	C-20, $\text{CH}_3$ -30
30	29.9	0.90 (s)	C-20, $\text{CH}_3$ -29



ตารางที่ 2.22 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-8  
(friedelan-3 $\alpha$ -ol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	19.6	1.33 (m), 1.60 (m)	C-2
2	36.7	1.22 (m), 2.06 (m)	C-1, C-3, C-4, C-10
3	72.2	3.35 (td, $J = 10.5, 4.9$ )	C-2, $\text{CH}_3$ -23
4	53.2	1.07 (m)	C-2, C-6, $\text{CH}_3$ -24
5	38.1	-	-
6	41.4	1.03 (m), 1.77 (dt, $J = 12.8, 3.2$ Hz)	C-5, C-7, C-8, $\text{CH}_3$ -24
7	17.8	1.01 (s), 1.35 (m)	C-6
8	53.0	1.30 (m)	C-6, $\text{CH}_3$ -25
9	37.0	-	-
10	60.1	0.94 (s)	C-2, $\text{CH}_3$ -24, $\text{CH}_3$ -25
11	35.5	1.37 (m), 1.59 (m)	$\text{CH}_3$ -25
12	30.6	1.03 (m), 1.29 (m)	$\text{CH}_3$ -27
13	38.3	-	-
14	39.7	-	-
15	32.4	0.99 (s), 1.39 (m)	$\text{CH}_3$ -26
16	36.1	1.52 (m), 1.58 (m)	$\text{CH}_3$ -28
17	30.0	-	-
18	42.8	1.56 (m)	$\text{CH}_3$ -27, $\text{CH}_3$ -28
19	35.3	1.21 (m), 1.32 (m)	$\text{CH}_3$ -29
20	28.2	-	-
21	32.8	1.27 (m), 1.47 (m)	$\text{CH}_3$ -29, $\text{CH}_3$ -30
22	39.3	0.94 (s), 1.48 (m)	$\text{CH}_3$ -28
23	9.9	0.89 (d, $J = 6.6$ Hz)	C-3, C-5
24	14.6	0.77 (s)	C-5, C-6, C-8, C-10
25	18.1	0.81 (s)	C-9, C-10, C-11
26	20.2	0.98 (s)	C-13, C-14, C-15

ตารางที่ 2.22 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-8  
(friedelan-3 $\alpha$ -ol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
27	18.7	1.01 (s)	C-12, C-13, C-14, C-18
28	32.1	1.17 (s)	C-14, C-15, C-16, C-18
29	31.8	0.99 (s)	C-19, C-20, C-21, $\text{CH}_3$ -30
30	35.0	0.94 (s)	C-20, C-21, $\text{CH}_3$ -29





ตารางที่ 2.23 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-9  
(cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	32.0	1.54 (m), 1.24 (m)	C-5, C-10
2	30.4	1.60 (m), 1.75 (m)	C-3, C-10, CH <sub>3</sub> -28
3	78.8	3.28 (dd, $J=11.0, 4.4$ Hz)	C-2, C-4, CH <sub>3</sub> -28, CH <sub>3</sub> -29
4	40.5	-	-
5	47.1	1.89 (m)	C-9
6	21.1	0.75 (m)	CH <sub>3</sub> -29, CH <sub>3</sub> -30
7	28.1	1.32 (m)	C-4
8	48.0	1.51 (m)	C-9, C-10, C-11
9	20.0	-	-
10	26.1	-	-
11	26.5	2.00 (m)	C-8, C-9, C-10, C-12, C-13
12	32.8	1.60 (m)	C-9, CH <sub>3</sub> -18
13	45.3	-	-
14	48.8	-	-
15	35.6	1.32 (m)	C-13, C-14
16	26.0	1.08 (m)	C-14, CH <sub>3</sub> -30
17	52.0	1.58 (m)	C-13, H-14
18	18.1	0.97 (s)	C-12, C-13, C-14, C-17
19	29.9	0.56 (d, $J=4.1$ Hz), 0.33 (d, $J=4.1$ Hz)	C-1, C-5, C-8, C-9, C-10, C-11
20	36.4	-	-
21	18.3	0.86 (d, $J=4.5$ Hz)	C-17, C-20, C-22
22	39.0	2.18 (m)	C-23, C-24
23	125.6	5.60 (m)	C-22, C-25
24	139.4	5.60 (m)	C-22, C-25
25	70.8	-	-

ตารางที่ 2.23 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-9  
(cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
26	30.0	1.31 (s)	C-25
27	30.0	1.31 (s)	C-24, C-25
28	14.0	0.81 (s)	C-3, C-4, C-5, $\text{CH}_3$ -29
29	25.4	0.97 (s)	C-3, C-5, $\text{CH}_3$ -28
30	19.3	0.88 (s)	C-8, C-15



ตารางที่ 2.24 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ (EL-10 และ EL-11)

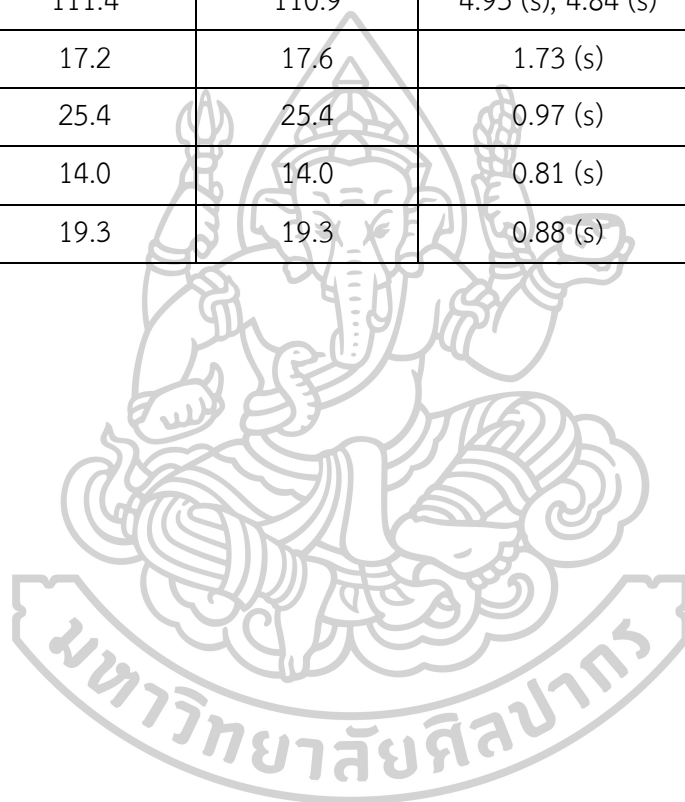
24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11),  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) EL-10	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) EL-11	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	31.9	32.0	1.54 (m), 1.24 (m)	C-5, C-10
2	30.4	30.4	1.58 (m)	C-3, C-10, CH <sub>3</sub> -28
3	78.9	78.8	3.28 (dd, $J=10.8, 4.5$ Hz)	C-2, C-4, CH <sub>3</sub> -28, CH <sub>3</sub> - 29
4	40.5	40.5	-	-
5	47.1	47.1	0.97 (s)	C-9
6	21.1	21.1	0.78 (m)	CH <sub>3</sub> -29, CH <sub>3</sub> -30
7	28.1	28.1	1.30 (m)	C-4
8	48.0	48.0	1.51 (m)	C-9, C-10, C-11
9	20.0	20.0	-	-
10	26.1	26.1	-	-
11	26.0	26.5	1.33 (m), 2.00 (m)	C-9, C-10, C-12, C-19
12	35.6	32.9	1.60 (m)	C-9, CH <sub>3</sub> -18
13	45.3	45.3	-	-
14	48.8	48.8	-	-
15	35.6	35.6	1.30 (m)	C-13, C-14
16	26.5	26.0	1.05 (m)	C-13
17	52.2	52.2	1.57 (m)	C-13
18	18.0	18.0	0.97 (s)	C-12, C-13, C-14, C-17
19	29.9	29.7	0.33 (d, $J = 4.2$ Hz), 0.55 (d, $J = 4.2$ Hz)	C-1, C-5, C-8, C-9, C- 10, C-11
20	36.0	35.9	1.29 (m)	-
21	18.3	18.3	0.97 (s)	C-17, C-22
22	31.9	31.9	1.54 (m), 1.29 (m)	C-23, C-24
23	31.9	31.7	1.58 (m)	C-22, C-25

ตารางที่ 2.24 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ (EL-10 และ EL-11)

24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11),  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) EL-10	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) EL-11	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
24	76.8	76.8	4.02 (t, $J = 6.5$ Hz)	C-22, C-25, C-26, $\text{CH}_3$ -27
25	147.5	147.8	-	-
26	111.4	110.9	4.93 (s), 4.84 (s)	C-24, $\text{CH}_3$ -27
27	17.2	17.6	1.73 (s)	C-22, C-25, C-26
28	25.4	25.4	0.97 (s)	C-3, C-5, $\text{CH}_3$ -29
29	14.0	14.0	0.81 (s)	C-3, C-5, $\text{CH}_3$ -28
30	19.3	19.3	0.88 (s)	C-8, C-13,



ตารางที่ 2.25 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR spectra ของ (EL-12-EL-13)

สารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol (EL-12) และ stigmasterol (EL-13) ใน  $\text{CDCl}_3$  เทียบกับ reference

ตำแหน่ง	EL-12 + EL-13		$\beta$ -sitosterol ( $\text{CDCl}_3$ )		Stigmasterol ( $\text{CDCl}_3$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	-	37.6	-	37.5	-	37.4
2	-	32.0	-	31.9	-	28.4
3	3.53 (m)	72.1	3.49 (m)	72.0	3.54 (m)	72.0
4	-	42.6	-	42.6	-	39.0
5	-	140.9	-	140.9	-	140.9
6	5.35 (m)	121.9	5.31 (d, $J = 5.2$ Hz)	121.9	5.36 (t)	121.9
7	-	32.3	-	32.2	-	31.9
8	-	32.3	-	32.2	-	32.1
9	-	50.5	-	50.4	-	50.3
10	-	36.9	-	36.8	-	36.7
11	-	21.4	-	21.4	-	21.3
12	-	40.0	-	40.0	-	40.1
13	-	42.7	-	42.6	-	39.8
14	-	57.1	-	57.0	-	57.0
15	-	24.6	-	24.6	-	24.5
16	-	28.6	-	28.5	-	29.2
17	-	56.4	-	56.3	-	56.1
18	0.68 (s)	12.3	0.64 (s)	12.2	0.63 (s)	12.1
19	1.01 (s)	19.8	0.97 (s)	19.7	1.06 (s)	19.1
20	-	36.5	-	36.4	-	40.7

ตารางที่ 2.25 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR spectra ของ (EL-12-EL-13)

สารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol (EL-12) และ stigmasterol (EL-13) ใน  $\text{CDCl}_3$  เทียบกับ reference

ตำแหน่ง	EL-12 + EL-13		$\beta$ -sitosterol ( $\text{CDCl}_3$ )		Stigmasterol ( $\text{CDCl}_3$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)		$\delta_{\text{H}}$ (ppm)
21	0.92 (d, $J = 6.3$ Hz), 1.02 (d, $J = 6.6$ Hz)	19.2	0.88 (d, $J = 6.4$ Hz)	19.1	0.97 (d)	21.4
22	5.16 (dd, $J = 15.3, 8.4$ Hz)	138.6, 34.3	-	34.2	5.15 (m)	138.5
23	5.01 (dd, $J = 15.3, 8.4$ Hz)	129.6, 26.4	-	26.3	5.01 (m)	129.5
24	-	46.2	-	46.1	-	51.4
25	-	29.5	-	29.4	-	30.1
26	0.83 (m)	20.3	0.80 (d, $J = 7.2$ Hz)	20.1	0.88 (d)	19.9
27	0.80 (d, $J = 6.6$ Hz)	19.4	0.77 (d, $J = 6.8$ Hz)	19.3	0.78 (d)	22.3
28	-	23.6	-	23.6		25.6
29	0.82 (m)	12.4	0.81 (t, $J = 7.2$ Hz)	12.3	0.81 (t)	12.1

ตารางที่ 2.26 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-14Ac  
( $\beta$ -sitosterol glucoside acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	37.2	1.04 (m), 1.85 (m)	C-2, C-19
2	29.5	1.60 (m)	C-1
3	80.1	3.50 (sept, 4.1 Hz)	C-, C-1'
4	38.9	1.04 (m), 1.48 (m)	C-6
5	140.4	-	-
6	122.2	5.37 (d, J = 4.7 Hz)	C-4, C-7, C-8, C-10
7	32.0	1.48 (m)	C-6, C-8, C-9
8	31.9	1.48 (m)	C-6, C-7, C-9
9	50.2	0.92 (m)	C-19
10	36.7	-	-
11	21.1	1.04 (m), 1.48 (m)	-
12	39.7	1.15 (m)	C-18
13	42.3	-	-
14	56.8	0.99 (m)	C-17, C-13
15	24.3	1.08 (m), 1.57 (m)	-
16	28.2	1.28 (m), 1.87 (m)	-
17	56.1	1.08 (m)	C-18, C-21
18	11.9	0.68 (s)	C-12, C-17
19	19.4	0.99 (m)	C-1, C-9
20	36.1	1.37 (m)	C-21
21	18.8	0.92 (m)	C-22
22	34.0	0.99 (m), 1.26 (m)	C-21, C-23
23	26.1	1.15 (m)	C-22, C-24, C-28
24	45.9	0.92 (m)	C-25, C-26, C-27, C-29
25	29.2	1.67 (m)	C-26, C-27
26	19.4	0.84 (m)	C-25, C-26, C-27

ตารางที่ 2.26 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-14Ac  
( $\beta$ -sitosterol glucoside acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\longrightarrow$ C)
27	19.8	0.84 (m)	C-25, C-26, C-27
28	23.1	1.19 (m), 1.26 (m)	C-23, C-24, C-26, C-27
29	12.0	0.84 (m)	C-28
1'	100	4.59 (d, $J = 8.0$ Hz)	C-2'
2'	71.5	4.96 (t, $J = 8.0$ Hz)	C-1'
3'	73.0	5.21 (t, $J = 9.4$ Hz)	C-1', C-2', C-4'
4'	68.6	5.08 (t, $J = 9.7$ Hz)	C-2', C-3', C-6'
5'	71.7	3.68 (ddd, $J = 9.8, 4.7, 2.4$ Hz)	C-3'
6'	62.1	4.11 (dd, $J = 12.2, 2.3$ Hz) 4.26 (dd, $J = 12.2, 4.8$ Hz)	C-4', C-5'
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}'$	169.3	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}'$	170.4	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	169.4	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-6}'$	170.7	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}'$	20.7	2.05 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}'$	20.6	2.01 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	20.6	2.02 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-6}'$	20.8	2.08 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-6}'$

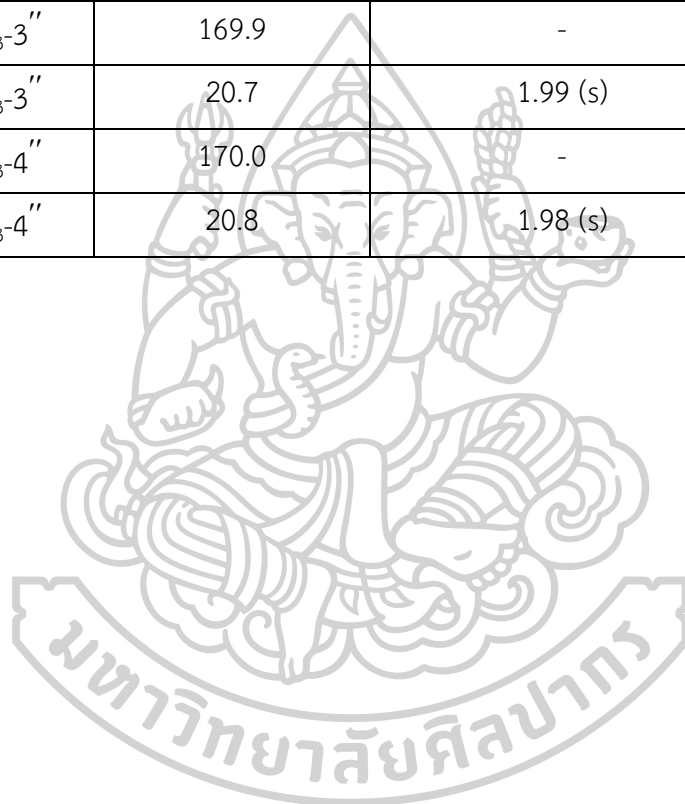


ตารางที่ 2.27 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-15Ac  
(Afzelin acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
2	155.3	-	-
3	137.0	-	-
4	172.3	-	-
5	150.4	-	-
6	113.6	6.84 (d, $J=2.2$ Hz)	C-5, C-7, C-8, C-10
7	154.0	-	-
8	109.0	7.29 (d, $J=2.2$ Hz)	C-6, C-7, C-9, C-10
9	156.7	-	-
10	115.2	-	-
1'	127.5	-	-
2'	130.2	7.92 (d, $J=8.8$ Hz)	C-2, C-6', C-4'
3'	122.2	7.29 (d, $J=8.8$ Hz)	C-5'
4'	152.8	-	-
5'	122.2	7.29 (d, $J=8.8$ Hz)	C-1', C-3', $\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-4}''$
6'	130.2	7.92 (d, $J=8.8$ Hz)	C-1', C-2', C-4'
1''	98.1	5.58 (d, $J=1.7$ Hz)	C-3
2''	69.1	5.65 (dd, $J=1.8$ Hz)	$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-4}''$ , C-2''
3''	68.9	5.25 (dd, $J=10.0, 3.3$ Hz)	C-2'', C-4'', $\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-3}''$
4''	70.3	4.92 (dd, $J=10.0, 9.9$ Hz)	$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-4}''$
5''	68.4	3.20 (dq, $J=9.9, 6.3$ Hz)	C-1'', C-3'', C-4'', C-6''
6''	17.0	0.87 (d, $J=6.3$ Hz)	C-4'', C-5''
$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$	169.4	-	-
$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$	21.1	2.44 (s)	$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$
$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-7}$	168.7	-	-
$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-7}$	21.09	2.35 (s)	$\text{O}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3\text{-7}$

ตารางที่ 2.27 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-15Ac  
(Afzelin acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	155.3	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	21.2	2.33 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$	169.7	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$	20.9	2.13 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$	169.9	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$	20.7	1.99 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$	170.0	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$	20.8	1.98 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$



ตารางที่ 2.28 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-16Ac

(Quercitrin acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
2	128.4	-	-
3	137.1	-	-
4	172.3	-	-
5	154.1	-	-
6	113.7	6.84 (d, $J = 2.2$ Hz)	C-5, C-7, C-8, C-10
7	154.0	-	-
8	109.0	7.29 (d, $J = 2.2$ Hz)	C-5, C-6, C-9, C-10
9	156.6	-	-
10	115.1	-	-
1'	144.5	-	-
2'	124.1	7.41 (d, $J = 8.5$ Hz)	C-1', C-4'
3'	124.0	7.74 (d, $J = 2.0$ Hz)	C-1', C-4', C-5'
4'	142.5	-	-
5'	154.2	-	-
6'	127.3	7.84 (d, $J = 8.5$ Hz)	C-2, C-4', C-5'
1''	98.1	5.58 (d, $J = 1.7$ Hz)	C-3, C-2'', $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-3}''$ , C-3'', C-4''
2''	69.1	5.65 (dd, $J = 1.8$ Hz)	C-3, C-3'', C-4'', C-5''
3''	68.9	5.24 (dd, $J = 10.1, 2.7$ Hz)	C-2'', C-4'', $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-3}''$
4''	70.2	4.93 (dd, $J = 10.0, 9.9$ Hz)	C-3'', $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-4}''$
5''	68.6	3.30 (dq, $J = 9.9, 6.2$ Hz)	C-2'', C-3'', C-4''
6''	17.0	0.90 (d, $J = 6.2$ Hz)	C-4'', C-5''
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$	168.0	-	-
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$	21.1	2.33 (s)	$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-5}$
$\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3\text{-7}$	167.5	-	-

ตารางที่ 2.28 (ต่อ) ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ EL-16Ac

(Quercitrin acetate,  $\text{CDCl}_3$ )

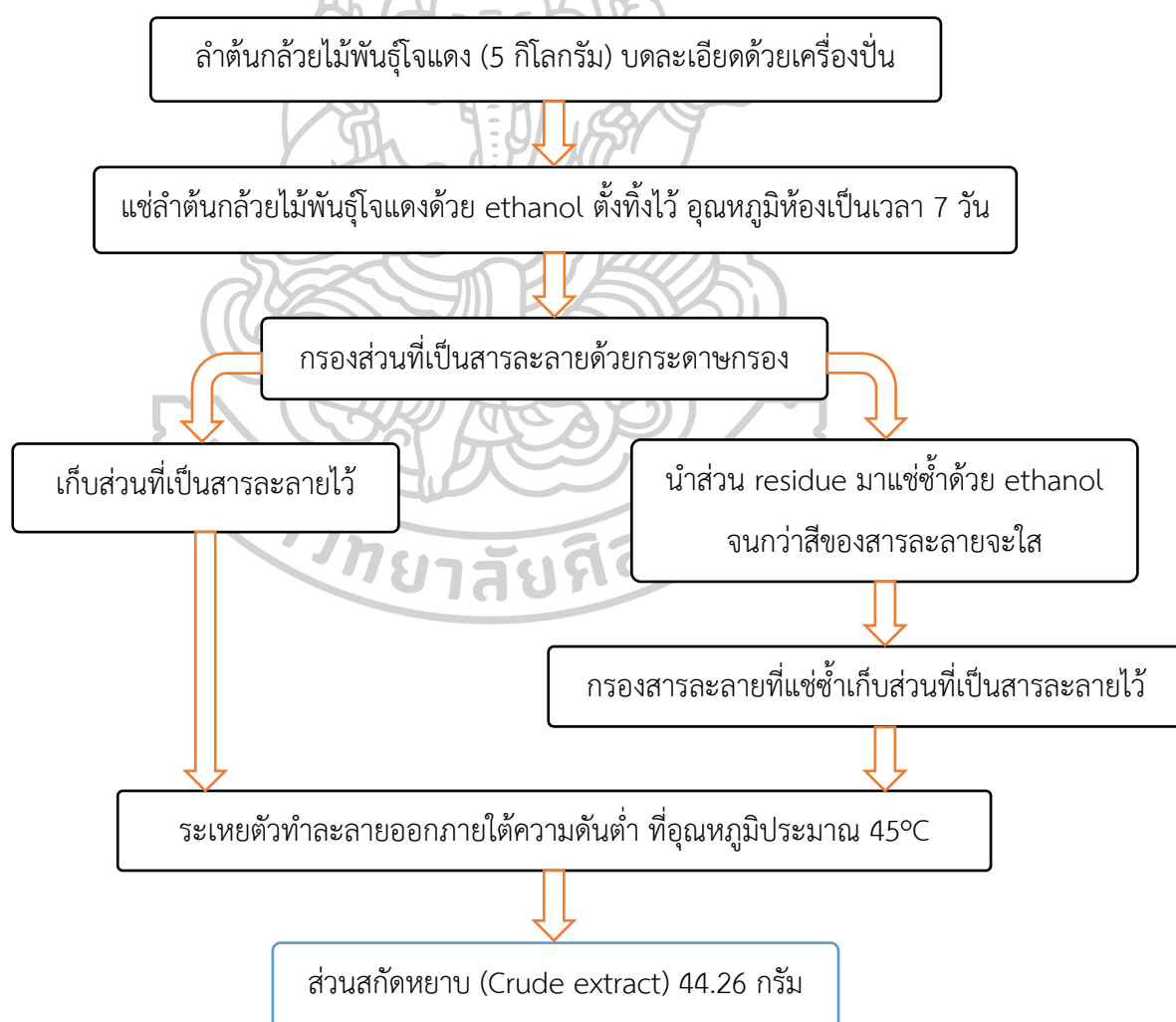
ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
$\text{OC(O)CH}_3\text{-7}$	21.7	2.31 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-7}$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	169.4	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$	21.2	2.46 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-5}'$	167.6	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-5}'$	20.5	2.34 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-5}'$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$	169.7	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$	20.9	2.13 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-2}''$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$	169.9	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$	20.7	1.98 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-3}''$
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$	170.2	-	-
$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$	20.6	1.99 (s)	$\text{OC(O)CH}_3\text{-4}''$



## 2.7 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia* 'Red Jo')

### 2.7.1 การเตรียมส่วนสกัดหยาบลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (Crude-DS)

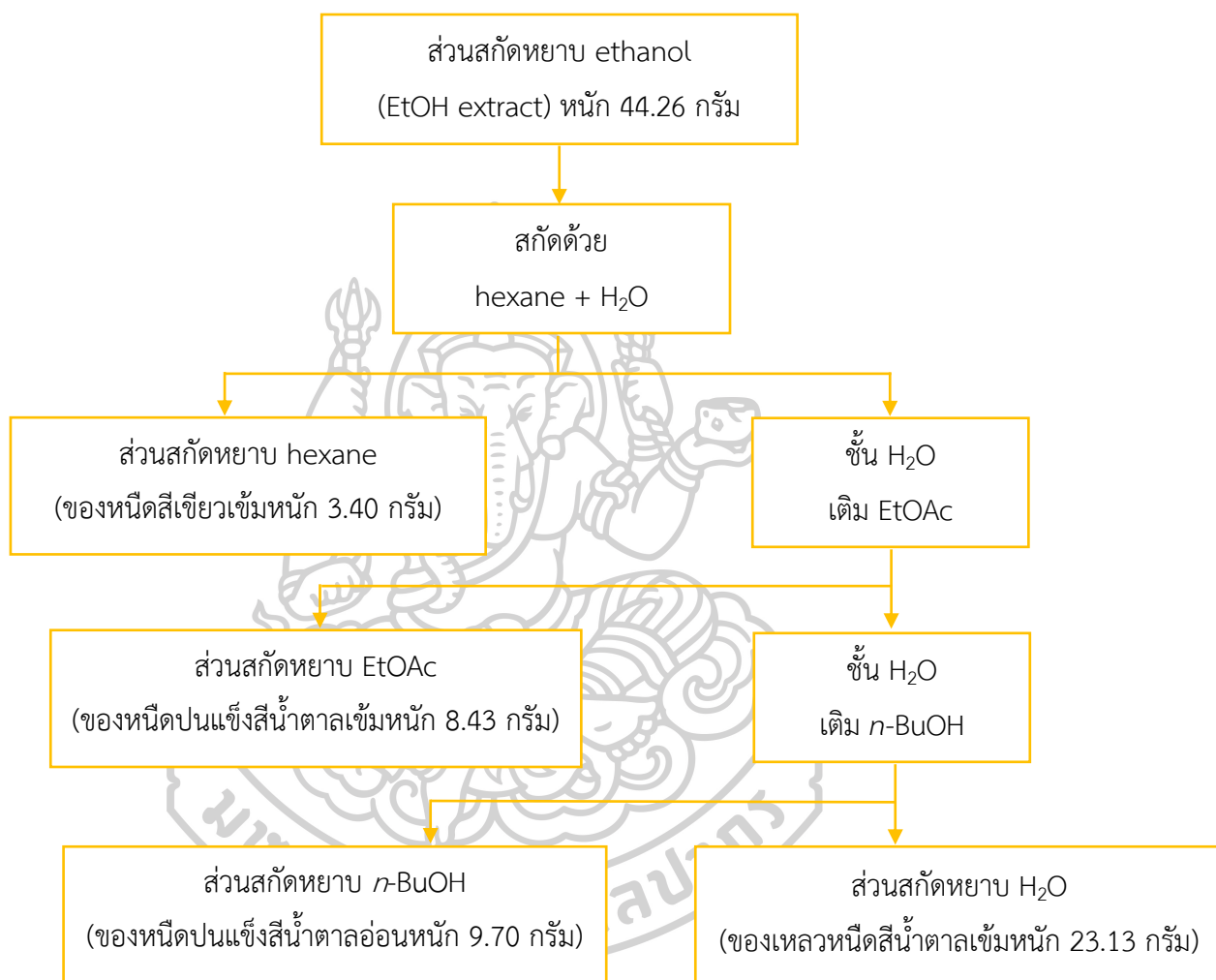
นำลำต้นกล้วยไม้สด 5 กิโลกรัม มาตากแห้งจากนั้นทำการบดให้ละเอียดได้น้ำหนัก 816.40 กรัม นำไปแช่ใน 95% ethanol ปริมาตร 5 ลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน กรองแยกกากโดยเก็บส่วนของสารละลายไว้ จากนั้นนำส่วนของกากที่ได้จากการกรองครั้งแรกมาแช่ด้วย 95% ethanol อีกสองครั้ง นำส่วนที่เป็นสารละลายทั้งหมดมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ 45 °C ได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้มหนัก 44.26 กรัม



รูปที่ 29 แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมส่วนสกัดหยาบของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (Crude-DS)

## 2.7.2 การสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction) ของส่วนสกัดหยาบลำต้นกล้วยไม้ พันธุ์โจแดง

นำส่วนสกัดหยาบ ethanol ที่ได้ 44.26 กรัม สกัดด้วย hexane, ethyl acetate และน้ำ  
ได้ส่วนสกัดดังแผนภาพ 2.2



รูปที่ 30 แสดงแผนผังสรุปขั้นตอนการสกัดลำดับส่วน (Sequential extraction)  
ของส่วนสกัดหยาบลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง

ตารางที่ 2.29 แสดงน้ำหนักและลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดลำดับส่วนของลำต้นกล้วยไม้  
พันธุ์โจแดง

Crude extract	น้ำหนักของสาร (กรัม)	ลักษณะของสาร
hexane extract	3.40	ของหนืดสีเขียวเข้ม
ethyl acetate extract	8.43	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม
<i>n</i> -butanol extract	9.70	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน
Water extract	23.10	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม

### 2.7.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate จากลำต้นกล้วยไม้ พันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia* 'Red Jo')

แบ่งส่วนสกัดหยาบ ethyl acetate จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดงมา 7.87 กรัม ทำการแยก  
ให้บริสุทธิ์ โดยใช้ silica gel flash column chromatography ทำการชะ column โดยเริ่มจาก  
10% EtOAc ใน hexane แล้วเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% EtOAc  
และตามด้วย 1% MeOH ใน EtOAc จนถึง 3% MeOH ใน EtOAc จากนั้นทำการเปรียบเทียบ  
องค์ประกอบของสารแต่ละ fraction โดยใช้ thin-layer chromatography (TLC) ทำการรวม  
fractions ที่เหมือนกันได้ทั้งหมด 48 fractions แสดงดังตารางที่ 2.32

ตารางที่ 2.30 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E

fraction	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะ
DS-E-1	0.3494	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
DS-E-2	0.0619	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
DS-E-3	0.0480	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
DS-E-4	0.0189	ของแข็งสีเหลือง
DS-E-5	0.0756	ของแข็งสีเหลือง
DS-E-6	0.0046	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
DS-E-7	0.0637	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
DS-E-8	0.1206	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-9	0.1046	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-10	0.1408	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

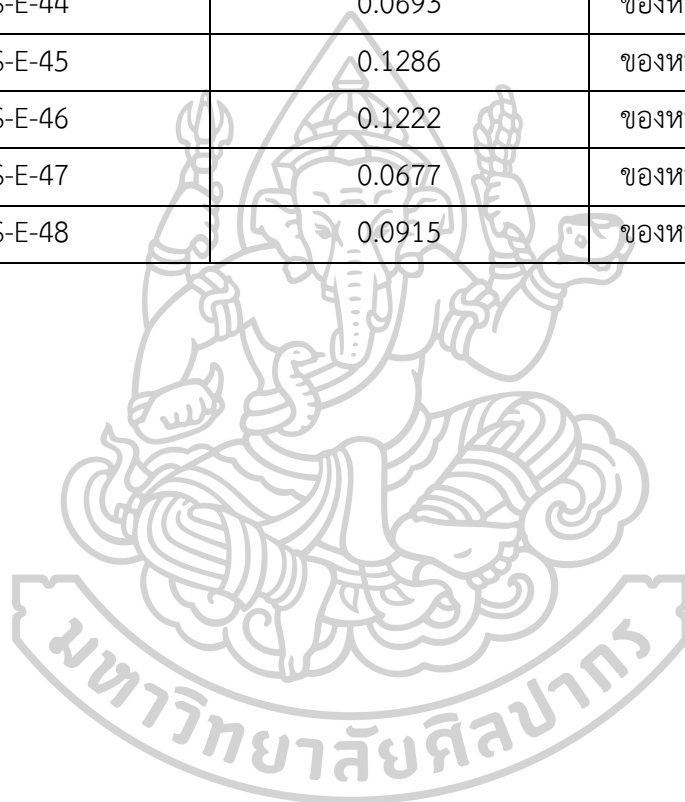
ตารางที่ 2.32 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E ต่อ

fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
DS-E-11	0.4712	ของหนืดสีน้ำตาล
DS-E-12	0.3283	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-13	0.1477	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-14	0.0797	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-15	0.0743	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-16	0.0243	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-17	0.0513	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-18	0.0493	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-19	0.0416	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-20	0.0270	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-21	0.0301	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-22	0.0539	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-23	0.0695	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-24	0.1984	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-25	0.1988	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-26	0.1383	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-27	0.1127	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-28	0.0627	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-29	0.1716	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-30	0.2486	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-31	0.1960	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-32	0.2050	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-33	0.2020	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-34	0.3667	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-35	0.3460	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-36	0.2292	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-37	0.1490	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-38	0.4371	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล

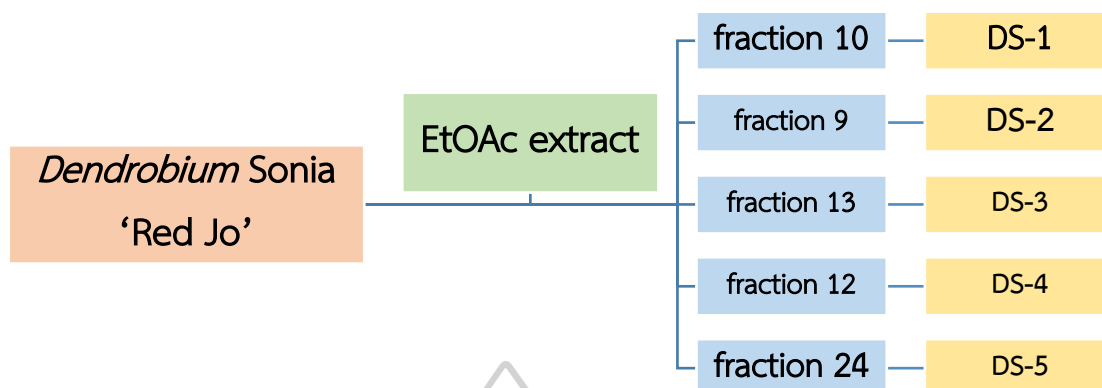


ตารางที่ 2.32 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E ต่อ

fraction	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะ
DS-E-39	0.2650	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-40	0.1280	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-41	0.2262	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล
DS-E-42	0.1139	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-43	0.0270	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-44	0.0693	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-45	0.1286	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-46	0.1222	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-47	0.0677	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม
DS-E-48	0.0915	ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาลเข้ม



## 2.8 การแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง



รูปที่ 31 แผนผังแสดงการแยกสารบริสุทธิ์ของส่วนสกัด ethyl acetate ของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง



## 2.8.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-10 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

นำสาร fraction DS-E-10 (140.8 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (425.8 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.8 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 5% 10% 15% และ 20% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 7 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ  $45^{\circ}\text{C}$  แยกสารได้ทั้งหมด 13 fraction (DS-E-10-1 ถึง DS-E-10-13) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.33

ตารางที่ 2.31 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-10

Fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
DS-E-10-1	2.2	ของแข็งสีขาว
DS-E-10-2	1.3	ของหนืดใสสีเหลือง
DS-E-10-3	0.9	ของหนืดใสสีเหลือง
DS-E-10-4	9.9	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-5	5.7	ของหนืดใสสีเหลือง
DS-E-10-6	9.1	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-7	14.1	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-8	7.3	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-9	10.0	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-10	11.9	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-11	7.6	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-12	0.6	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-10-13	6.3	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ DS-E-10-7 (14.1 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H}$ -

NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR, 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่า DS-E-10-7 สารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น nudol (DS-1)

### 2.8.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-9 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography

นำสาร fraction DS-E-9 (104.6 มิลลิกรัม) ละลายด้วย MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel 3-4 เท่าของน้ำหนักสาร และนำไปเคลือบลงบน RP-18 column ซะ RP-18 column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง MeOH: H<sub>2</sub>O (1:1) พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 5 mL และล้าง column ด้วย 100% MeOH ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC (Thin Layer Chromatography) จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C เซนติเมตร แยกสารได้ทั้งหมด 15 fraction (DS-E-9-1 ถึง DS-E-9-15) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.34

ตารางที่ 2.32 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-9

fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
DS-E-9-1	2.4	ของหนืดสีน้ำตาล
DS-E-9-2	1.9	ของหนืดสีน้ำตาล
DS-E-9-3	0.9	ของหนืดสีน้ำตาล
DS-E-9-4	1.0	ของหนืดใสสีเหลือง
DS-E-9-5	1.1	ของแข็งสีขาวอมเหลือง
DS-E-9-6	1.3	ของแข็งสีขาวอมเหลือง
DS-E-9-7	2.3	ของหนืดใสสีเหลือง
DS-E-9-8	1.3	ของหนืดใสไม่มีสี
DS-E-9-9	1.4	ของหนืดใสไม่มีสี
DS-E-9-10	3.5	ของหนืดใสไม่มีสี
DS-E-9-11	7.7	ของหนืดใสไม่มีสี
DS-E-9-12	15.7	ของแข็งสีขาว
DS-E-9-13	7.2	ของแข็งสีขาว
DS-E-9-14	1.4	ของแข็งสีขาว
DS-E-9-15	4.0	ของแข็งสีขาว

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ DS-E-9-14 และ DS-E-9-15 เป็นสารบริสุทธิ์ชนิดเดียวกันจึงนำมารวมกัน (5.4 มิลลิกรัม, ของแข็งสีขาว) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่า DS-E-9-14+15 สารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น confurasin (DS-2)

### 2.8.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-13 โดยใช้เทคนิค preparative chromatography

มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

นำ fraction DS-E-13 (144.7 มิลลิกรัม) มาแยกให้บริสุทธิ์ โดยใช้ preparative chromatography ขนาด 1 mm จำนวน 3 แผ่น ทำการชะด้วย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  ในอัตราส่วน 500:3:1 จำนวน 3 รอบ ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ  $45^\circ\text{C}$  แยกได้ทั้งหมด 4 fraction (DS-E-13-1 ถึง DS-E-13-4) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.35

ตารางที่ 2.33 แสดง fraction DS-E-13-1 ถึง DS-E-13-4 ที่ได้จากการแยก fraction DS-E-13

fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
DS-E-13-1	6.6	ของหนืดสีเหลืองอ่อน
DS-E-13-2	6.2	ของหนืดสีเหลืองอ่อน
DS-E-13-3	56.0	ของหนืดสีเหลืองอ่อน
DS-E-13-4	10.5	ของหนืดสีชมพูอ่อน

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ DS-E-13-4 (10.5 มิลลิกรัม, ของหนืดสีชมพูอ่อน) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่า DS-E-13-4 สารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น Lusianthidin (DS-3)

## 2.8.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-12 โดยใช้เทคนิค Column chromatography

### มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

นำสาร fraction DS-E-12 (ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล, 328.3 มิลลิกรัม) ละลายด้วย  $\text{CHCl}_2$  และ MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel (985.7 มิลลิกรัม) 3-4 เท่าของน้ำหนักและนำไปเคลือบลงบน Silica gel บน Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.8 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ใช้ Column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง EtOAc: Hexane ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 5% 10% 15% และ 20% พร้อมเก็บ fraction ตามลำดับครั้งละ 7 mL ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกันนำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้อากาศที่อุณหภูมิประมาณ fraction เซนติเมตร แยกได้ทั้งหมด 7 fraction (DS-E-12-1 ถึง DS-E-12-7) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่

### 2.36

ตารางที่ 2.34 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-12

fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
DS-E-12-1	1.3	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-2	1.6	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-3	30.5	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-4	43.7	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-5	56.8	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-6	22.3	ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน
DS-E-12-7	17.7	ของหนืดใสสีส้ม

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography ของ DS-E-12-3 (30.5 มิลลิกรัม, ของหนืดใสสีเหลืองอ่อน) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่า DS-E-12-3 สารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น gigantol (DS-4)

## 2.8.5 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วน DS-E-24 โดยใช้เทคนิค Reversed phase column chromatography

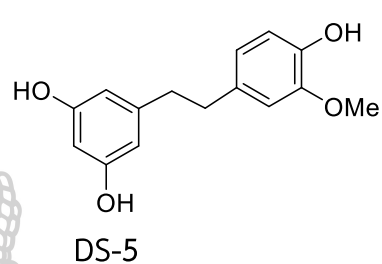
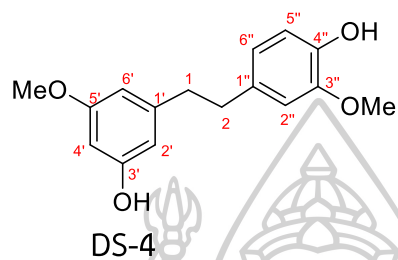
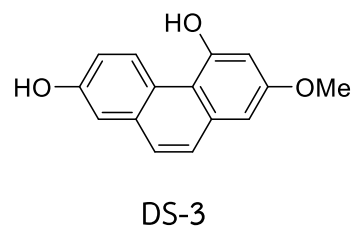
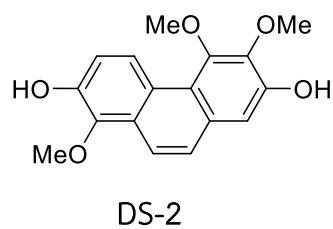
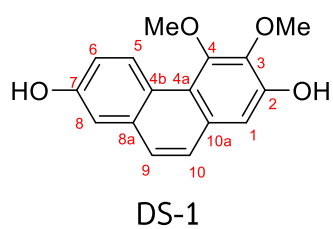
มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

นำสาร fraction DS-E-24 (100.5 มิลลิกรัม, ของหนืดปนแข็งสีน้ำตาล) ละลายด้วย MeOH จากนั้นนำมาเคลือบลงบน silica gel โดยใช้ silica gel 3-4 เท่าของน้ำหนักสาร และนำไปเคลือบลงบน RP-18 column ซะ RP-18 column โดยใช้ mobile phase ที่เป็นอัตราส่วนระหว่าง CH<sub>3</sub>CN: H<sub>2</sub>O (1: 1.5) พร้อมเก็บ fractions ตามลำดับครั้งละ 5 mL และล้าง column ด้วย 100% MeOH ตรวจสอบองค์ประกอบของแต่ละ fraction โดยใช้ TLC (Thin Layer Chromatography) จากนั้นทำการรวมองค์ประกอบที่เหมือนกัน นำไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิประมาณ 45°C เซนติเมตร แยกได้ทั้งหมด 5 fraction (DS-E-24-1 ถึง DS-E-24-5) แสดงข้อมูลน้ำหนักและลักษณะของสารในตารางที่ 2.37

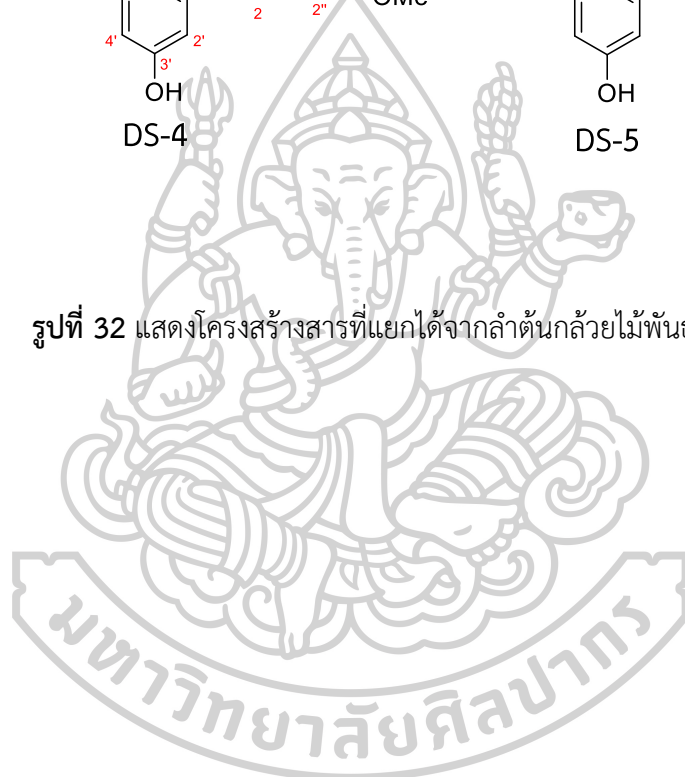
ตารางที่ 2.35 แสดงลักษณะ และน้ำหนักของสารที่ได้ในแต่ละส่วนของ DS-E-24

fraction	น้ำหนักสาร (mg)	ลักษณะ
DS-E-24-1	6.8	ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน
DS-E-24-2	28.6	ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน
DS-E-24-3	7.3	ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน
DS-E-24-4	12.1	ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน
DS-E-24-5	2.7	ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน

เมื่อทำ TLC (Thin Layer Chromatography) ของ DS-E-24-3 (7.3 มิลลิกรัม, ของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน) พบว่า chromatogram มีความน่าสนใจ ดังนั้นจึงนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D NMR และ HRMS จากนั้นนำไปวิเคราะห์โครงสร้างและเมื่อนำ spectrum มาเทียบกับ reference พบว่า DS-E-24-3 สารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น tristin (DS-5)



รูปที่ 32 แสดงโครงสร้างสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ใจแดง





ตารางที่ 2.36 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ DS-1  
(Nudol, acetone- $d_6$ )

ตำแหน่ง	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	108.9	7.15 (s)	C-2, C-4, C-10
2	149.0	-	-
3	142.0	-	-
4	151.3	-	-
4a	118.3	-	-
4b	123.5	-	-
5	128.0	9.32 (d, $J = 9.2$ Hz)	C-7, C-4a, C-8a
6	116.7	7.19 (dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz)	C-7
7	154.9	-	-
8	111.6	7.24 (d, $J = 2.8$ Hz)	C-6, C-7
8a	133.7	-	-
9	126.2	7.53 (d, $J = 8.9$ Hz)	C-4b, C-8a, C-10a
10	126.8	7.50 (d, $J = 8.9$ Hz)	C-8a, C-10a
10a	129.4	-	-
3-OCH <sub>3</sub>	60.4	4.00 (s)	C-3
4-OCH <sub>3</sub>	59.2	3.97 (s)	C-4

ตารางที่ 2.37 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ DS-2  
(Confurasin,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	108.2	7.19 (s)	C-2, C-4, C-10
2	147.7	-	-
3	141.0	-	-
4	150.7	-	-
4a	119.0	-	-
4b	124.8	-	-
5	123.9	9.20 (d, $J = 9.3$ Hz)	C-7, C-4a, C-8a
6	116.1	7.29 (d, $J = 9.3$ Hz)	C-7
7	145.5	-	-
8	141.0	-	-
8a	126.3	-	-
9	119.4	7.85 (d, $J = 9.1$ Hz)	C-4b, C-8a, C-10a
10	127.4	7.60 (d, $J = 9.1$ Hz)	C-8a, C-10a
10a	129.3	-	-
3-OCH <sub>3</sub>	61.3	4.11 (s)	C-3
4-OCH <sub>3</sub>	59.8	3.96 (s)	C-4
8-OCH <sub>3</sub>	61.9	3.97 (s)	-
OH	-	5.79 (brs) 5.99 (brs)	-

ตารางที่ 2.38 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ DS-3  
(Lusianthidin,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	106.5	6.42 (d, $J = 2.4$ Hz)	C-2, C-4, C-10
2	158.7	-	-
3	100.9	6.34 (d, $J = 2.4$ Hz)	-
4	153.3	-	-
4a	114.8	-	-
4b	125.5	-	-
5	127.3	7.94 (d, $J = 9.2$ Hz)	C-7, C-4a, C-8a
6	113.2	6.74 (overlapped)	C-7
7	153.7	-	-
8	115.1	6.74 (overlapped)	C-6, C-7
8a	114.8	-	-
9	29.9	2.71 (s)	C-4b, C-8a, C-10a
10	30.5	2.71 (s)	C-8a, C-10a
10a	140.2	-	-
2-OCH <sub>3</sub>	55.3	3.79 (s)	C-2
OH	-	-	-

ตารางที่ 2.39 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ DS-4  
(Gigantol,  $\text{CDCl}_3$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	37.2	} 2.80 (m)	C-2, C-2', C-6'
2	38.3		C-1, C-2', C-6', C-6''
1'	144.5	-	-
2'	108.1	6.25 (brd, $J = 2.0$ Hz)	C-1, C-2', C-4', C-5', C-6'
3'	156.6	-	-
4'	99.0	6.25 (brd, $J = 2.0$ Hz)	C-2', C-3' C-5', C-6'
5'	160.8	-	--
6'	106.8	6.31 (brd, $J = 2.0$ Hz)	C-3', C-4', C-5', C-6'
1''	133.7	-	-
2''	114.2	6.62 (d, $J = 1.8$ Hz)	C-6''
3''	146.3	-	-
4''	143.7	-	-
5''	111.2	6.83 (d, $J = 8.0$ Hz)	C-1'', C-3'', C-6''
6''	121.0	6.67 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz)	C-1'', C-3''
5'-OCH <sub>3</sub>	55.3	3.74 (s)	C-5'
3''-OCH <sub>3</sub>	55.9	3.83 (s)	C-3''

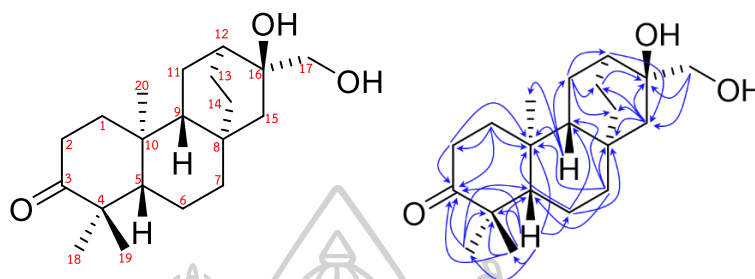
ตารางที่ 2.40 ข้อมูล  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  และ HMBC NMR spectra ของ DS-5  
(Tristin, acetone- $d_6$ )

ตำแหน่ง	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	39.1	2.74 (m)	C-2, C-2', C-6'
2	38.1		C-1, C-2', C-6', C-6''
1'	145.3		-
2'	107.9	6.21 (d, $J = 2.0$ Hz)	C-1, C-2', C-4', C-5', C-6'
3'	159.4	-	-
4'	101.1	6.18 (d, $J = 2.0$ Hz)	C-2', C-3' C-5', C-6'
5'	159.4	-	--
6'	107.9	6.21 (d, $J = 2.0$ Hz)	C-3', C-4', C-5', C-6'
1''	134.3	-	-
2''	113.0	6.80 (d, $J = 1.7$ Hz)	C-6''
3''	148.2	-	-
4''	145.6	-	-
5''	115.6	6.72 (d, $J = 8.0$ Hz)	C-1'', C-3'', C-6''
6''	121.7	6.65 (dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz)	C-1'', C-3''
3''-OCH <sub>3</sub>	56.3	3.80 (s)	-

## บทที่ 3

## ผลการทดลอง

## 3.1 Structure Elucidation

3.1.1 *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)

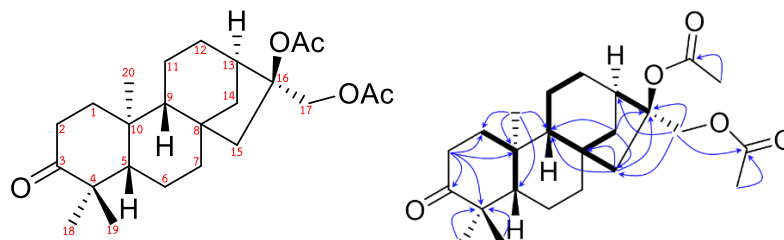
รูปที่ 33 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-1

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 158-162 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-1 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{20}H_{32}O_3$  มีค่า  $m/z$  343.2244  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{20}H_{32}ONa$ , 343.2249) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 5 และ จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 20 คาร์บอน (ดังตาราง 2.15) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 3 หมู่ที่ [ $\delta_c$  55.7 (C-5), 50.9 (C-9) และ 32.2 (C-12)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 9 หมู่ที่ [ $\delta_c$  38.0 (C-1), 34.1 (C-2), 19.7 (C-6), 38.8 (C-7), 23.0 (C-11), 32.2 (C-12), 23.3 (C-13), 27.2 (C-14), 52.5 (C-15), 74.1 (C-16) และ 69.0 (C-17)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 3 หมู่ที่ [ $\delta_c$  26.2 (C-18), 21.6 (C-19) และ 13.5 (C-20)] พบสัญญาณของ quaternary carbon 4 หมู่ที่ [ $\delta_c$  47.6 (C-4), 32.9 (C-8), 37.2 (C-10), 74.1 (C-16)] และพบสัญญาณของ carbonyl group ที่  $\delta_c$  217.4 (C-3) จากข้อมูล  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC สามารถสรุปได้ว่า โครงสร้างนี้เป็นสารในกลุ่ม diterpene โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้มีโครงสร้างหลักเป็น cyclohexane ring 3 วง และมีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง จาก  $^1H$  NMR พบสัญญาณ หมู่ methyl 3 หมู่ ที่  $\delta_H$  1.08 ( $CH_3$ -18, s), 1.05 ( $CH_3$ -19, s) และ 1.11 ( $CH_3$ -20, s) และพบสัญญาณของ primary alcohol ที่  $\delta_H$  3.40 และ 3.55 (2H, d,  $J$  = 11.0 Hz) จาก COSY สเปกตรัม พบ correlation ระหว่าง ( $^1H$ - $^1H$ ) ของ H-17 ( $\delta_H$  3.40) กับ H-17 ( $\delta_H$  3.55) ซึ่งยืนยันได้ว่า H-17 เป็นชิ้นส่วนของ methylene group จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 ( $\delta_H$  1.38, 1.86, m), H-2 ( $\delta_H$  2.33, 2.53, ddd,  $J$  = 9.1, 6.9, 6.8 Hz), H-5 ( $\delta_H$  1.30, m)  $CH_3$ -18 ( $\delta_H$

1.08, s) และ CH<sub>3</sub>-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1.05, s) กับ C-3 พบ correlation ระหว่าง H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.30) กับ C-3 ( $\delta$  217.4), C-4 ( $\delta$  47.6), C-6 ( $\delta$  19.7), C-10 ( $\delta$  37.2), CH<sub>3</sub>-18 ( $\delta$  26.2) และ CH<sub>3</sub>-19 พบ correlation ระหว่าง H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.32) กับ C-7 ( $\delta$  38.8), C-10 ( $\delta$  37.2), C-11 ( $\delta$  23.0), C-12 ( $\delta$  32.2) และ CH<sub>3</sub>-20 ( $\delta$  13.5) และพบ correlation ระหว่าง H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  1.10, 1.24, m) กับ C-8 ( $\delta$  32.9), C-13 ( $\delta$  23.2), C-14 ( $\delta$  27.2) และ C-16 ( $\delta$  74.1) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบ <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS ของ EL-1 กับ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one มีค่า ใกล้เคียงกัน EL-1 จึงมีโครงสร้างเป็น *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one<sup>[17]</sup>



### 3.1.2 *ent*-16S,17-diacetylkuaran-3-one (EL-2Ac)



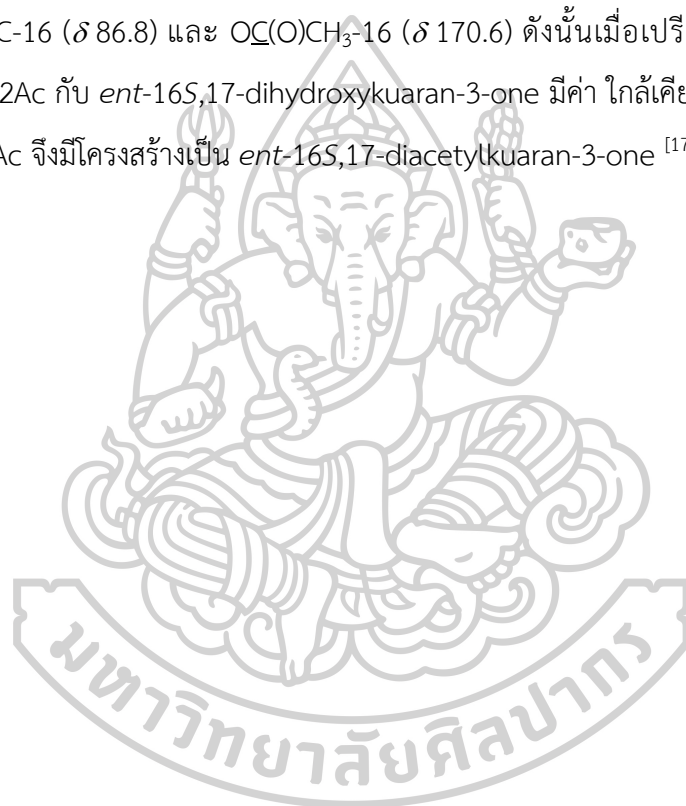
รูปที่ 34 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-2

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จาก  $^1\text{H-NMR}$  และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่  $-\text{OH}$  จึงทำให้สารมีค่าที่สูงและไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าวมาทำปฏิกิริยา acetylation

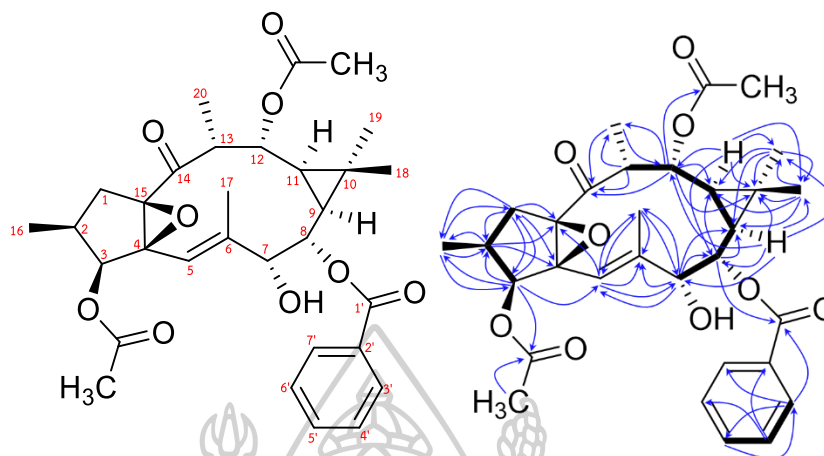
EL-2Ac มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลือง จากผล HRESIMS ทำให้ทราบมวล EL-2Ac มีสูตร โมเลกุลเป็น  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$  มีค่า  $m/z$  427.2457  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd.  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{Na}$ , 427.2460) และ มีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 7 และ จากสเปกตรัม  $^{13}\text{C NMR}$ , DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 20 คาร์บอน (ดังตาราง 2.16) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 3 หมู่ ที่  $[\delta_{\text{C}} 54.2 (\text{C-5}), 55.5 (\text{C-9}) \text{ และ } 41.1 (\text{C-13})]$  พบสัญญาณของ methylenes carbon 9 หมู่ที่  $[\delta_{\text{C}} 39.2 (\text{C-1}), 34.0 (\text{C-2}), 21.27 (\text{C-6}), 40.5 (\text{C-7}), 19.3 (\text{C-11}), 26.8 (\text{C-12}), 36.8 (\text{C-14}), 50.3 (\text{C-15}) \text{ และ } 66.0 (\text{C-17})]$  พบสัญญาณของหมู่ methyl 3 หมู่ที่  $[\delta_{\text{C}} 27.3 (\text{C-18}), 21.0 (\text{C-19}) \text{ และ } 17.6 (\text{C-20})]$  พบสัญญาณของหมู่ methyl ใน acetate group 2 หมู่ที่  $[\delta_{\text{C}} 21.7 (\text{OC(O)CH}_3\text{-16}) \text{ และ } 20.9 (\text{OC(O)CH}_3\text{-17})]$  พบสัญญาณของ quaternary carbon 4 หมู่ที่  $[\delta_{\text{C}} 47.1 (\text{C-4}), 43.1 (\text{C-8}), 38.5 (\text{C-10}), 86.8 (\text{C-16})]$  พบสัญญาณของ carbonyl group ที่  $\delta_{\text{C}} 217.9 (\text{C-3})$  และ พบสัญญาณ quaternary carbon ของ acetate group 2 หมู่ที่  $\delta_{\text{C}} 170.6 (\text{OC(O)CH}_3\text{-16}) \text{ และ } 20.9 (\text{OC(O)CH}_3\text{-17})$  จากข้อมูล  $^{13}\text{C NMR}$ , DEPT และ HMQC สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้เป็น สารในกลุ่ม diterpene โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้มีโครงสร้างหลักเป็น cyclohexane ring 4 วง และมีพันธะคู่ 3 ตำแหน่ง จาก  $^1\text{H NMR}$  พบสัญญาณหมู่ methyl 3 หมู่ ที่  $\delta_{\text{H}} 1.08 (\text{CH}_3\text{-18, s}), 1.05 (\text{CH}_3\text{-19, s}) \text{ และ } 1.07 (\text{CH}_3\text{-20, s})$  พบสัญญาณของหมู่ methyl ใน acetate group 2 หมู่ที่  $[\delta_{\text{H}} 2.04 (\text{OC(O)CH}_3\text{-16, s}) \text{ และ } 2.08 (\text{OC(O)CH}_3\text{-17, s})]$  จาก COSY



สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1\text{H}-^1\text{H}$ ) ของ H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  1.41, m) กับ H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.16, d,  $J = 7.0$  Hz), H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.43, m) กับ H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  1.95, m) และ H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.43, m) กับ H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  1.75, m) ซึ่งแสดงให้เห็นขึ้นส่วนของวง จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  1.41, 2.02, m), H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  2.49, d,  $J = 8.6$  Hz) และ H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.16, d,  $J = 7.0$  Hz) กับ C-3 พบ correlation ระหว่าง H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  2.49, d,  $J = 8.6$  Hz) กับ C-1 ( $\delta$  39.2), C-3 ( $\delta$  217.9), C-4 ( $\delta$  47.1) และ C-10 ( $\delta$  38.5) พบ correlation ระหว่าง H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  1.70, 1.85, m) กับ C-8 ( $\delta$  43.1), C-9 ( $\delta$  55.5) และ C-16 ( $\delta$  86.8) พบ correlation ระหว่าง H-17 ( $\delta_{\text{H}}$  4.40, dd,  $J = 1.5$  Hz) กับ C-13 ( $\delta$  41.1), C-15 ( $\delta$  50.3), C-16 ( $\delta$  86.8) และ  $\text{O}=\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ -16 ( $\delta$  170.6) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR และ ของ EL-2Ac กับ *ent*-16S,17-dihydroxykuanan-3-one มีค่า ใกล้เคียงกัน EL-2Ac แทนที่หมู่ -OH ด้วย -OAc จึงมีโครงสร้างเป็น *ent*-16S,17-diacetylkuanan-3-one <sup>[17]</sup>



### 3.1.3 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (EL-3)

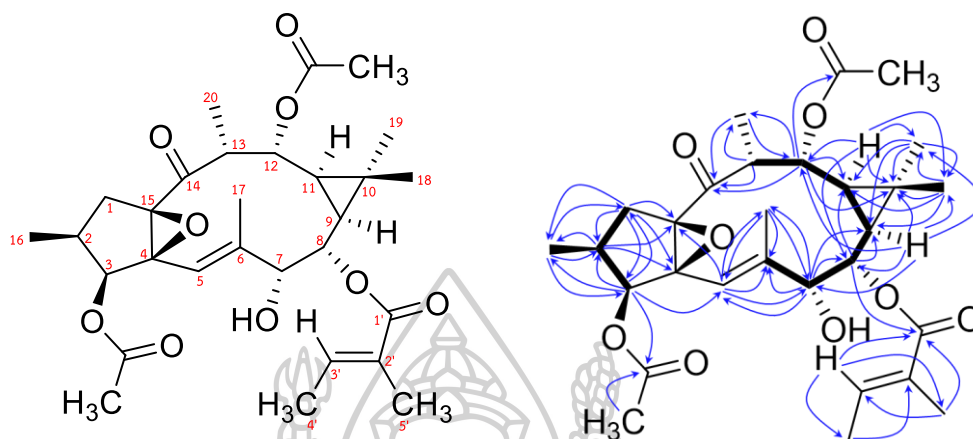


รูปที่ 35 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-3

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 99-102 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-3 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{31}H_{38}O_9$  มีค่า  $m/z$  572.2858  $[M+NH_4]^+$  (calcd.  $C_{31}H_{38}O_9NH_4$ , 572.2860) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 13 และ จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 31 คาร์บอน (ดังตาราง 2.17) โดยพบสัญญาณของ cyclopropane carbon ที่  $[\delta_c$  23.1 (C-9), 19.3 (C-10) และ 31.6 (C-11)] พบสัญญาณของ methines carbon 12 หมู่ที่  $[\delta_c$  29.8 (C-2), 77.7 (C-3), 116.8 (C-5), 76.4 (C-7), 75.1 (C-8), 70.8 (C-12), 43.4 (C-13), 129.7 (C-3'), 128.6 (C-4'), 133.3 (C-5'), 128.6 (C-6') และ 129.7 (C-7')] พบสัญญาณของ methylenes carbon 1 หมู่ที่  $[\delta_c$  31.8 (C-1) พบสัญญาณของ methylenes carbon 9 หมู่ที่  $[\delta_c$  17.0 (C-16), 17.5 (C-17), 29.2 (C-18), 16.4 (C-19), 13.4 (C-20), 21.0 (OC(O)CH<sub>3</sub>-3) และ 20.7 (OC(O)CH<sub>3</sub>-12)] พบสัญญาณของ quaternary carbon 7 หมู่ที่  $[\delta_c$  71.5 (C-4), 141.3 (C-6), 73.8 (C-15), 170.7 (OC(O)CH<sub>3</sub>-3), 170.4 (OC(O)CH<sub>3</sub>-12), 166.1 (C-1') และ 129.9 (C-2')] และพบสัญญาณของ carbonyl group ที่  $\delta_c$  217.9 (C-14) โดย จากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลทำให้ทราบจำนวนวง และพันธะคู่ จาก  $^1H$  NMR พบสัญญาณของหมู่ acetate 2 หมู่ ที่  $[\delta_H$  2.09 (OC(O)CH<sub>3</sub>-3) และ 2.10 (OC(O)CH<sub>3</sub>-12)] พบสัญญาณของ benzoate group ที่  $[\delta_H$  8.06 (m), 7.47 (m) และ 7.59 (m)] พบสัญญาณของ trisubstituted

double bond ที่  $[\delta_H 5.85 \text{ (brs)}]$  พบสัญญาณของ methines proton 4 หมู่ซึ่งจะเชื่อมต่อกับ ester และ carbonyl ที่  $[\delta_H 4.40 \text{ (s)}, 4.78 \text{ (dd, } J = 10.6, 1.4 \text{ Hz)}, 4.92 \text{ (dd, } J = 11.0, 3.9 \text{ Hz)}$  และ  $5.23 \text{ (d, } J = 8.4 \text{ Hz)}$ ] พบสัญญาณของ vinylic methyl ที่  $[\delta_H 2.29 \text{ (s)}]$  พบสัญญาณของ tertiary methyl 2 หมู่ที่  $[\delta_H 0.85 \text{ (s)}$  และ  $1.14 \text{ (s)}]$  พบสัญญาณของ secondary methyl 2 หมู่ที่  $[\delta_H 0.92 \text{ (d, } J = 7.4 \text{ Hz)}$  และ  $1.10 \text{ (d, } J = 7.4 \text{ Hz)}$ ] จากข้อมูลของ COSY สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1\text{H-}^1\text{H}$ ) ของ (H-1' และ H-5') เป็นการยืนยันขึ้นส่วนของ benzoate group ในโครงสร้างของ EL-3 พบ correlation ระหว่าง (H-1 และ H-2) พบ correlation ระหว่าง (H-2 และ H-3) พบ correlation ระหว่าง (H-7 และ H-8) พบ พบ correlation ระหว่าง (H-11 และ H-12) correlation ระหว่าง (H-8 และ H-11) พบ correlation ระหว่าง (H-12 และ H-13) พบ correlation ระหว่าง (H-11 และ H-13) ดังรูปที่แสดง HMQC สเปกตรัม จากของต้นแสดงให้เห็นถึงขึ้นส่วนของวง macrocyclic diterpene จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 กับ C-2 ( $\delta 29.8$ ), C-3 ( $\delta 77.7$ ), C-4 ( $\delta 71.5$ ), C-15 ( $\delta 73.8$ ) และ C-16 ( $\delta 17.0$ ) พบ correlation ระหว่าง H-3 กับ C-1 ( $\delta 31.8$ ), C-2 ( $\delta 29.8$ ), C-5 ( $\delta 116.8$ ), C-16 ( $\delta 17.0$ ) และ  $\text{OC(O)CH}_3$ -3 ( $\delta 170.7$ ) พบ correlation ระหว่าง H-3 กับ C-6 ( $\delta 141.3$ ), C-7 ( $\delta 76.4$ ), C-15 ( $\delta 73.8$ ) และ C-16 ( $\delta 17.0$ ) พบ correlation ระหว่าง H-8 กับ C-9 ( $\delta 23.6$ ), C-11 ( $\delta 31.1$ ) และ C-1' ( $\delta 166.1$ ) พบ correlation ระหว่าง H-9 กับ C-7 ( $\delta 76.4$ ), C-8 ( $\delta 75.1$ ), C-10 ( $\delta 19.3$ ), C-12 ( $\delta 70.8$ ), C-18 ( $\delta 29.2$ ) และ C-19 ( $\delta 16.4$ ) พบ correlation ระหว่าง H-11 กับ C-8 ( $\delta 75.1$ ), C-10 ( $\delta 19.3$ ), C-12 ( $\delta 70.8$ ) และ C-19 ( $\delta 16.4$ ) พบ correlation ระหว่าง H-12 กับ C-10 ( $\delta 19.3$ ), C-11 ( $\delta 31.1$ ), C-14 ( $\delta 207.6$ ) และ  $\text{OC(O)CH}_3$ -12 ( $\delta 170.4$ ) พบ correlation ระหว่าง H-17 กับ C-5 ( $\delta 116.8$ ), C-6 ( $\delta 141.3$ ) และ C-7 ( $\delta 76.4$ ) พบ correlation ระหว่าง H-20 กับ C-13 ( $\delta 43.3$ ) และ C-14 ( $\delta 207.6$ ) พบ correlation ระหว่าง H-3' กับ C-5' ( $\delta 133.3$ ) และ C-7' ( $\delta 129.7$ ) พบ correlation ระหว่าง H-4' กับ C-2' ( $\delta 129.9$ ) และ C-6' ( $\delta 128.6$ ) พบ correlation ระหว่าง H-5' กับ C-3' ( $\delta 129.7$ ) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR และ ของ EL-3 กับ 3,12-diacetyl-8-benzoylingol โดยอนุพันธ์ Ingol ทุกตัวจะมีค่า coupling constant ( $J_2$ =ห่างกัน 2 พันธะ,  $J_3$ =ห่างกัน 3 พันธะ) เท่ากันประมาณ 8.4 Hz และ ที่ตำแหน่งที่ C-1 จะเป็นตัวกำหนด configuration ของตำแหน่งที่ C-2 และ C-3 (Marco et al., 1997, 1998) มีค่า ใกล้เคียงกัน EL-3 จึงมีโครงสร้าง เป็น 3,12-diacetyl-8-benzoylingol <sup>[27]</sup>

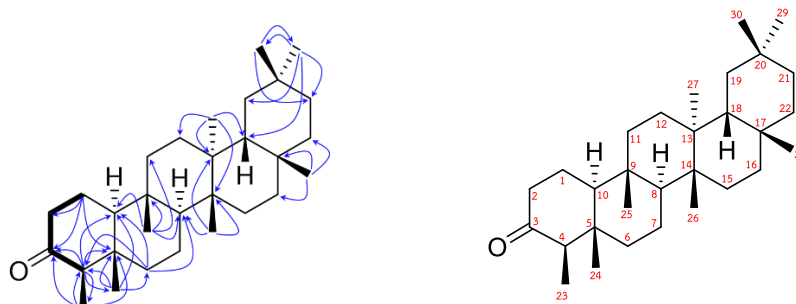
## 3.1.4 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL-4)



รูปที่ 36 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-4

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 89-93 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-4 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{29}H_{40}O_9$  มีค่า  $m/z$  555.2570  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{29}H_{40}O_9Na$ , 555.2573) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 10 และ จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 28 คาร์บอน (ดังตาราง 2.18) โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  และ 2D NMR ของ EL-3 และ EL-4 จะพบว่า EL-4 จะไม่ปรากฏสัญญาณของ benzoate group แต่จะปรากฏสัญญาณของ  $[\delta, 6.90$  (m), 1.80 (m) และ 1.83 (m)] จาก HMQC และ COSY สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1H$ - $^1H$ ) ของ (H-3' และ H-5') จาก HMBC พบ correlation ระหว่าง H-3' กับ C-1' ( $\delta$ 167.5), C-4' ( $\delta$ 14.5) และ C-5' ( $\delta$ 12.1) พบ correlation ระหว่าง H-4' กับ C-2' ( $\delta$ 128.4) พบ correlation ระหว่าง H-5' กับ C-1' ( $\delta$ 167.5) และ C-3' ( $\delta$ 138.3) โดยจากข้อมูลข้างต้นสามารถยืนยันได้ว่าชิ้นส่วนที่ต่อกับ C-8 เป็น tigloyl group ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบ  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ ของ EL-4 กับ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol มีค่า ใกล้เคียงกัน EL-4 จึงมีโครงสร้างเป็น 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol <sup>[9]</sup>

### 3.1.5 Friedelin (EL-5)

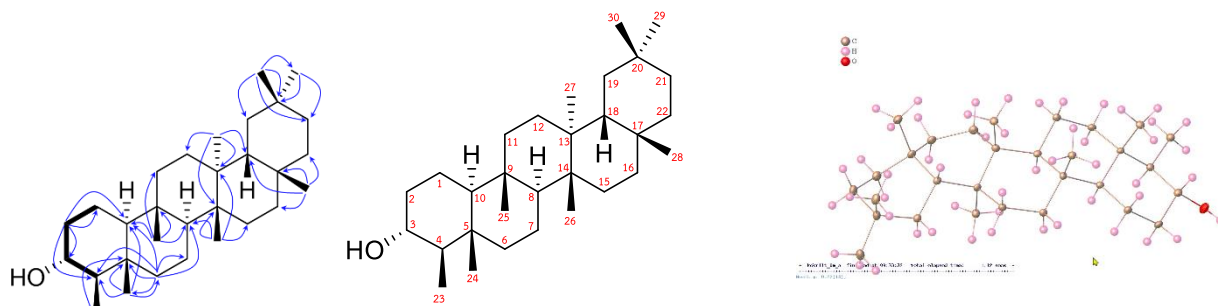


รูปที่ 37 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-5

มีลักษณะเป็นผลึกใส มีจุดหลอมเหลว 254-258 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบมวล EL-5 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{50}O$  มีค่า  $m/z$  449.3757  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{50}O$  Na, 449.3759) และ มีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 6 และ จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดง สัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน (ดังตาราง 2.19) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 4 หมู่ ที่  $[\delta_c$  58.2 (C-4), 53.1 (C-8), 59.4 (C-10) และ 42.8 (C-18)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 11 หมู่ที่  $[\delta_c$  22.3 (C-1), 41.5 (C-2), 41.3 (C-6), 18.2 (C-7), 35.6 (C-11), 30.5 (C-12), 32.4 (C-15), 36.0 (C-16), 35.3 (C-19), 32.8 (C-21) และ 39.3 (C-22)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 8 หมู่ที่  $[\delta_c$  6.8 (C-23), 14.7 (C-24), 17.9 (C-25), 20.3 (C-26), 18.7 (C-27), 32.1 (C-28), 35.0 (C-29) และ 31.8 (C-30)] พบสัญญาณของ ketone ที่  $\delta_c$  213.3 (C-3) จากข้อมูล  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้เป็นสารในกลุ่ม triterpene โดยจากค่า ความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้มีโครงสร้างหลักเป็น pentacyclic triterpene และมี พันธะคู่ 1 ตำแหน่ง จาก  $^1H$  NMR พบสัญญาณหมู่ methyl 8 หมู่ ที่  $\delta_H$  0.89 (d,  $J$  = 6.3 Hz,  $CH_3$ -23), 0.73 (s,  $CH_3$ -24), 0.87 (s,  $CH_3$ -25), 1.01 (s,  $CH_3$ -26), 1.05 (s,  $CH_3$ -27), 1.18 (s,  $CH_3$ -28), 0.95 (s,  $CH_3$ -29) และ 1.00 (s,  $CH_3$ -30) จาก COSY สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1H$ - $^1H$ ) ของ H-1 ( $\delta_H$  1.69, m) กับ H-2 ( $\delta_H$  2.26, s) และ H-1 ( $\delta_H$  1.69, m) กับ H-4 ( $\delta_H$  2.25, q,  $J$  = 6.3 Hz) จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-4 ( $\delta_H$  2.25),  $CH_3$ -23 ( $\delta_H$  0.89) และ  $CH_3$ -24 ( $\delta_H$  0.73) กับ C-3 ( $\delta_c$  213.3) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -23 ( $\delta_H$  0.89) กับ C-3 ( $\delta_c$  213.3), C-4 ( $\delta_c$  58.2) และ C-5 ( $\delta_c$  42.1) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -24 ( $\delta_H$  0.73) กับ C-4 ( $\delta_c$  58.2), C-5 ( $\delta_c$  42.1) และ C-10 ( $\delta_c$  59.4) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -25 ( $\delta_H$  0.87) กับ C-8 ( $\delta_c$  53.1), C-9 ( $\delta_c$  37.4), C-10 ( $\delta_c$  59.4) และ C-11 ( $\delta_c$  35.6) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -26 ( $\delta_H$  1.01) กับ C-8

( $\delta$ 53.1), C-13 ( $\delta$ 39.7), C-14 ( $\delta$  38.3) และ C-15 ( $\delta$ 32.4) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta$ <sub>H</sub> 1.05) กับ C-12 ( $\delta$ 30.5), C-14 ( $\delta$  38.3) และ C-18 ( $\delta$ 42.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-28 ( $\delta$ <sub>H</sub> 1.18) กับ C-16 ( $\delta$  36.0), C-17 ( $\delta$  30.0) และ C-18 ( $\delta$ 42.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta$ <sub>H</sub> 1.00) กับ C-20 ( $\delta$  28.2) และ CH<sub>3</sub>-30 ( $\delta$ 31.8) และพบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-30 ( $\delta$ <sub>H</sub> 0.95) กับ C-21 ( $\delta$ 32.8) และ CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta$ 35.0) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับ <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS ของ EL-5 กับ friedelin มีค่า ใกล้เคียงกัน EL-5 จึงมีโครงสร้างเป็น friedelin<sup>[28]</sup>

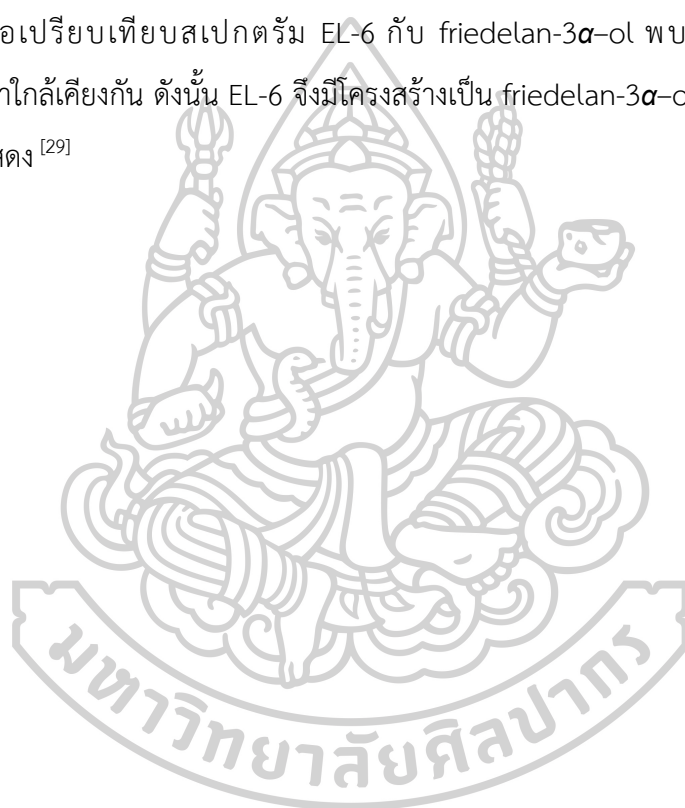


3.1.6 Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)

รูปที่ 38 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-6

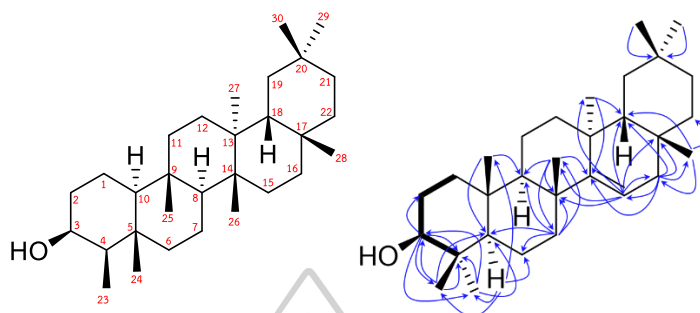
ลักษณะเป็นผลึกใส มีจุดหลอมเหลว 294–298 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-6 มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{52}O$  มีค่า  $m/z$  451.3855  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{52}ONa$ , 451.3916) และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 5 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน (ดังตาราง 2.20) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 5 หมู่ที่ [ $\delta_c$  72.2 (C-3), 53.2 (C-4), 53.0 (C-8), 60.1 (C-10) และ 42.8 (C-18)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 11 หมู่ที่ [ $\delta_c$  19.6 (C-1), 36.7 (C-2), 41.4 (C-6), 17.8 (C-7), 35.5 (C-11), 30.6 (C-12), 32.4 (C-15), 36.1 (C-16), 35.3 (C-19), 32.8 (C-21) และ 39.3 (C-22)]  $^1H$  NMR พบสัญญาณหมู่ methyl carbon 8 หมู่ที่  $\delta_H$  0.89 (d,  $J$  = 6.6 Hz,  $CH_3$ -23), 0.77 (s,  $CH_3$ -24), 0.81 (s,  $CH_3$ -25), 0.98 (s,  $CH_3$ -26), 1.01 (s,  $CH_3$ -27), 1.17 (s,  $CH_3$ -28), 0.94 (s,  $CH_3$ -29) และ 0.99 (s,  $CH_3$ -30) โดยพบสัญญาณของ oxygenated methine proton  $\delta_H$  3.35 (td,  $J$  = 10.5, 4.9 Hz, C-3, 3 $\alpha$ -OH) และเมื่อเปรียบเทียบ  $^{13}C$  NMR ของ EL-5 กับ EL-6 แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน เท่ากัน มีค่า  $\delta_c$  ที่ใกล้เคียงกัน โดยมี C-3 ที่ต่างกันคือ EL-5 พบสัญญาณของ ketone ที่ [ $\delta_c$  213.3 (C-3)] และ EL-6 จะพบสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ [ $\delta_c$  72.8 (C-3)] จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT, HMQC และ X-ray สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้เป็นสารในกลุ่ม triterpene โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้มีโครงสร้างหลักเป็น pentacyclic triterpene และสามารถยืนยันตำแหน่งของ C-3 มี configuration เป็น 3 $\alpha$ -OH โดยยืนยันจากผล X-ray จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 ( $\delta_H$  1.33, 1.60), H-2 ( $\delta_H$  1.22, 2.06) และ  $CH_3$ -23 ( $\delta_H$  0.89) กับ C-3 ( $\delta_c$  72.2) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -23 ( $\delta_H$  0.89) กับ C-3 ( $\delta_c$  72.2) และ C-5 ( $\delta_c$  38.1) พบ correlation ระหว่าง  $CH_3$ -24 ( $\delta_H$  0.77) กับ C-4

( $\delta$  53.2), C-5 ( $\delta$  38.1), C-6 ( $\delta$  41.4) และ C-10 ( $\delta$  60.1) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -25 ( $\delta_{\text{H}}$  0.81) กับ C-8 ( $\delta$  53.0), C-9 ( $\delta$  37.0) และ C-10 ( $\delta$  60.1) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -26 ( $\delta_{\text{H}}$  0.98) กับ C-13 ( $\delta$  38.3), C-14 ( $\delta$  39.7) และ C-15 ( $\delta$  32.4) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -27 ( $\delta_{\text{H}}$  1.01) กับ C-12 ( $\delta$  30.6), C-13 ( $\delta$  38.3) และ C-18 ( $\delta$  42.8) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -28 ( $\delta_{\text{H}}$  1.17) กับ C-16 ( $\delta$  36.1), C-17 ( $\delta$  30.0), C-18 ( $\delta$  42.8) และ C-22 ( $\delta$  39.3) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -29 ( $\delta_{\text{H}}$  0.99) กับ C-19 ( $\delta$  35.3), C-21 ( $\delta$  32.8) และ  $\text{CH}_3$ -30 ( $\delta$  35.0) พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -30 ( $\delta_{\text{H}}$  0.94) กับ C-20 ( $\delta$  28.2), C-21 ( $\delta$  32.8) และ  $\text{CH}_3$ -29 ( $\delta$  31.8) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัม EL-6 กับ friedelan-3 $\alpha$ -ol พบว่า  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR และ HRESIMS มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้น EL-6 จึงมีโครงสร้างเป็น friedelan-3 $\alpha$ -ol ซึ่งสอดคล้องกับผล X-ray ดังรูปที่แสดง <sup>[29]</sup>





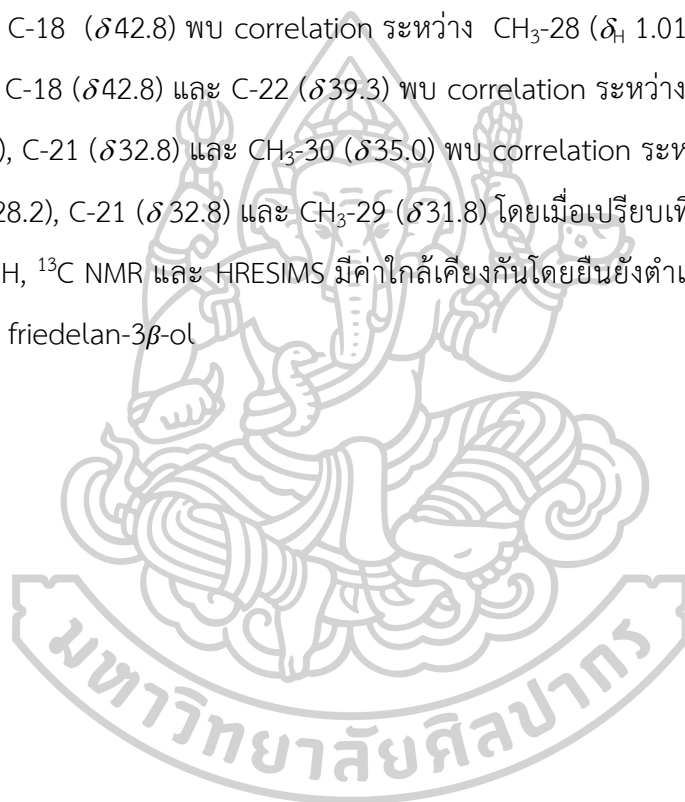
### 3.1.7 Friedelan-3 $\beta$ -ol (EL- 7)



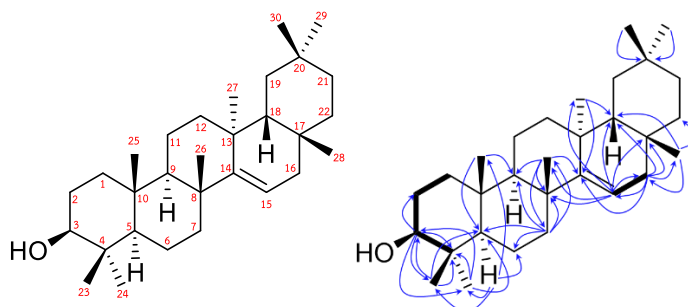
รูปที่ 39 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-7

ลักษณะเป็นผลึกใส มีจุดหลอมเหลว 274-280 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-7 มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{52}O$  มีค่า  $m/z$  446.4356  $[M+NH_4]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{52}ONH_4$ , 446.4362) และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 5 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน (ดังตาราง 2.21) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 5 หมู่ที่ [ $\delta_c$  72.8 (C-3), 49.2 (C-4), 53.2 (C-8), 61.3 (C-10) และ 42.8 (C-18)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 11 หมู่ที่ [ $\delta_c$  15.8 (C-1), 35.2 (C-2), 47.1 (C-6), 17.6 (C-7), 35.6 (C-11), 30.6 (C-12), 32.3 (C-15), 36.1 (C-16), 35.3 (C-19), 32.8 (C-21) และ 39.3 (C-22)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 8 หมู่ที่ [ $\delta_c$  11.6 (C-23), 16.4 (C-24), 18.3 (C-25), 20.1 (C-26), 18.7 (C-27), 32.1 (C-28), 35.0 (C-29) และ 31.8 (C-30)] พบสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ [ $\delta_c$  72.8 (C-3)] จากข้อมูล  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้เป็นสารในกลุ่ม triterpene โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล และเมื่อเปรียบเทียบกับ  $^{13}C$  NMR ของ EL-6 กับ EL-7 แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอนเท่ากัน มีค่า  $\delta_c$  ที่ใกล้เคียงกัน โดยมี C-3 ที่ต่างกันคือ EL-6 จะพบสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ [ $\delta_c$  72.2 (C-3)] มี configuration เป็น 3 $\alpha$ -OH และ EL-7 มี configuration เป็น 3 $\beta$ -OH จึงสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้มีโครงสร้างหลักเป็น pentacyclic triterpene จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณหมู่ methyl 8 หมู่ที่  $\delta_H$  0.93 (d,  $J$  = 6.0 Hz,  $CH_3$ -23), 0.96 (s,  $CH_3$ -24), 0.86 (s,  $CH_3$ -25), 0.99 (s,  $CH_3$ -26), 1.01 (s,  $CH_3$ -27), 1.18 (s,  $CH_3$ -28), 0.95 (s,  $CH_3$ -29), 1.00 (s,  $CH_3$ -30) และ สัญญาณของ oxygenated methine proton  $\delta_H$  3.73 (m, C-3) จาก COSY สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1H$ - $^1H$ ) ของ H-1 ( $\delta_H$

1.59, m) กับ H-3 ( $\delta_H$  3.73, m), H-2 ( $\delta_H$  1.90, m) กับ H-3 ( $\delta_H$  3.73, m) และ H-4 ( $\delta_H$  125, m) กับ H-3 ( $\delta_H$  3.73, m) จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-3 ( $\delta$  3.73) กับ C-1 ( $\delta$  15.8), C-2 ( $\delta$  35.2) C-4 ( $\delta$  49.2) และ C-5 ( $\delta$  37.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-23 ( $\delta_H$  0.93) กับ C-3 ( $\delta$  35.2) C-4 ( $\delta$  49.2) และ C-5 ( $\delta$  37.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-24 ( $\delta_H$  0.96) กับ C-4 ( $\delta$  49.2), C-5 ( $\delta$  37.8), C-6 ( $\delta$  47.1) และ C-10 ( $\delta$  61.3) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-25 ( $\delta_H$  0.86) กับ C-8 ( $\delta$  53.2), C-10 ( $\delta$  61.3) และ C-11 ( $\delta$  35.6) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-26 ( $\delta_H$  0.99) กับ C-8 ( $\delta$  53.2) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta_H$  1.01) กับ C-12 ( $\delta$  30.6), C-13 ( $\delta$  38.4) และ C-18 ( $\delta$  42.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-28 ( $\delta_H$  1.01) กับ C-16 ( $\delta$  36.1), C-17 ( $\delta$  30.0), C-18 ( $\delta$  42.8) และ C-22 ( $\delta$  39.3) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta_H$  1.00) กับ C-19 ( $\delta$  35.3), C-21 ( $\delta$  32.8) และ CH<sub>3</sub>-30 ( $\delta$  35.0) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-30 ( $\delta_H$  0.95) กับ C-20 ( $\delta$  28.2), C-21 ( $\delta$  32.8) และ CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta$  31.8) โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัม EL-6 กับ EL-7 พบว่า <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS มีค่าใกล้เคียงกันโดยยืนยันยังตำแหน่ง ดังนั้น EL-7 จึงมีโครงสร้างเป็น friedelan-3 $\beta$ -ol



### 3.1.8 Taraxerol (EL-8)



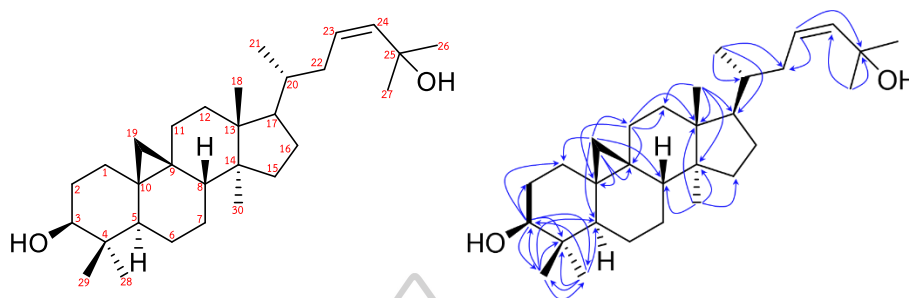
รูปที่ 40 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-8

ลักษณะเป็นผลึกใส มีจุดหลอมเหลว 269-272 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-8 มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{50}O$  มีค่า  $m/z$  449.3768  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{52}ONa$ , 449.3762) และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 6 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน (ดังตาราง 2.22) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 5 หมู่ที่ [ $\delta_c$  79.1 (C-3), 55.5 (C-5), 49.3 (C-9), 116.9 (C-15) และ 48.7 (C-18)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 10 หมู่ที่ [ $\delta_c$  37.7 (C-1), 27.1 (C-2), 18.8 (C-6), 41.3 (C-7), 17.5 (C-11), 33.1 (C-12), 37.3 (C-16), 36.7 (C-19), 33.7 (C-21) และ 35.1 (C-22)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 8 หมู่ที่ [ $\delta_c$  28.0 (C-23), 15.5 (C-24), 15.4 (C-25), 25.9 (C-26), 21.3 (C-27), 28.9 (C-28), 33.4 (C-29) และ 29.9 (C-30)] จากข้อมูล  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC สามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างนี้เป็นสารในกลุ่ม triterpene โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล และเมื่อเปรียบเทียบ  $^{13}C$  NMR ของ EL-8 กับ EL-7 แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอนเท่ากัน มีค่า  $\delta_c$  ที่ใกล้เคียงกัน โดยจากค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุลสรุปได้ว่า EL-8 โครงสร้างหลักเป็น pentacyclic triterpene และมีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณหมู่ methyl 8 หมู่ที่  $\delta_H$  0.98 (s,  $CH_3$ -23), 0.80 (s,  $CH_3$ -24), 0.93 (s,  $CH_3$ -25), 1.09 (s,  $CH_3$ -26), 0.90 (s,  $CH_3$ -27), 0.82 (s,  $CH_3$ -28), 0.95 (s,  $CH_3$ -29), 0.90 (s,  $CH_3$ -30) พบสัญญาณของ olefin proton ที่  $\delta_H$  5.53 (dd,  $J$  = 8.2, 3.2 Hz, H-15) และ สัญญาณของ oxygenated methine proton  $\delta_H$  3.73 (m, C-3) จาก COSY สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง ( $^1H$ - $^1H$ ) ของ H-2 ( $\delta_H$  1.59, m) กับ H-3 ( $\delta_H$  3.19, m), H-15 ( $\delta_H$  5.53, dd,  $J$  = 8.2, 3.2 Hz) กับ H-16 ( $\delta_H$  1.63, m, 1.91, dd,  $J$  = 14.7, 3.1 Hz) และ H-16 ( $\delta_H$  1.91, dd,  $J$  = 14.7, 3.1 Hz) กับ H-28 ( $\delta_H$  0.82, s) จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-3 ( $\delta$  3.19) กับ C-2 ( $\delta$  27.1), C-4 ( $\delta$  38.8),  $CH_3$ -23 ( $\delta$  28.0) และ  $CH_3$ -24 ( $\delta$  15.6)

พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -23 ( $\delta_{\text{H}}$  0.98) กับ C-3 ( $\delta$  79.1), C-4 ( $\delta$  38.8) และ C-5 ( $\delta$  55.5)  
พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -24 ( $\delta_{\text{H}}$  0.80) กับ C-3 ( $\delta$  79.1), C-4 ( $\delta$  38.8) และ C-5 ( $\delta$  55.5) พบ  
correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -25 ( $\delta$  0.93) กับ C-9 ( $\delta$  49.3) และ C-5 ( $\delta$  55.5) พบ correlation  
ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -26 ( $\delta_{\text{H}}$  1.09) กับ C-7 ( $\delta$  41.3), C-8 ( $\delta$  39.0), C-9 ( $\delta$  49.3) และ C-14 ( $\delta$  158.1)  
พบ correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -27 ( $\delta_{\text{H}}$  1.01) กับ C-14 ( $\delta$  158.1) และ C-18 ( $\delta$  48.7) พบ  
correlation ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -28 ( $\delta_{\text{H}}$  1.01) กับ C-18 ( $\delta$  48.7) และ C-22 ( $\delta$  35.1) พบ correlation  
ระหว่าง  $\text{CH}_3$ -29 ( $\delta_{\text{H}}$  1.00) กับ C-20 ( $\delta$  28.8) และ  $\text{CH}_3$ -30 ( $\delta$  29.9) พบ correlation ระหว่าง  
 $\text{CH}_3$ -30 ( $\delta_{\text{H}}$  0.95) กับ C-20 ( $\delta$  28.8) และ  $\text{CH}_3$ -29 ( $\delta$  33.4) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR  
และ HRESIMS ของ EL-8 กับ taraxerol มีค่าใกล้เคียงกัน EL-8 จึงมีโครงสร้างเป็น taraxerol [29]



### 3.1.9 Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)



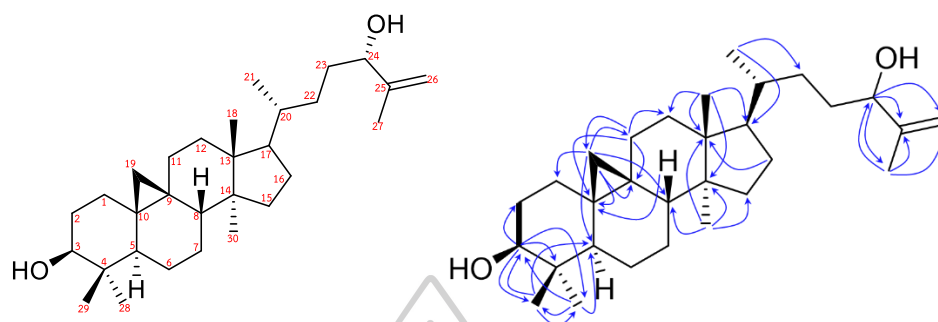
รูปที่ 41 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-9

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 89-93 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-9 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{50}O_2$  มีค่า  $m/z$  465.3712  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{50}O_2Na$ , 465.3709) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 6 และ จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน (ดังตาราง 2.23) โดยพบสัญญาณของ cyclopropane carbon ที่ [ $\delta_c$  20.0 (C-9), 26.1 (C-10) และ 29.9 (C-19)] พบสัญญาณของ methines carbon 6 หมู่ที่ [ $\delta_c$  47.1 (C-5), 48.0 (C-8), 52.0 (C-17), 36.4 (C-20), 125.6 (C-23) และ 139.4 (C-24)] พบสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ [ $\delta_c$  78.8 (C-3)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 10 หมู่ที่ [ $\delta_c$  32.0 (C-1), 30.4 (C-2), 21.1 (C-6), 28.1 (C-7), 26.5 (C-11), 32.8 (C-12) 35.6 (C-15), 26.0 (C-16), 29.9 (C-19) และ 39.0 (C-22)] พบสัญญาณของ methyl carbon 7 หมู่ที่ [ $\delta_c$  18.1 (C-18), 18.3 (C-21), 30.0 (C-26), 30.0 (C-27), 14.0 (C-28), 25.4 (C-29) และ 19.3 (C-30)] พบสัญญาณของ second hydroxyl group ที่ [ $\delta_c$  70.8 (C-25)] จากข้อมูล  $^{13}C$  NMR, DEPT, HMQC และข้อมูลค่าความไม่อิ่มตัวสามารถสรุปได้ว่า EL-9 มีโครงสร้างหลักเป็นวง 5 วงกับ 1 พันธะคู่จาก สเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณของ proton ที่ [ $\delta_H$  0.34 (d,  $J$  = 4.1 Hz) และ 0.56 (d,  $J$  = 4.1 Hz)] ซึ่งเป็น character ของอนุพันธ์ Cycloartane-3 $\beta$ -ol และยืนยันจากการพบสัญญาณของ oxygenated methine proton ที่ [ $\delta_H$  3.28 (dd,  $J$  = 11.0, 4.1 Hz)] (Furlan et al.,1993) จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณของ cis disubstituted double bond ที่ [ $\delta_H$  5.60 (H-23, m overlap)] ซึ่ง coupling กับ proton ที่ [ $\delta_H$  5.60 (H-24, m overlap)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 7 หมู่ที่ [ $\delta_H$  0.97 (CH<sub>3</sub>-18, s), 0.86 (CH<sub>3</sub>-21, d,  $J$  = 4.5

Hz), 1.31 (CH<sub>3</sub>-26, s), 1.31 (CH<sub>3</sub>-27, s), 0.81 (CH<sub>3</sub>-28, s), 0.97 (CH<sub>3</sub>-29, s) และ 0.88 (CH<sub>3</sub>-30, s)] จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-3 กับ C-2 ( $\delta$  30.4), C-4 ( $\delta$  40.5), C-29 ( $\delta$  25.4) และ C-30 ( $\delta$  19.3) พบ correlation ระหว่าง H-11 กับ C-9 ( $\delta$  20.0), C-10 ( $\delta$  26.1), C-12 ( $\delta$  32.8) และ C-13 ( $\delta$  45.3) พบ correlation ระหว่าง H-18 กับ C-12 ( $\delta$  32.8), C-13 ( $\delta$  45.3), C-14 ( $\delta$  48.8) และ C-17 ( $\delta$  52.0) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-19 กับ C-1 ( $\delta$  32.0), C-5 ( $\delta$  47.1), C-8 ( $\delta$  48.0), (C-9) ( $\delta$  20.0) และ C-11 ( $\delta$  26.5) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-21 กับ C-17 ( $\delta$  52.0), C-20 ( $\delta$  36.4) และ C-22 ( $\delta$  39.0) พบ correlation ระหว่าง H-23 กับ C-22 ( $\delta$  39.0) และ C-25 ( $\delta$  70.8) พบ correlation ระหว่าง H-24 กับ C-22 ( $\delta$  39.0) และ C-25 ( $\delta$  70.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-26 กับ C-25 ( $\delta$  70.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-27 กับ C-24 ( $\delta$  139.4) และ C-25 ( $\delta$  70.8) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-28 กับ C-3 ( $\delta$  78.8), C-4 ( $\delta$  40.5) C-5 ( $\delta$  47.1) และ C-29 ( $\delta$  25.4) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-29 กับ C-3 ( $\delta$  78.8), C-4 ( $\delta$  40.5) C-5 ( $\delta$  47.1) และ C-28 ( $\delta$  14.0) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-30 กับ C-8 ( $\delta$  48.0), C-13 ( $\delta$  45.3) C-14 ( $\delta$  48.8) และ C-15 ( $\delta$  35.6) จากข้อมูลข้างต้นสามารถยืนยันขึ้นชิ้นส่วนและความสัมพันธ์ในโครงสร้างของ EL-9 และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่า <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS มีค่าใกล้เคียงกันจึงสรุปได้ว่า EL-9 มีโครงสร้างเป็น Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol [30]



3.10 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol  
(EL-10 และ EL-11)



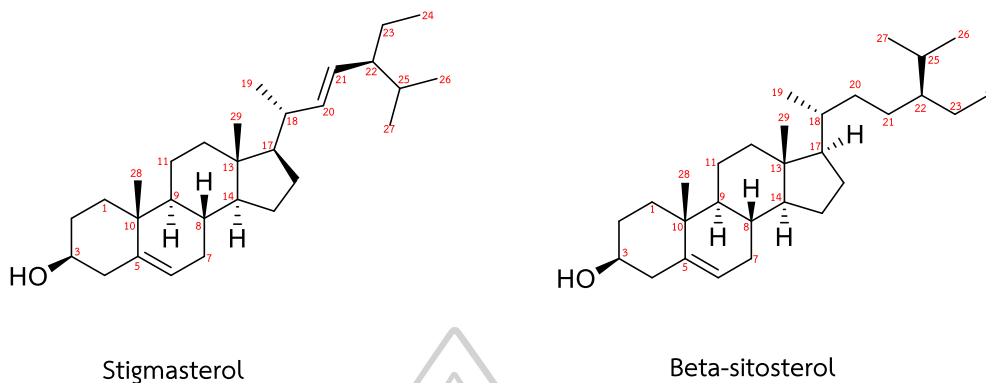
รูปที่ 42 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-10-EL-11

มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 99-101 °C จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-10 และ EL-11 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{50}O_2$  มีค่า  $m/z$  425.3730  $[M+H-H_2O]^+$  (calcd.  $C_{30}H_{49}O$ , 425.3783) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 6 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR พบว่า EL-10 และ EL-11 เป็นสารผสมที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน และจากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของสารผสมระหว่าง (EL-10 และ EL-11) 30 คาร์บอนจาก HMQC พบว่า EL-10 และ EL-11 มีค่า  $\delta_c$  ที่แตกต่างกัน (ดังตาราง 2.24) โดยจาก  $^{13}C$  NMR ของ EL-10 พบสัญญาณ cyclopropane carbon ที่ [ $\delta_c$  20.0 (C-9), 26.1 (C-10) และ 29.9 (C-19)] พบสัญญาณของ methines carbon 5 หมู่ที่ [ $\delta_c$  47.1 (C-5), 48.0 (C-8), 52.2 (C-17), 36.0 (C-20) และ 76.8 (C-24)] พบสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่ [ $\delta_c$  78.9 (C-3)] พบสัญญาณของ methylenes carbon 11 หมู่ที่ [ $\delta_c$  31.9 (C-1), 30.4 (C-2), 21.1 (C-6), 28.1 (C-7), 26.0 (C-11), 35.6 (C-12) 35.6 (C-15), 26.5 (C-16), 29.9 (C-19), 31.9 (C-22) และ 31.9 (C-23)] พบสัญญาณของ methyl carbon 6 หมู่ที่ [ $\delta_c$  18.0 (C-18), 18.3 (C-21), 17.2 (C-27), 25.4 (C-28), 14.0 (C-29) และ 19.3 (C-30)] พบสัญญาณของ quaternary olefin carbon ที่ [ $\delta_c$  147.5 (C-25)] จากข้อมูลข้างต้นและเปรียบเทียบกับสเปกตรัมกับ EL-9 ยืนยันได้ว่าสารผสมระหว่าง EL-10 และ EL-11 มีโครงสร้างหลักเป็น Cycloartane cyclopropane ring จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณของ secondary methyl group ที่ [ $\delta_H$  0.97 (s, H-21)] พบสัญญาณของหมู่ methyl 5 หมู่ ที่ [ $\delta_H$  0.97 (s, H-18), 1.73 (s, H-27), 0.97 (s, H-28), 0.81 (s, H-29) และ 0.88 (s, H-30)] พบสัญญาณของ

carbinolic protons 2 หมู่ ที่  $[\delta_{\text{H}} 3.28 \text{ (dd, } J=10.8, 4.5 \text{ Hz, H-3) และ } 4.02 \text{ (t, } J= 6.5 \text{ Hz, H-24) พบสัญญาณของ olefinic protons ที่ } [\delta_{\text{H}} 4.93 \text{ (s), } 4.84 \text{ (s, H-26] จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-3 กับ C-2 ( $\delta$  30.4), C-4 ( $\delta$  40.5), C-28 ( $\delta$  25.4) และ C-29 ( $\delta$  14.0) พบ correlation ระหว่าง H-8 กับ C-10 ( $\delta$  26.1) พบ correlation ระหว่าง H-11 กับ C-9 ( $\delta$  20.0), C-10 ( $\delta$  26.1), C-12 ( $\delta$  35.6) และ C-19 ( $\delta$  29.9) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-18 กับ C-12 ( $\delta$  35.6), C-13 ( $\delta$  45.3), C-14 ( $\delta$  48.8) และ C-17 ( $\delta$  52.2) พบ correlation ระหว่าง H-19 กับ C-1 ( $\delta$  31.9), C-5 ( $\delta$  40.5), C-8 ( $\delta$  48.0), C-9 ( $\delta$  20.0), C-10 ( $\delta$  26.1) และ C-11 ( $\delta$  26.0) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-21 กับ C-17 ( $\delta$  52.2) และ C-22 ( $\delta$  31.9) พบ correlation ระหว่าง H-24 กับ C-22 ( $\delta$  31.9), C-25 ( $\delta$  147.5), C-26 ( $\delta$  114.4) และ CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta$  17.2) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-26 กับ C-24 ( $\delta$  76.8) และ CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta$  17.2) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-27 กับ C-22 ( $\delta$  31.9), C-25 ( $\delta$  147.5) และ C-26 ( $\delta$  114.4) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-28 กับ C-3 ( $\delta$  78.8), C-5 ( $\delta$  40.5) และ CH<sub>3</sub>-29 ( $\delta$  25.4) พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-30 กับ C-8 ( $\delta$  48.0) และ C-15 ( $\delta$  35.6) จากข้อมูลข้างต้นสามารถยืนยันขึ้นส่วนและความสัมพันธ์ในโครงสร้างของ EL-10 และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่า <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS มีค่าใกล้เคียงกันจึงสรุปได้ว่า EL-10 มีโครงสร้างเป็น 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol ซึ่งเป็น epimer กับ EL-11 ที่มีโครงสร้างเป็น 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol <sup>[31]</sup>$



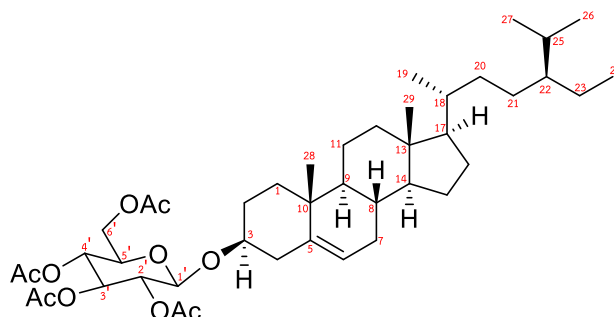
### 3.11 สารผสมระหว่าง $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol (EL-12 และ EL-13)



#### รูปที่ 43 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-12-EL-13

สารผสมระหว่าง ( $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol) จาก  $^1\text{H}$  NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methyl 6 หมู่ ที่  $\delta_{\text{H}}$  0.68 (s,  $\text{CH}_3$ -18), 1.01 (s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.02 (d,  $J = 6.6$  Hz  $\text{CH}_3$ -21), 0.83 (m,  $\text{CH}_3$ -26), 0.80 (d,  $J = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_3$ -27) และ 0.82 (m,  $\text{CH}_3$ -21) พบสัญญาณของ olefinic proton ที่  $\delta$  5.35 (m, C-6), 5.16 (dd,  $J = 15.3, 8.4$  Hz, C-22) และ 5.01 (dd,  $J = 15.3, 8.4$  Hz, C-23) และสัญญาณของ oxygenated methine proton ที่  $\delta$  3.53 (m, C-2) จาก  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum พบสัญญาณของ olefin carbon ที่  $\delta$  140.9 (C-5), 121.9 (C-6) 138.6 (22) และ 129.6 (23) และสัญญาณของ oxygenated methine carbon ที่  $\delta$  72.1 (C-3) จากการเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ของสารผสม EL-12 กับ stigmasterol พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาค่า integration ของโปรตอน ที่  $\delta$  5.36 (C-6), 5.16 (C-22) และ 3.53 (C-3) พบว่ามีอัตราส่วน เป็น 2:1:1:2 ทำให้ทราบว่าเป็นสารผสม 2 ตัวระหว่าง  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol [32]

### 3.12 $\beta$ -sitosterol glucoside acetate (EL-14Ac)

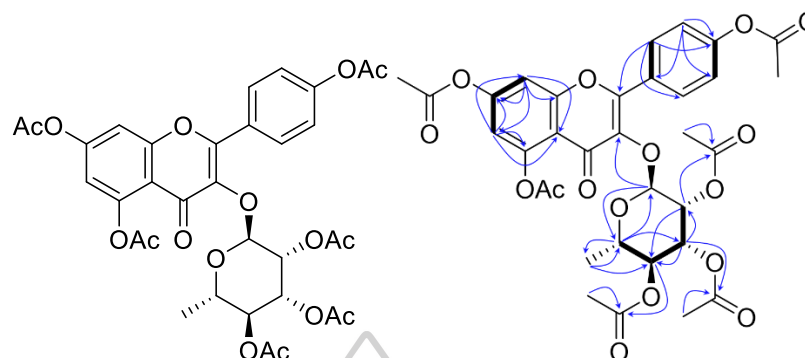


รูปที่ 44 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-14

สารมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จาก  $^1\text{H}$  NMR spectrum พบสัญญาณของหมู่ methyl 6 หมู่ที่  $\delta_{\text{H}}$  0.68 (3H, m), 0.82 (6H, m), 0.84 (3H, m), 0.86 (3H, m) และ 1.00 (3H, m) พบสัญญาณ vinylic proton ที่ 5.36 (1H, s) และพบสัญญาณของ glucose โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ระหว่าง EL-14 กับ  $\beta$ -sitosterol glucoside พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันจึงยืนยันโครงสร้างของ EL-14 โดยการทำปฏิกิริยา acetylation ได้เป็น EL-14Ac

EL-14Ac มีลักษณะผลึกใส จาก  $^1\text{H}$  NMR spectrum พบสัญญาณของ acetate hydrogen ที่  $\delta_{\text{H}}$  2.05 (s,  $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -2'), 2.01 (s,  $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -3'), 2.02 (s,  $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -4') และ 2.08 (s,  $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ -6') และพบสัญญาณของ glucose acetate hydrogen ที่  $\delta_{\text{H}}$  4.59 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1'), 4.96 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2'), 5.21 (t,  $J = 9.4$  Hz, 3'), 5.08 (t,  $J = 9.7$  Hz, 4'), 3.68 (ddd,  $J = 9.8, 4.7, 2.4$  Hz, 5') และ 4.26 (dd,  $J = 12.2, 4.8$  Hz, 6'), 4.11 (dd,  $J = 12.2, 2.3$  Hz, 6') จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-6 ( $\delta$  5.37) กับ C-4 ( $\delta$  38.9), C-7 ( $\delta$  32.0), C-8 ( $\delta$  39.1) และ C-10 ( $\delta$  36.7) และพบ correlation ระหว่าง H-1' ( $\delta$  4.59) และ C-3 ( $\delta$  80.1) ดังนั้น EL-14 จึงมีโครงสร้างเป็น  $\beta$ -sitosterol glucoside <sup>[32]</sup>

## 3.13 Afzelin acetate (EL-15Ac)



รูปที่ 45 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-15Ac

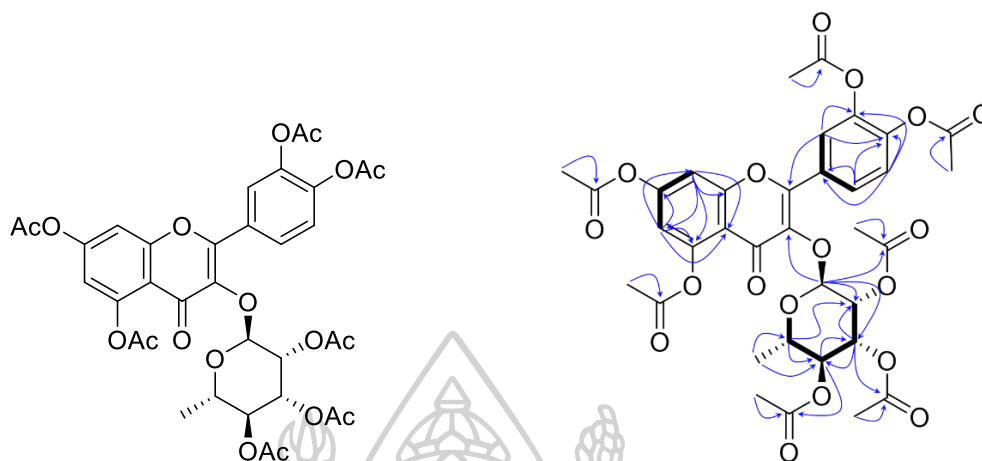
สารมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จาก  $^1\text{H}$  NMR spectrum พบสัญญาณของ H บนวง aromatic และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่  $-\text{OH}$  จึงทำให้สารมีขั้วที่สูงและไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าวมาทำปฏิกิริยา acetylation

EL-15Ac มีลักษณะเป็นแข็งสีขาว จากผล HRESIMS ทำให้ทราบมวล EL-17Ac มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$  มีค่า  $m/z$  707.1568  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd.  $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{O}_{16}\text{Na}$ , 707.1588) และมีความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 18 และ จากสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 33 คาร์บอน (ดังตาราง 2.28) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 11 หมู่ที่ [ $\delta_{\text{c}}$  113.6 (C-6), 109.0 (C-8), 130.2 (C-2'), 122.2 (C-3'), 122.2 (C-5'), 130.2 (C-6'), 98.1 (C-1''), 69.1 (C-2''), 68.9 (C-3''), 70.3 (C-4'') และ 68.4 (C-5'')] พบสัญญาณของ methyl carbon ใน acetate group 6 หมู่ที่ [ $\delta_{\text{c}}$  17.0 (C-6''), 21.1 (OC(O)CH<sub>3</sub>-5), 21.09 (OC(O)CH<sub>3</sub>-7), 20.9 (OC(O)CH<sub>3</sub>-2''), 20.7 (OC(O)CH<sub>3</sub>-3'') และ 20.8 (OC(O)CH<sub>3</sub>-4'')] และสัญญาณของ methyl carbon บนวงของน้ำตาล ที่ [ $\delta_{\text{c}}$  17.0 (C-6'')] จากสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR พบสัญญาณของ proton บนวง aromatic ที่ [ $\delta_{\text{H}}$  6.84 (d,  $J$  = 2.2 Hz, H-6), 7.29 (d,  $J$  = 2.2 Hz, H-8), 7.92 (d,  $J$  = 8.8 Hz, H-2'), 7.29 (d,  $J$  = 8.8 Hz, H-3'), 7.29 (d,  $J$  = 8.8 Hz, H-5') และ 7.92 (d,  $J$  = 8.8 Hz, H-6')] พบสัญญาณของหมู่ methyl ของ acetate 6 หมู่ ที่ [ $\delta_{\text{H}}$  2.44 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-5), 2.35 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-7), 2.33 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-4'), 2.13 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-2''), 1.99 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-3'') และ 1.98 (s, OC(O)CH<sub>3</sub>-4'')] พบสัญญาณของหมู่ methyl บนวงของน้ำตาล ที่ [ $\delta_{\text{H}}$  0.87 (d,  $J$  = 6.3

Hz, CH<sub>3</sub>-6''] จาก cosy สเปกตรัมพบ correlation ระหว่าง (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H) ของ H-1'' กับ H-2'' พบ correlation ระหว่าง H-2'' กับ H-3'' พบ correlation ระหว่าง H-3'' กับ H-4'' พบ correlation ระหว่าง CH<sub>3</sub>-6'' กับ H-5'' จากข้อมูล cosy ยืนยันชิ้นส่วนของน้ำตาลที่ต่อกับโครงสร้าง EL-16Ac และ พบ correlation ระหว่าง H-6 กับ H-8 พบ correlation ระหว่าง H-2' กับ H-3' พบ correlation ระหว่าง H-5' กับ H-6' จากข้อมูลข้างต้นยืนยันได้ว่า EL-15Ac มีโครงสร้างหลักเป็น flavonoid ที่ต่อกับน้ำตาล rhamnose จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-6 กับ C-5 (δ 150.4), C-7 (δ 154.0), C-8 (δ 109.0) และ C-10 (δ 115.6) พบ correlation ระหว่าง H-8 กับ C-6 (δ 113.6), C-7 (δ 154.0), C-8 (δ 109.0), C-9 (δ 156.7) และ C-10 (δ 115.6) พบ correlation ระหว่าง H-6' กับ C-1' (δ 127.5), C-2' (δ 130.2) และ C-4' (δ 152.8) พบ correlation ระหว่าง H-1'' กับ C-3 (δ 137.0) พบ correlation ระหว่าง H-2'' กับ OC(O)CH<sub>3</sub>-4'' (δ 170) พบ correlation ระหว่าง H-3'' กับ C-2'' (δ 69.1) และ C-4'' (δ 70.3) พบ correlation ระหว่าง H-5'' กับ C-1'' (δ 98.1), C-3'' (δ 68.9), C-4'' (δ 70.3), และ C-6'' (δ 17.0) จากข้อมูลข้างต้นเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัม <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR และ HRESIMS ของ EL-16Ac กับ Afzelin พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันโดย carbon ตำแหน่งที่ C-5, C-7, C-4' และหมู่ -OH บนวงของน้ำตาลจะถูกแทนที่ด้วย acetate group ดังนั้น EL-15Ac จึงมีโครงสร้างเป็น Afzelin acetate [32]



## 3.14 Quercitrin acetate (EL-16Ac)

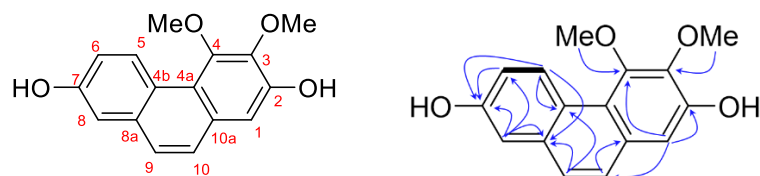


รูปที่ 46 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) EL-16Ac

สารมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จาก  $^1\text{H}$  NMR spectrum พบสัญญาณของ H บนวง aromatic และพบว่า spectrum ที่ได้มีลักษณะ broad และสัญญาณ โปรตอน ของหมู่  $-\text{OH}$  จึงทำให้สารมีขั้วที่สูงและไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เพื่อให้ง่ายต่อการแยก และยืนยันโครงสร้างผู้วิจัยจึงนำสารดังกล่าวมาทำปฏิกิริยา acetylation

EL-16Ac มีลักษณะเป็นแข็งสีขาว จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า EL-16Ac มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{O}_{18}$  มีค่า  $m/z$  765.1637  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd.  $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{O}_{18}\text{Na}$ , 765.1643) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 19 จากสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 34 คาร์บอน (ดังตาราง 2.29) เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมระหว่าง EL-15Ac และ EL-16Ac จะมีความคล้ายคลึงกันมากแต่ EL-16Ac จะพบสัญญาณของ acetate group เพิ่มมา 1 หมู่ ซึ่งยืนยันได้จาก  $^1\text{H}$  NMR มีหมู่ methyl proton ของ acetate ที่  $[\delta_{\text{H}} 2.34 \text{ (s, OC(O)CH}_3\text{-5')}]$  จากข้อมูล  $^{13}\text{C}$  NMR และ HMQC ยืนยันได้ว่า ที่  $[\delta_{\text{C}} 154.2 \text{ (s, OC(O)CH}_3\text{-5')}]$  ต่อ อยู่กับหมู่ acetate เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัม  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR และ HRESIMS ของ EL-17Ac กับ Quercitrin พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันโดย carbon ตำแหน่งที่ C-5, C-7, C-4', C-5' และหมู่  $-\text{OH}$  บนวงของน้ำตาลจะถูกแทนที่ด้วย acetate group ดังนั้น EL-16Ac จึงมีโครงสร้างเป็น Quercitrin acetate <sup>[32]</sup>

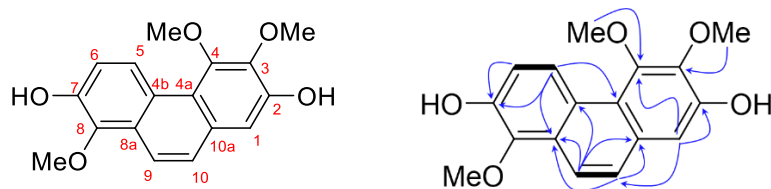
## 3.15 Nudol (DS-1)



รูปที่ 47 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-1

ลักษณะเป็นของหนืดใสสีเหลือง จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า DS-1 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{16}H_{14}O_4$  มีค่า  $m/z$  239.0785  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{16}H_{14}O_4Na$ , 239.0790) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 10 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 16 คาร์บอน (ดังตาราง 2.30) โดยพบสัญญาณของ methines carbon 6 หมู่ที่ [ $\delta_c$  108.9 (C-1), 128.0 (C-5), 116.7 (C-6), 111.6 (C-8), 126.2 (C-9) และ 126.8 (C-10)] พบสัญญาณของ quaternary 8 หมู่ที่ [ $\delta_c$  149.0 (C-2), 142.0 (C-3), 151.3 (C-4), 118.3 (C-4a), 123.5 (C-4b), 154.9 (C-7), 133.7 (C-8a) และ 129.4 (C-10a)] จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณของ methoxy group 2 หมู่ที่ [ $\delta_H$  4.00 (s, 3-OCH<sub>3</sub>) และ 3.97 (s, 4-OCH<sub>3</sub>)] พบสัญญาณของ methines proton บนวง aromatic 6 หมู่ที่ [ $\delta_H$  7.15 (H-1), 9.32 (H-5), 7.19 (H-6), 7.24 (H-8), 7.53 (H-9) และ 7.50 (H-10)] จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 กับ 149.0 (C-2) และ 126.8 (C-10) พบ correlation ระหว่าง H-5 กับ 154.9 (C-7) และ 133.7 (C-8a) พบ correlation ระหว่าง H-6 กับ 128.0 (C-5) พบ correlation ระหว่าง H-8 กับ 154.9 (C-7) และ 133.7 (C-8a) พบ correlation ระหว่าง H-9 กับ 133.7 (C-8a), 123.5 (C-4b) และ 129.4 (C-10a) จากข้อมูลข้างต้นเมื่อนำสเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ HRESIMS ของ DS-1 กับ nudol ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้พบว่ามีความใกล้เคียงกันจึงยืนยันได้ว่า DS-1 มีโครงสร้างเป็น nudol <sup>[30]</sup>

## 3.16 Confurasin (DS-2)

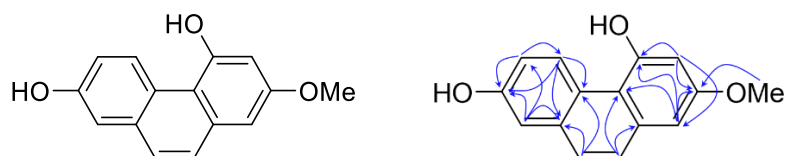


รูปที่ 48 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-2

ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า DS-2 มีสูตร โมเลกุลเป็น  $C_{17}H_{16}O_5$  มีค่า  $m/z$  323.0892  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{17}H_{16}O_5Na$ , 323.0895) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 10 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 17 คาร์บอน (ดังตาราง 2.31) โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของ  $^1H$  และ  $^{13}C$  NMR ระหว่าง DS-1 กับ DS-2 พบว่ามีความคล้ายกันแต่ DS-2 จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR จะพบสัญญาณของ methoxy group เพิ่มมา 1 หมู่ที่  $[\delta_H$  3.97 (s, 8-OCH<sub>3</sub>)] เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ HRESIMS ของ DS-2 กับ confurasin ที่เคยมีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้พบว่า DS-2 มีโครงสร้างเป็น confurasin [33]



## 3.17 Lusianthidin (DS-3)

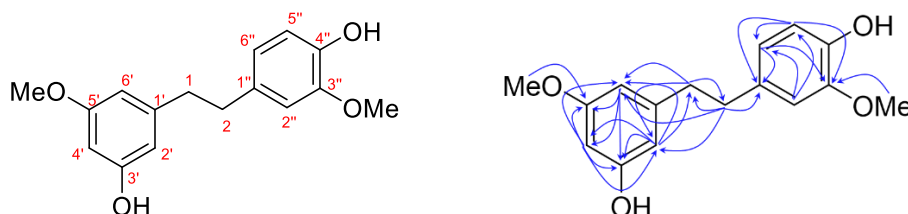


รูปที่ 49 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-3

ลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า DS-5 มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{15}H_{13}O_3$  มีค่า  $m/z$  241.0861  $[M-H]^-$  (calcd.  $C_{15}H_{12}O_3$  241.0865) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 9 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 15 คาร์บอน (ดังตาราง 2.32) โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของ  $^1H$  และ  $^{13}C$  NMR ระหว่าง DS-3 กับ DS-2 พบว่ามีความคล้ายกันแต่ DS-3 จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR จะพบสัญญาณของ methoxy group 1 หมู่ และ พบสัญญาณของ hydroxy group 2 หมู่ จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 กับ 158.7 (C-2), 153.3 (C-4) และ 30.5 (C-10) พบ correlation ระหว่าง H-5 กับ 153.7 (C-7) และ 114.8 (C-8a) พบ correlation ระหว่าง H-6 กับ 153.7 (C-7) พบ correlation ระหว่าง H-8 กับ 153.7 (C-7) และ 113.2 (C-6) จากข้อมูลข้างต้นเมื่อนำสเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ HRESIMS ของ DS-5 กับ lusianthidin ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้พบว่ามีความใกล้เคียงกันจึงยืนยันได้ว่า DS-5 มีโครงสร้างเป็น lusianthidin<sup>[34]</sup>



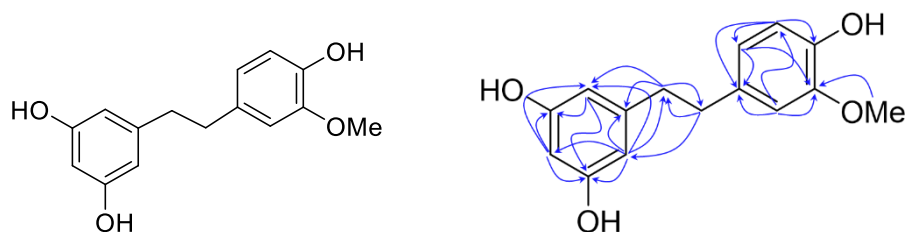
## 3.18 Gigantol (DS-4)



รูปที่ 50 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-4

ลักษณะเป็นของหนืดใสสีเหลืองอ่อน จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า DS-4 มีสูตร โมเลกุล เป็น  $C_{16}H_{18}O_4$  มีค่า  $m/z$  297.1096  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{16}H_{18}O_4Na$ , 297.1103) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 8 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 16 คาร์บอน โดยพบสัญญาณของ methines aromatic carbon 4 หมู่ที่ [ $\delta_c$  108.1 (C-2'), 99.0 (C-4'), 106.8 (C-6'), 111.4 (C-2''), 111.2 (C-5'') และ 121.0 (C-6'')] พบสัญญาณของ quaternary 6 หมู่ที่ [ $\delta_c$  144.5 (C-1'), 156.6 (C-3'), 160.8 (C-5'), 133.7 (C-1''), 146.3 (C-3'') และ 143.7 (C-4'')] พบสัญญาณของ methoxy carbon 2 หมู่ที่ [ $\delta_c$  55.3 (5'-OCH<sub>3</sub>) และ 55.9 (3''-OCH<sub>3</sub>)] จากสเปกตรัม  $^1H$  NMR พบสัญญาณของ methoxy group 2 หมู่ที่ [ $\delta_H$  3.74 (s, 5'-OCH<sub>3</sub>) และ 3.83 (s, 3''-OCH<sub>3</sub>)] พบสัญญาณของ methines proton บนวง aromatic 6 หมู่ที่ [ $\delta_H$  6.25 (H-2'), 6.25 (H-4'), 6.31 (H-6'), 6.62 (H-2''), 6.83 (H-5'') และ 6.67 (H-6'')] พบสัญญาณของ methylene proton 2 หมู่ ที่ [ $\delta_H$  2.80 (H-1) และ 2.80 (H-2)] จากสเปกตรัม HMBC พบ correlation ระหว่าง H-1 กับ 38.3 (C-2), 108.1 (C-2') และ 106.8 (C-6') พบ correlation ระหว่าง H-2 กับ 37.2 (C-1), 108.1 (C-2'), 106.8 (C-6'') และ 121.0 (C-6'') พบ correlation ระหว่าง H-2' กับ 37.2 (C-1), 108.1 (C-2'), 99.0 (C-4'), 160.8, (C-5'), และ 106.8 (C-6') พบ correlation ระหว่าง H-4' กับ 108.1 (C-2'), 156.6 (C-3'), 160.8, (C-5'), และ 106.8 (C-6') พบ correlation ระหว่าง H-6' กับ 156.6 (C-3'), 99.0 (C-4'), 160.8, (C-5'), และ 121.0 (C-6'') พบ correlation ระหว่าง H-2''กับ 121.0 (C-6'') พบ correlation ระหว่าง H-5'' กับ 133.7 (C-1''), 146.3 (C-3'') และ 121.0 (C-6'') จากข้อมูลข้างต้นเมื่อนำสเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ HRESIMS ของ DS-4 กับ gigantol ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันจึงยืนยันได้ว่า DS-4 มีโครงสร้างเป็น gigantol <sup>[35]</sup>

## 3.19 Tristin (DS-5)



รูปที่ 51 โครงสร้าง, COSY correlation และ HMBC correlation ระหว่าง (H กับ C) DS-5

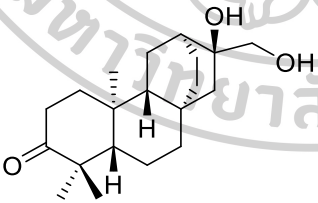
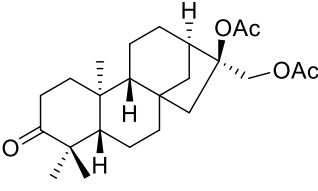
ลักษณะเป็นของหนืดใสสีน้ำตาลอ่อน จากผล HRESIMS ทำให้ทราบว่า DS-5 มีสูตร โมเลกุล เป็น  $C_{15}H_{16}O_4$  มีค่า  $m/z$  283.0943  $[M+Na]^+$  (calcd.  $C_{15}H_{16}O_4Na$ , 283.0946) และมีค่าความไม่อิ่มตัวของโมเลกุล ( $\Omega$ ) = 8 จากสเปกตรัม  $^{13}C$  NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของ คาร์บอน 15 คาร์บอน โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของ  $^1H$  และ  $^{13}C$  NMR ระหว่าง DS-4 กับ DS-5 พบว่ามีความคล้ายกันแต่ methoxy 1 หมู่ และ hydroxy group 3 หมู่ จากข้อมูลข้างต้นเมื่อนำ สเปกตรัม  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR และ HRESIMS ของ DS-5 กับ tristin ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้พบว่ามี ค่าใกล้เคียงกันจึงยืนยันได้ว่า DS-5 มีโครงสร้างเป็น Tristin <sup>[36] [37]</sup>



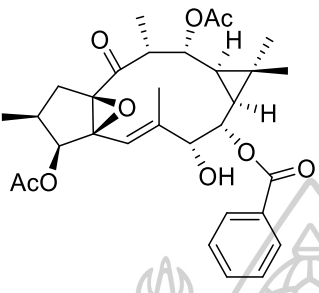
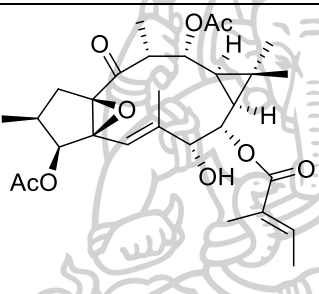
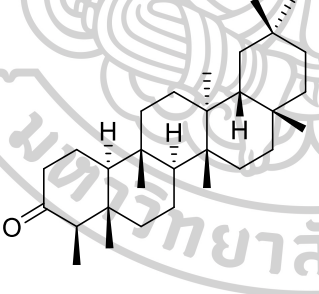
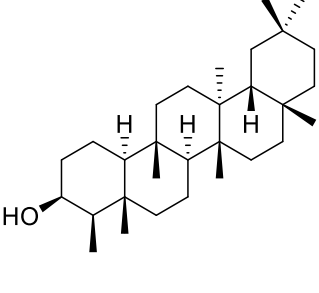
### 3.2 การทดสอบความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็ง (Cancer cell) ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสลัดไถลายเหลือง

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive activity) ของสารที่แยกได้จากสลัดไถลายเหลืองซึ่งแบ่งสารเป็น 5 กลุ่มได้แก่ diterpene, triterpene, cycloartane, steroid และ flavonoid พบว่าสารในกลุ่ม cycloartane คือ (EL-9 และสารผสมระหว่าง EL-10 และ EL-11) มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งหัวและลำคอ (HN22), เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT116) ได้ดีที่สุดในที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งสูงที่สุด (%inhibition 90.7-92.3%) เมื่อเทียบกับ Irinotecan (79.7-97.3%) ส่วนสารในกลุ่ม diterpene, steroid และ flavonoid ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิดคือ HepG2, HN22, HCT116 และ HeLa ในขณะที่สารในกลุ่ม triterpene (EL-6 และ EL-8) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง 3 ชนิดได้แก่ ได้แก่ HepG2, HN22 และ HCT116 ในระดับปานกลางที่สุด (%inhibition 28.8-55.2%) แต่มีข้อดีคือเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของ HaCaT (เซลล์ปกติ) ไม่สูงมากเมื่อเทียบกับ Irinotecan (Positive control)

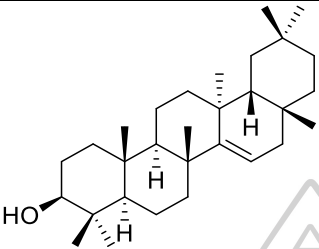
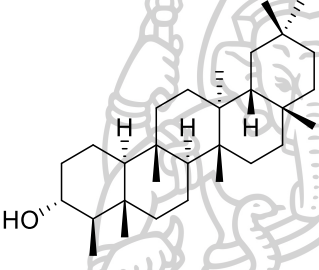
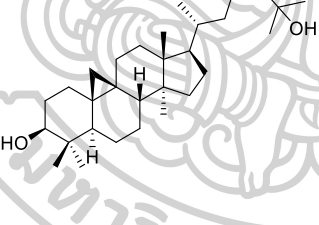
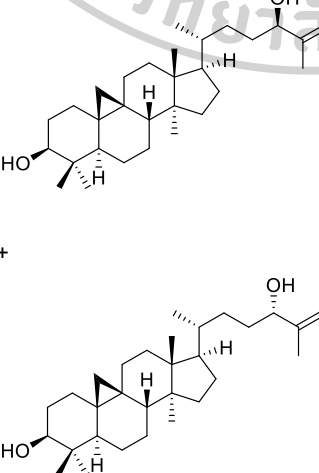
#### ตารางที่ 3.1 ความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดของของสารที่แยกได้จากสลัดไถลายเหลือง

Compound (100 $\mu$ M)	Structure	Cytotoxicity, % inhibition				
		HepG2	HN22	HCT116	HeLa	HaCaT
EL-1		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-2		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

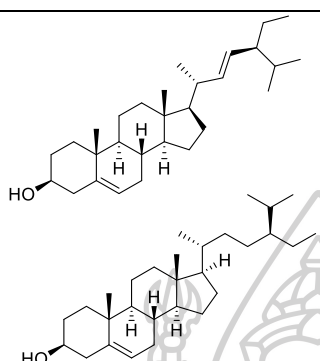
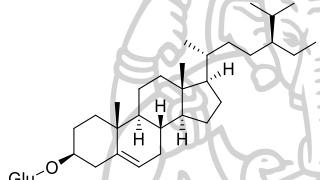
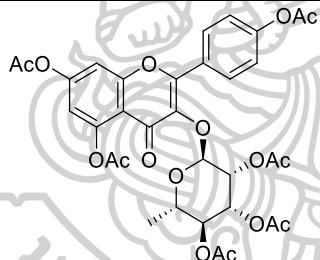
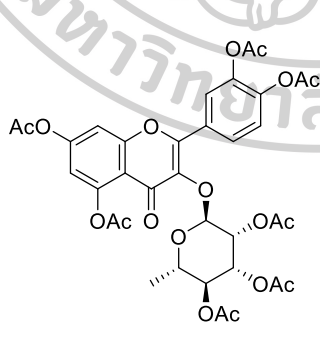
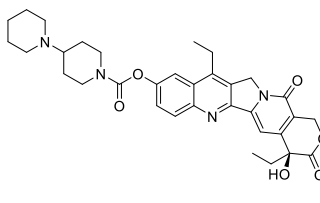
ตารางที่ 3.1 (ต่อ) ความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดของของสารที่แยกได้จาก  
สลัดไถลายเหลือง

Compound (100 $\mu$ M)	Structure	Cytotoxicity, % inhibition				
		HepG2	HN22	HCT116	HeLa	HaCaT
EL-3		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-4		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-5		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-6		55.20%	50.22%	30.80%	N/A	17.88%

ตารางที่ 3.1(ต่อ) ความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดของของสารที่แยกได้จากสัดได้ลายเหลือง

Compound (100 $\mu$ M)	Structure	Cytotoxicity, % inhibition				
		HepG2	HN22	HCT116	HeLa	HaCaT
EL-7		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-8		44.66%	47.83%	28.83%	N/A	25.09%
EL-9		N/A	92.31%	28.83%	90.70%	93.82%
EL-10 + EL-11		N/A	92.03%	28.83%	92.23%	94.71%

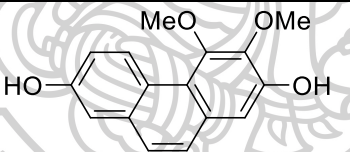
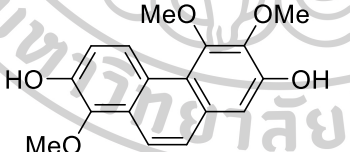
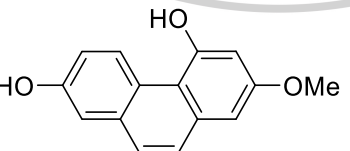
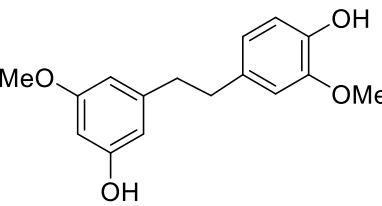
ตารางที่ 3.1 (ต่อ) ความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดของสารที่แยกได้จากสลดได้  
ลายเหลือง

Compound (100 $\mu$ M)	Structure	Cytotoxicity, % inhibition				
		HepG2	HN22	HCT116	HeLa	HaCaT
EL-12 + EL-13		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-14		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-15Ac		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EL-16Ac		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Irinotecan		79.93%	81.88%	79.76%	89.88%	93.91%

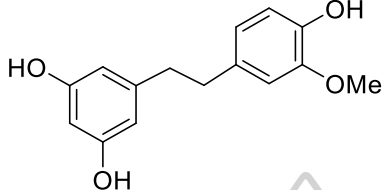
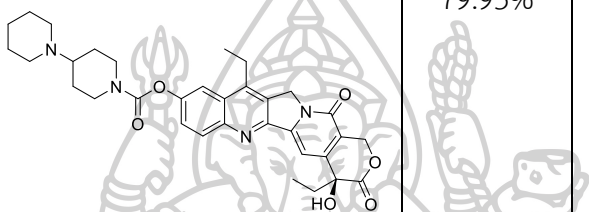
### 3.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง

การศึกษาฤทธิ์การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ของสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia 'Red Jo'*) แยกสารได้ 2 กลุ่มคือ phenanthrene และ bibenzyl พบว่าสารทั้ง 2 กลุ่ม โดยจากการทดสอบความสามารถยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ พบว่าสารทั้ง 2 กลุ่ม สามารถยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ได้ดี โดยในกลุ่ม phenanthrene % inhibition อยู่ในช่วง  $79.42 \pm 0.56$ - $102.47 \pm 0.21$  และสารในกลุ่ม bibenzyl มีความสามารถยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์โดยมี % inhibition อยู่ในช่วง  $71.57 \pm 1.08$ - $39.74 \pm 1.34$  เมื่อเทียบกับ Indomethacin positive control  $95.61 \pm 0.45$  โดย DS-2 และ DS-4 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น  $5 \mu\text{g/mL}$  และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ Raw 264.7 โดย % Viable cell ของ DS2 และ DS4 ที่  $79.42 \pm 0.56$  และ  $39.74 \pm 1.34$  ตามลำดับ

ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์ของการยับยั้ง NO ในเซลล์ RAW264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS (100 ng/mL)

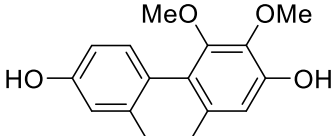
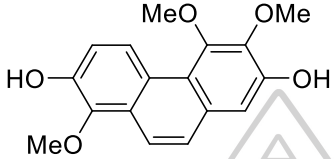
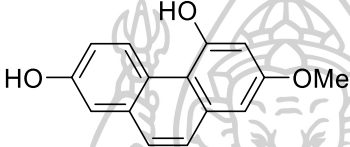
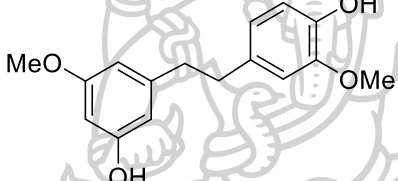
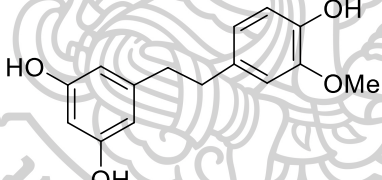
Compounds	Structure	% inhibition		
		5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	20 $\mu\text{g/mL}$
DS-1		$98.52 \pm 1.23$	$106.86 \pm 0.63$	$94.13 \pm 0.83$
DS-2		$79.42 \pm 0.56$	$100.00 \pm 0.13$	$107.35 \pm 0.11$
DS-3		$102.47 \pm 0.21$	$102.47 \pm 0.25$	$104.39 \pm 0.21$
DS-4		$71.57 \pm 1.08$	$72.56 \pm 1.14$	$68.61 \pm 0.65$

ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์ของการยับยั้ง NO ในเซลล์ RAW264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS (100 ng/mL)  
(ต่อ)

Compounds	Structure	% inhibition		
		5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	20 $\mu\text{g/mL}$
DS-5		39.74 $\pm$ 1.34	84.30 $\pm$ 1.26	99.01 $\pm$ 0.11
Irinotecan		79.93%	81.88%	79.76%



ตารางที่ 3.3 ผลการทดสอบของสารประกอบ 1-5 ต่อความมีชีวิตของเซลล์ในเซลล์ RAW264.7

Compounds	Structure	% Viable cell		
		5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	20 $\mu\text{g/mL}$
DS-1		53.01 $\pm$ 0.02	32.45 $\pm$ 0.02	28.61 $\pm$ 0.04
DS-2		93.23 $\pm$ 0.05	66.55 $\pm$ 0.01	24.26 $\pm$ 0.14
DS-3		3.21 $\pm$ 0.04	3.46 $\pm$ 0.05	1.25 $\pm$ 0.00
DS-4		96.29 $\pm$ 0.09	87.03 $\pm$ 0.18	46.10 $\pm$ 0.37
DS-5		85.36 $\pm$ 0.14	69.83 $\pm$ 0.10	61.31 $\pm$ 0.19

## บทที่ 4

### สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษาโครงสร้างของสารประกอบที่แยกได้จากสลัดไต่ลายเหลือง (*Euphorbia lactea* Haw) และ ลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia 'Red Jo'*)

การศึกษางองศ์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด hexane และ ethyl acetate จากสลัดไต่ลายเหลืองโดยใช้ column chromatography พบ diterpene ที่มีผู้เคยค้นพบมาแล้ว 4 ตัว คือ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1), *ent*-16*S*,17-dihydroxykuaran-3-one (EL-2), 3,12-diacetyl-8-benzoylingol (EL-3) ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกในพืชสกุล *Euphorbia* และ 3,12-di-*O*-acetyl-8-*O*-tigloylingol (EL-4) พบสารในกลุ่ม pentacyclic triterpene ที่มีผู้เคยค้นพบมาแล้ว 4 ตัวคือ friedelin (EL-4), friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-6), taraxerol (EL-7) และ friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-8) พบสารในกลุ่ม cycloartane ที่เคยมีผู้ค้นพบมาแล้ว 3 ตัวคือ cycloart-23*Z*-ene-5 $\beta$ ,25-diol (EL-9) และ สารผสมระหว่าง 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10) และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-11) พบสารในกลุ่ม steroids ที่มีผู้ค้นพบมาแล้ว 3 ตัวคือสารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol (EL-12) และ stigmasterol (EL-13),  $\beta$ -sitosterol glucoside (EL-14Ac) และนอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม flavonoids 2 ตัวคือ afzelin acetate (EL-15Ac) และ quercitrin acetate (EL-16Ac)

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive activity) ของสารที่แยกได้จากสลัดไต่ลายเหลืองซึ่งแบ่งสารเป็น 5 กลุ่มได้แก่ diterpene, triterpene, cycloartane, steroid และ flavonoid โดยได้นำสารทั้งหมดไปทำสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิดได้แก่ HepG2, HN22, HCT116 และ HeLa พบว่าสารในกลุ่ม cycloartane (EL-9 และสารผสมระหว่าง EL-10 และ EL-11) มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งหัวและลำคอ (HN22), เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT116) ได้ดีที่สุดในแง่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งสูงที่สุด (%inhibition) เมื่อเทียบกับ Irinotecan (Positive control) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Mohamed F.S. Banjar และคณะ (2019) ได้ศึกษาแยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด methanol จากส่วนเหนือดินของ *Euphorbia schimperi* พบองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่ม cycloartane 4 ชนิดได้แก่ 24-methylenecycloartane, cycloart-25-ent-3-one, cycloschimperol A [cycloart-20,24-dien-3 $\beta$ -ol] และ cycloschimperol B [26,27-dinor3 $\beta$ -hydroxycycloartan-25-al] ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของ cycloschimperols A [cycloart-20,24-dien-3 $\beta$ -ol] และ cycloschimperol B [26,27-dinor3 $\beta$ -hydroxy cycloartan-25-al] เป็นสาร

ชนิดใหม่ และผู้วิจัยได้นำสารทั้ง 4 ชนิดไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเต้านม adenocarcinoma (MCF-7), มะเร็งตับ hepatocellular (HepG2) และลำไส้ใหญ่ (HCT-116) โดยใช้วิธี sulphorhodamine B assay (SRB) โดยผลการทดลองพบว่า cycloart-25-en3-one และ cycloschimperol B มีฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้ง 3 เซลล์ ได้แก่ HCT-116, HepG2 และ MCF-7 ได้ใกล้เคียงกับยา Doxorubicin ที่เป็น positive control โดย cycloart-25-en3-one มีค่า  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) เท่ากับ  $1.9 \pm 0.4$ ,  $2.3 \pm 0.2$  และ  $4.7 \pm 0.1$  ( $\mu M$ ) cycloschimperol B มีค่า  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) เท่ากับ  $1.8 \pm 0.1$ ,  $1.4 \pm 0.1$  และ  $2.1 \pm 0.01$  ( $\mu M$ ) เมื่อเทียบกับยา Doxorubicin ที่เป็น positive control ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) เท่ากับ  $0.2 \pm 0.01$ ,  $0.6 \pm 0.1$  และ  $0.18 \pm 0.01$  ( $\mu M$ ) ส่วนสารในกลุ่ม diterpene, steroid และ flavonoid ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ HepG2, HN22, HCT116 และ HeLa ในขณะที่สารในกลุ่ม triterpene (EL-6 และ EL-8) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด ได้แก่ HepG2, HN22 และ HCT116 ในระดับปานกลาง แต่มีข้อดีคือเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของ HaCaT (เซลล์ปกติ) ไม่สูงมากเมื่อเทียบกับ Irinotecan (Positive control) ซึ่งเป็นการรายงานความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด ได้แก่ HepG2, HN22, HCT116 และ HeLa เป็นครั้งแรกของสารในกลุ่มนี้

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัด ethyl acetate จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง โดยใช้ column chromatography พบ phenanthrene ที่เคยมีผู้ค้นพบมาแล้ว 3 ชนิดคือ nudol (DS-1), confurasin (DS-2) และ lusianthidin (DS-3) และยังพบสารในกลุ่ม bibenzyls 2 ชนิดคือ gigantol (DS-4) และ tristin (DS-5)

การศึกษาฤทธิ์การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ของสารที่แยกได้จากลำต้นกล้วยไม้พันธุ์โจแดง (*Dendrobium Sonia 'Red Jo'*) แยกสารได้ 2 กลุ่มคือ phenanthrene และ bibenzyl พบว่าสารทั้ง 2 กลุ่มสามารถยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ได้ดี เมื่อเทียบกับ Indomethacin (positive control) โดย confurasin (DS-2) และ gigantol (DS-4) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น  $5 \mu g/mL$  และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ Raw 264.7

## รายการอ้างอิง

1. De Beer, D.; Joubert, E.; Gelderblom, W.; Manley, M., Phenolic compounds: a review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. *South African Journal of Enology and Viticulture* 2002, 23 (2), 48-61.
2. Sharma, G. N.; Dubey, S. K.; Sati, N.; Sanadya, J., Anti-inflammatory activity and total flavonoid content of *Aegle marmelos* seeds. *Int J Pharm Sci Drug Res* 2011, 3 (3), 214-218.
3. Ghasemzadeh, A.; Jaafar, H. Z.; Rahmat, A., Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 2010, 15 (6), 4324-4333.
4. กัลปนา, ร. ฎ. ภ. ณ. องค์ประกอบทางเคมีของแก่นต้นสลัดได *Euphorbia antiquorum* Linn. ที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
5. Mizuo, M.; Toshiyuki, T.; Munekazu, I.; Xu, G.-Y.; Huang, Q., A diterpene from *Euphorbia antiquorum*. *Phytochemistry* 1989, 28 (2), 553-555.
6. Shi, Q.-W.; Su, X.-H.; Kiyota, H., Chemical and pharmacological research of the plants in genus *Euphorbia*. *Chemical reviews* 2008, 108 (10), 4295-4327.
7. เทพทวี, จ. ว. ศ., รายงานการวิจัยการสกัดและศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อสิวจากน้ำยางของต้น *Euphorbia cf. antiquorum*.
8. Fernandez-Arche, A.; Saenz, M.; Arroyo, M.; De la Puerta, R.; Garcia, M., Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from *Euphorbia lactea* latex. *Phytomedicine* 2010, 17 (2), 146-148.
9. Avila, L.; Perez, M.; Sanchez-Duffhues, G.; Hernández-Galán, R.; Muñoz, E.; Cabezas, F.; Quiñones, W.; Torres, F.; Echeverri, F., Effects of diterpenes from latex of *Euphorbia lactea* and *Euphorbia laurifolia* on human immunodeficiency virus type 1 reactivation. *Phytochemistry* 2010, 71 (2-3), 243-248.
10. Wongprayoon, P.; CHAROENSUKSAI, P., Cytotoxic and anti-migratory activities from hydroalcoholic extract of *Euphorbia lactea* Haw. against HN22 cell line. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences* 2018, 13 (1), 69-77.
11. Boudiar, T.; Hichem, L.; Khalfallah, A.; Kabouche, A.; Kabouche, Z.; Brouard, I.; Bermejo, J.; Bruneau, C., A new alkaloid and flavonoids from the aerial parts of

Euphorbia guyoniana. *Natural product communications* 2010, 5 (1), 1934578X1000500109.

12. Ibraheim, Z. Z.; Ahmed, A. S.; Abdel-Mageed, W. M., Chemical and biological studies of Euphorbia aphylla. *Journal of Natural Remedies* 2013, 13 (1), 35-45.

13. Vasas, A.; Hohmann, J., Euphorbia diterpenes: isolation, structure, biological activity, and synthesis (2008–2012). *Chemical reviews* 2014, 114 (17), 8579-8612.

14. Gao, J.; Aisa, H. A., Terpenoids from Euphorbia soongarica and their multidrug resistance reversal activity. *Journal of natural products* 2017, 80 (6), 1767-1775.

15. Banjar, M. F.; Mohamed, G. A.; Shehata, I. A.; Abdallah, H. M.; Shati, A. A.; Alfaifi, M. Y.; Elbehairi, S. E. I.; Koshak, A. E.; Ibrahim, S. R., Cycloschimperols A and B, new cytotoxic cycloartane triterpenoids from Euphorbia schimperii. *Phytochemistry Letters* 2019, 32, 90-95.

16. Dai, Y.; Liu, S.; Xu, J.; Zhao, C.; Gu, Q., Triterpenoids from Euphorbia pulcherrima with inhibitory effects on osteoclastogenesis. *Fitoterapia* 2019, 134, 355-361.

17. Liu, T.; Liang, Q.; Zhang, X.-M.; Su, X.-M.; Qin, J.-C.; Li, G.-Q.; Xu, W.-H., Chemical constituents from Euphorbia stracheyi Boiss. *Biochemical Systematics and Ecology* 2019, 84, 52-54.

18. Wang, P.; Xie, C.; An, L.; Yang, X.; Xi, Y.; Yuan, S.; Zhang, C.; Tuerhong, M.; Jin, D.-Q.; Lee, D., Bioactive Diterpenoids from the Stems of Euphorbia royleana. *Journal of natural products* 2019, 82 (2), 183-193.

19. Estrada, S.; Toscano, R. A.; Mata, R., New Phenanthrene Derivatives from Maxillaria densa. *Journal of natural products* 1999, 62 (8), 1175-1178.

20. Lin, T.-H.; Chang, S.-J.; Chen, C.-C.; Wang, J.-P.; Tsao, L.-T., Two Phenanthraquinones from Dendrobium moniliforme. *Journal of Natural Products* 2001, 64 (8), 1084-1086.

21. Zhang, X.; Xu, J.-K.; Wang, J.; Wang, N.-L.; Kurihara, H.; Kitanaka, S.; Yao, X.-S., Bioactive bibenzyl derivatives and fluorenones from Dendrobium nobile. *Journal of Natural Products* 2007, 70 (1), 24-28.

22. Chang, C.-C.; Ku, A. F.; Tseng, Y.-Y.; Yang, W.-B.; Fang, J.-M.; Wong, C.-H., 6, 8-Di-C-glycosyl flavonoids from Dendrobium huoshanense. *Journal of natural products* 2010, 73 (2), 229-232.

23. Zhou, X.-M.; Zheng, C.-J.; Gan, L.-S.; Chen, G.-Y.; Zhang, X.-P.; Song, X.-P.; Li,

- G.-N.; Sun, C.-G., Bioactive phenanthrene and bibenzyl derivatives from the stems of *Dendrobium nobile*. *Journal of Natural Products* 2016, 79 (7), 1791-1797.
24. Liu, G.-Y.; Tan, L.; Cheng, L.; Ding, L.-S.; Zhou, Y.; Deng, Y.; He, Y.-Q.; Guo, D.-L.; Xiao, S.-J., Dendrobine-type alkaloids and bibenzyl derivatives from *Dendrobium findlayanum*. *Fitoterapia* 2020, 142, 104497.
25. Cheng, L.; Guo, D.-L.; Zhang, M.-S.; Linghu, L.; Fu, S.-B.; Deng, Y.; He, Y.-Q.; Xiao, S.-J., Dihydrophenanthrofurans and bisbibenzyl derivatives from the stems of *Dendrobium nobile*. *Fitoterapia* 2020, 143, 104586.
26. Yang, D.; Cheng, Z.-Q.; Hou, B.; Yang, L.; Zi, C.-T.; Dong, F.-W.; Hu, J.-M.; Zhou, J., Two unusual dendrobine-type alkaloids from *Dendrobium findlayanum*. *Fitoterapia* 2020, 144, 104607.
27. Gurley, B. J.; Fifer, E. K.; Gardner, Z., Pharmacokinetic herb-drug interactions (part 2): drug interactions involving popular botanical dietary supplements and their clinical relevance. *Planta medica* 2012, 78 (13), 1490-1514.
28. Keawsa-Ard, S.; Liawruangrath, B.; Kongtaweelert, S., Bioactive compounds from *Mesua ferrea* stems. *Chiang Mai Journal of Science* 2015, 42 (1), 185-195.
29. Laphookhieo, S.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Chantrapromma, K., Pentacyclic Triterpenoid Esters from the Fruits of *Bruguiera cylindrica*. *Journal of natural products* 2004, 67 (5), 886-888.
30. Chen, Y.; Yu, H.; Lian, X., Isolation of stilbenoids and lignans from *Dendrobium hongdie*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2015, 14 (11), 2055-2059.
31. Lago, J. H. G.; Roque, N. d. F., Cycloartane triterpenoids from *Guarea macrophylla*. *Phytochemistry* 2002, 60 (4), 329-332.
32. Birhanu, Z., Traditional use of medicinal plants by the ethnic groups of Gondar Zuria District, North-Western Ethiopia. *Journal of natural remedies* 2013, 46-53.
33. Majumder, P.; Kar, A., Confusarin and confusaridin two phenanthrene derivatives of the orchid *Eria confusa*. *Phytochemistry* 1987, 26 (4), 1127-1129.
34. Blitzke, T.; Masaoud, M.; Schmidt, J., Constituents of *Eulophia petersii*. *Fitoterapia* 2000, 71 (5), 593-594.
35. Kumar, H. A. K.; Mandal, B. K.; Kumar, K. M.; babu Maddinedi, S.; Kumar, T. S.; Madhiyazhagan, P.; Ghosh, A. R., Antimicrobial and antioxidant activities of *Mimusops*

elengi seed extract mediated isotropic silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2014, 130, 13-18.

36. Yu, W.; Field, C. J.; Wu, J., Purification and identification of anti-inflammatory peptides from spent hen muscle proteins hydrolysate. *Food chemistry* 2018, 253, 101-107.

37. Rayanil, K.-o.; Sutassanawichanna, W.; Jantham, J.; Jitkaroon, W.; Obsuwan, K.; Sanongkiet, S. S., สารประกอบ ฟีนานทรีน และ ไบเบนซิล จาก ลำต้น ของ กล้วยไม้ สกุล หวาย พันธุ์ โจแดง และฤทธิ์ต้านการอักเสบ PHENANTHRENES AND BIBENZYLS FROM THE STEMS OF DENDROBIUM SONIA 'RED JO' AND THEIR ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY. *Journal of Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)* 2022, 14 (27), 1-12.





ภาคผนวก ก  
ตัวย่อและสัญลักษณ์



### ตัวย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	คำเต็ม
Å	angstrom sign, ångström
$\alpha$	alpha
$[\alpha]_D^{28}$	specific rotation
$\beta$	beta
<i>br s</i>	broad singlet
<i>br d</i>	broad doublet
<i>br dt</i>	broad doublet of triplet
<i>n</i> -BuOH	normal butanol
$^{13}\text{C}$ NMR	carbon-13 nuclear magnetic resonance
$^{\circ}\text{C}$	degree celsius
CC	column chromatography
$\lambda_{\text{max}}$	wavelength at maxima absorption
CD	circular dichroism
$\text{CDCl}_3$	deuteriochloroform
$\text{CD}_3\text{OD}$	deuteromethanol
$\text{CeSO}_4$	cerium sulfate
$\text{CHCl}_3$	Chloroform
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	Dichloromethane
cm	centimeter
$\text{cm}^{-1}$	reciprocal centimeter (wave number)
$\text{CH}_3\text{CN}$	acetonitrile
COSY	correlated spectroscopy
d	doublet

### ตัวย่อและสัญลักษณ์

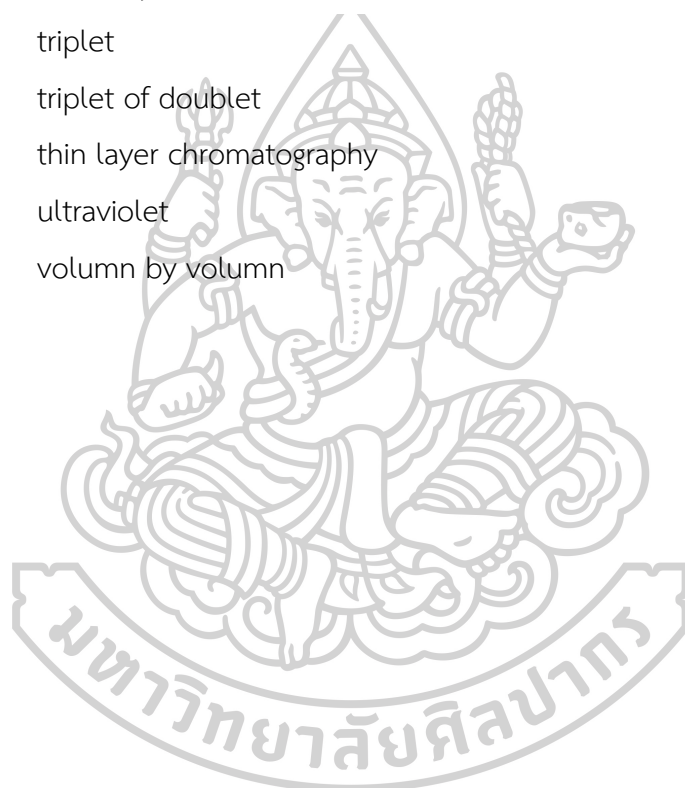
คำย่อ	คำเต็ม
dd	doublet of doublet
ddd	doublet of doublet of doublet
ddt	doublet of doublet of triplet
$\delta$	chemical shift relative to tetramethylsilane (TMS)
DEPT	Distortion Spectroscopy
DMF	dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
$\epsilon$	epsilon
EtOAc	ethyl acetate
eq.	equivalent
g	gram
g/mol	gram per mole
h	hour
kg	kilogram
HaCaT	human immortalized keratinocyte cancer cell line
HCT116	colorectal cancer cell line
HeLa	cervical cancer cell line
HepG2	Hepatocellular carcinoma cell line
HN22	head-and-neck cancer-cell line
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
$^1\text{H-NMR}$	Proton Nuclear Magnetic Resonance
$\text{H}_3\text{PO}_4$	phosphoric acid
$\text{H}_2\text{SO}_4$	sulfuric acid
HRESIMS	high resolution electrospray ionization mass spectrometry
Hz	hertz

### ตัวย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	คำเต็ม
IC <sub>50</sub>	50% Inhibition concentration
IR	Infrared absorption
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
<i>J</i>	coupling constant
M	molar
Me <sub>2</sub> CO	acetone
MeOH	methanol
m	meter
m	multiplet
mL	milliliter
mm	millimeter
m.p.	melting point
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
<i>m/z</i>	mass to charge ratio
MHz	Megahertz
μg	microgram
μL	microliter
μM	micromolar
μmol	micromole
ν <sub>max</sub>	frequency of the wave at maxima absorption
N	normality
NaH	sodium hydride
NaOH	sodium hydroxide
NH <sub>4</sub> Cl	ammonium chloride
nm	nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance

## ตัวย่อและสัญลักษณ์

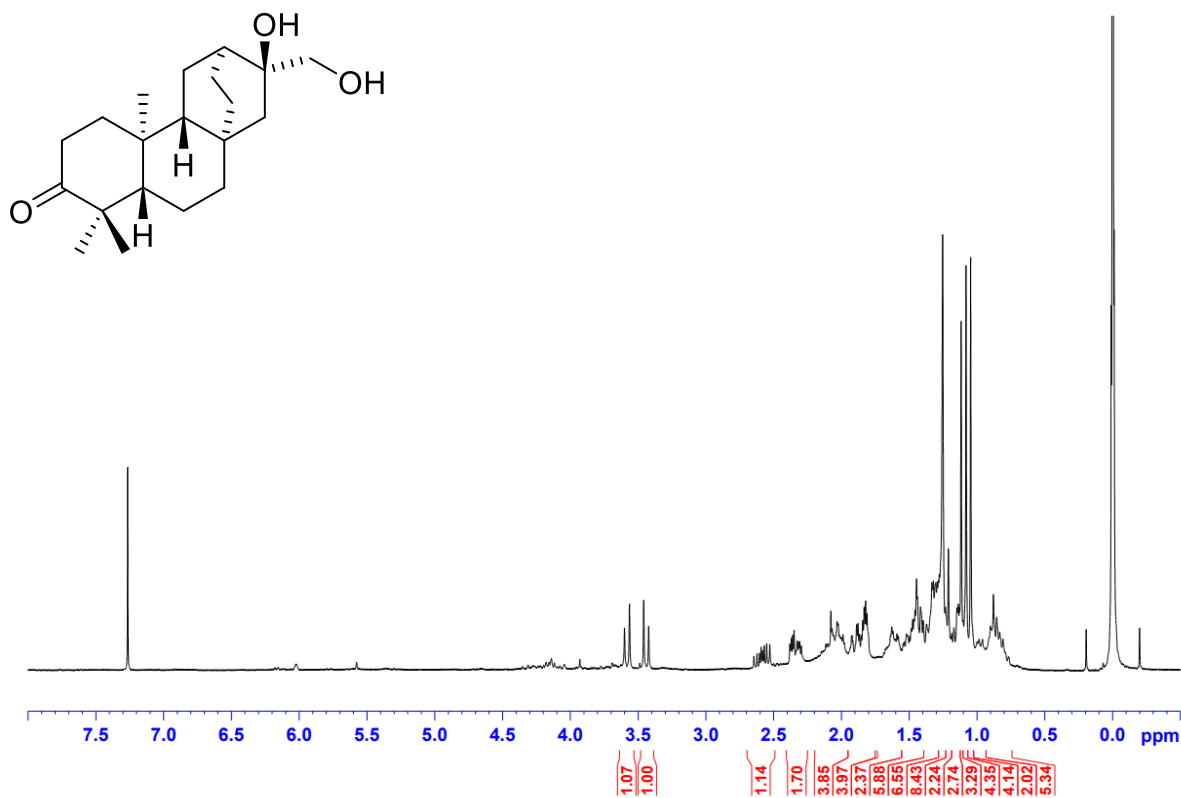
คำย่อ	คำเต็ม
<i>n</i> -hexane	normal hexane
PLC	preparative layer chromatography
ppm	part per million
pq	pseudo quartet
RP-18	octadecyl carbon chain (C18)-bonded silica reversed-phase
t	triplet
td	triplet of doublet
TLC	thin layer chromatography
UV	ultraviolet
v/v	volumn by volumn



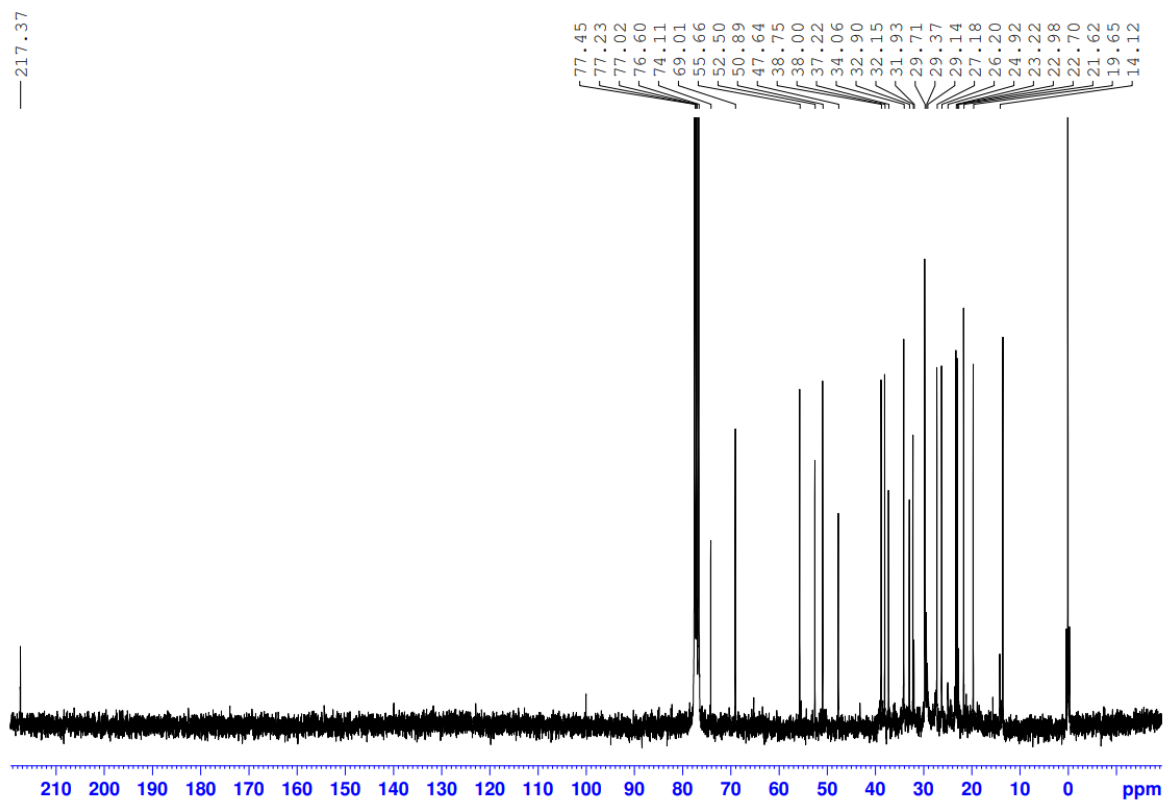


ภาคผนวก ข  
สเปกตรัม NMR

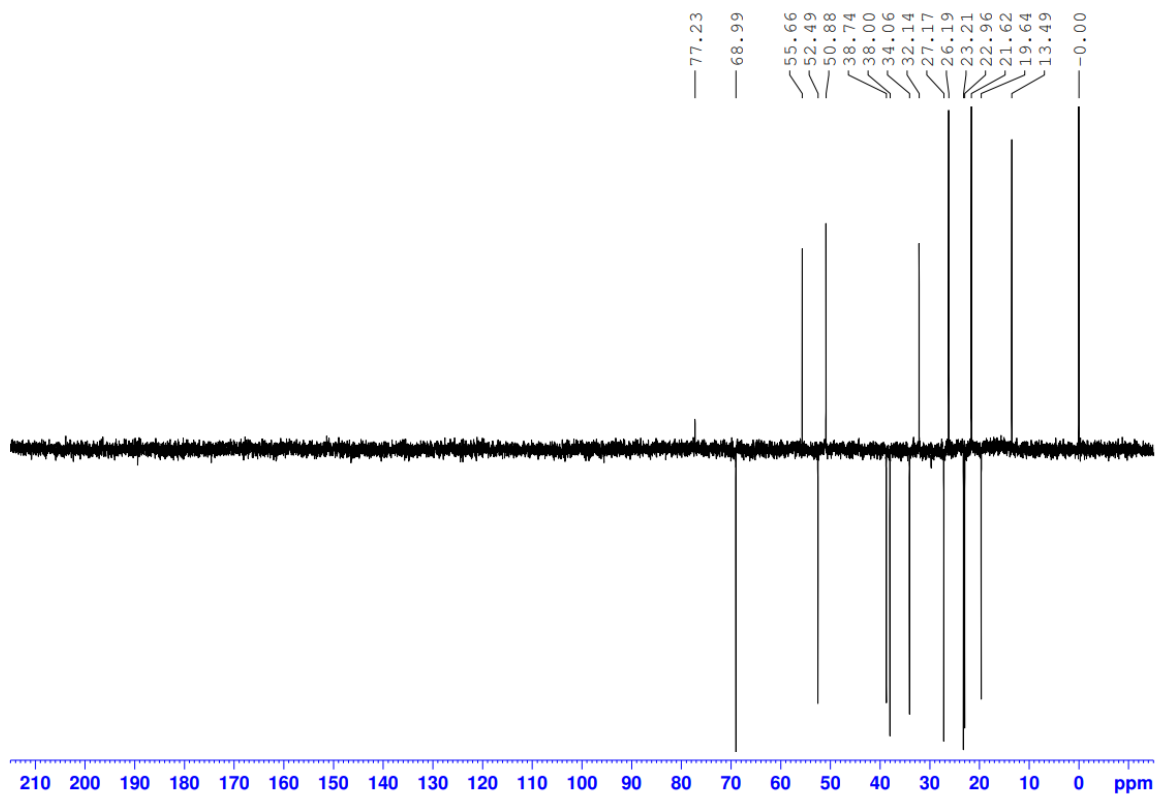
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)

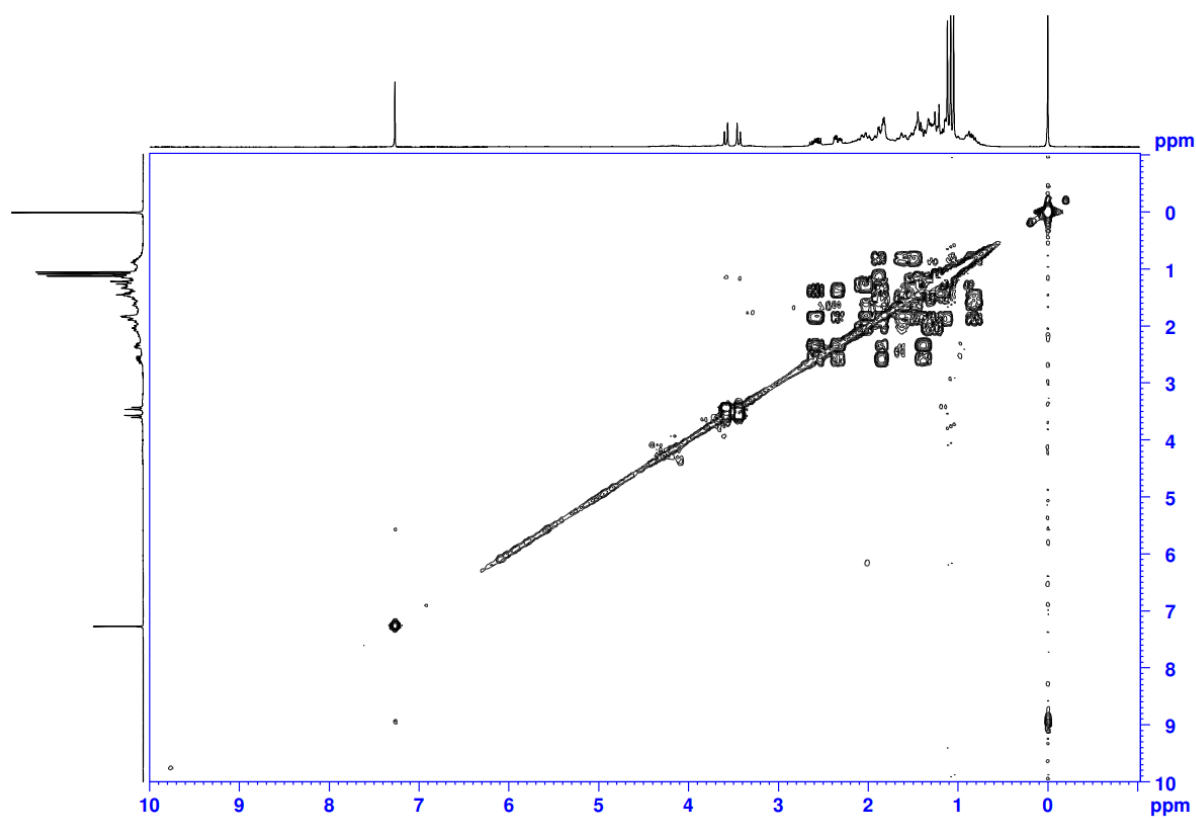


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)

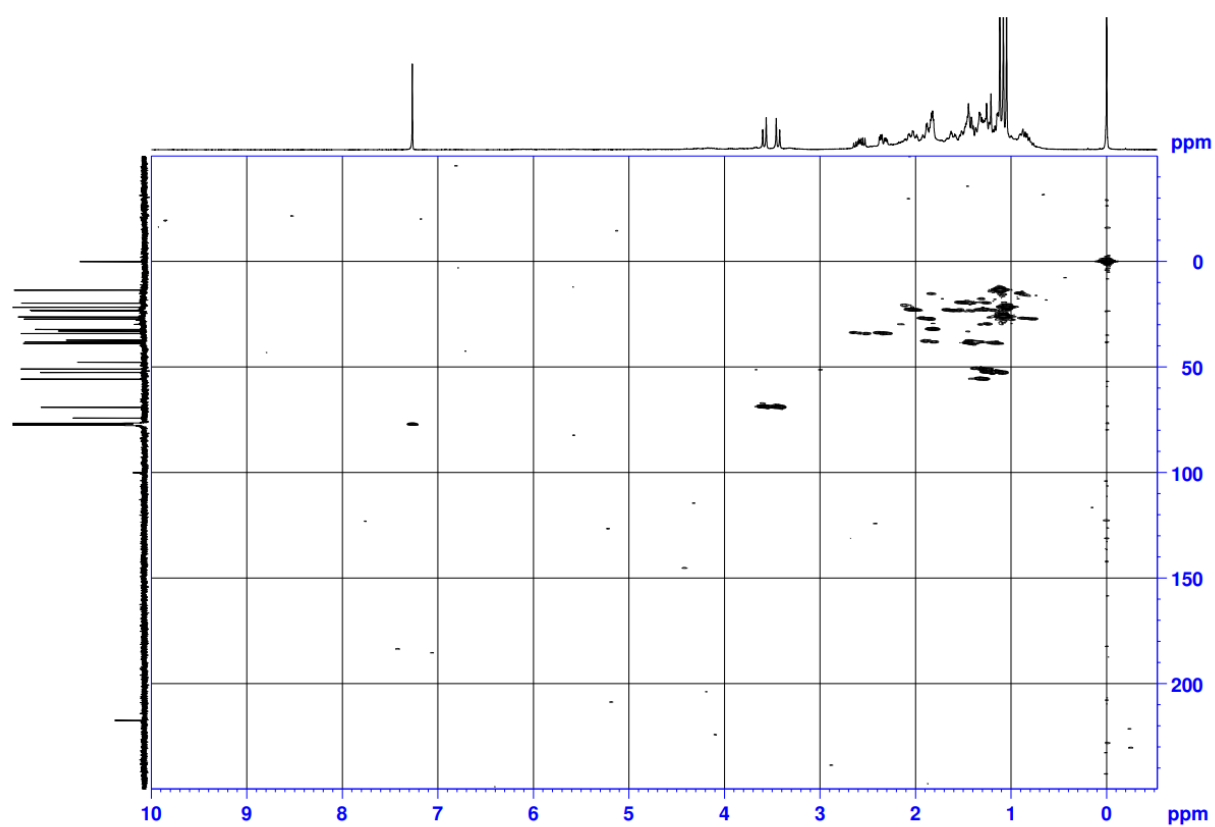




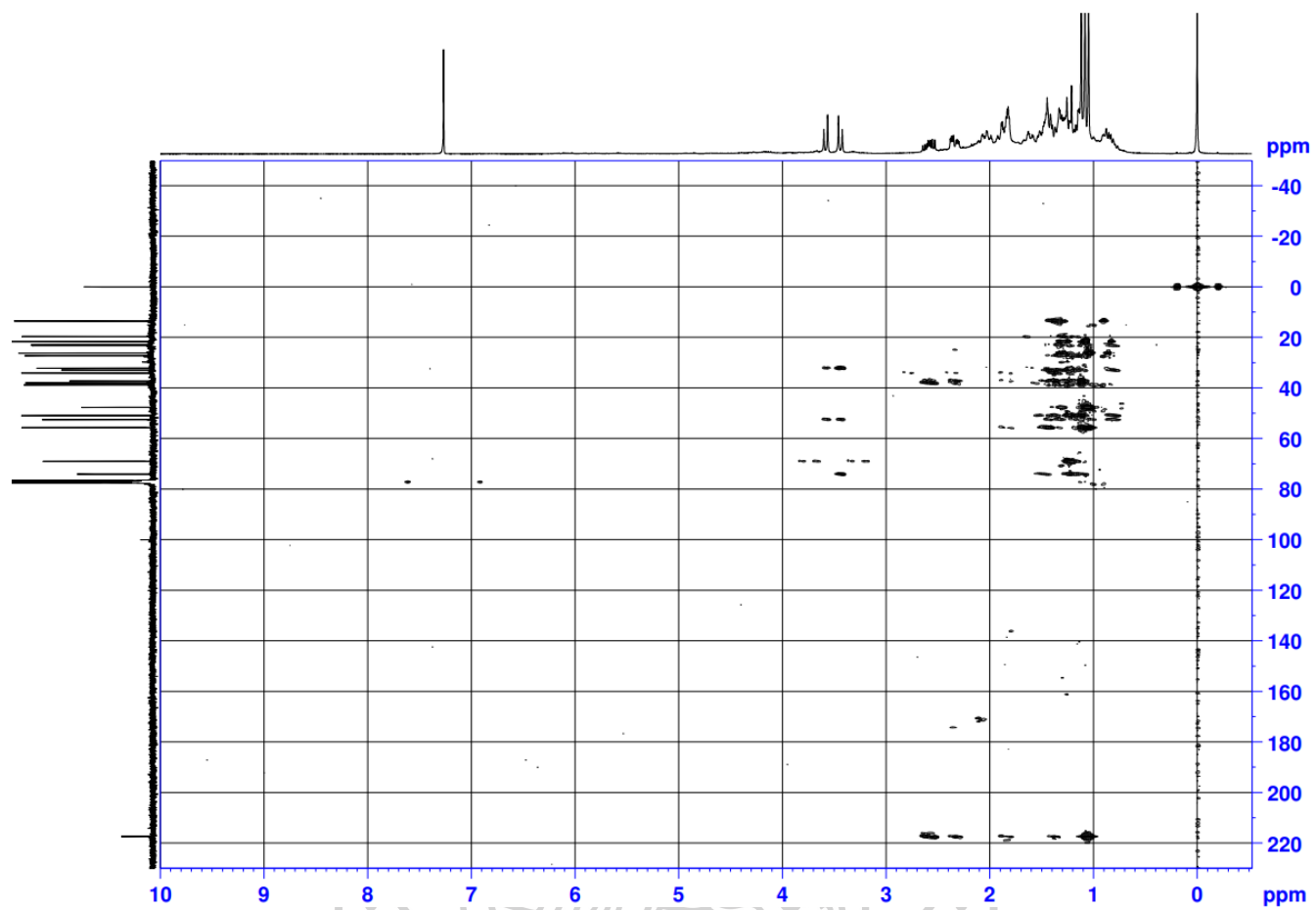
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)



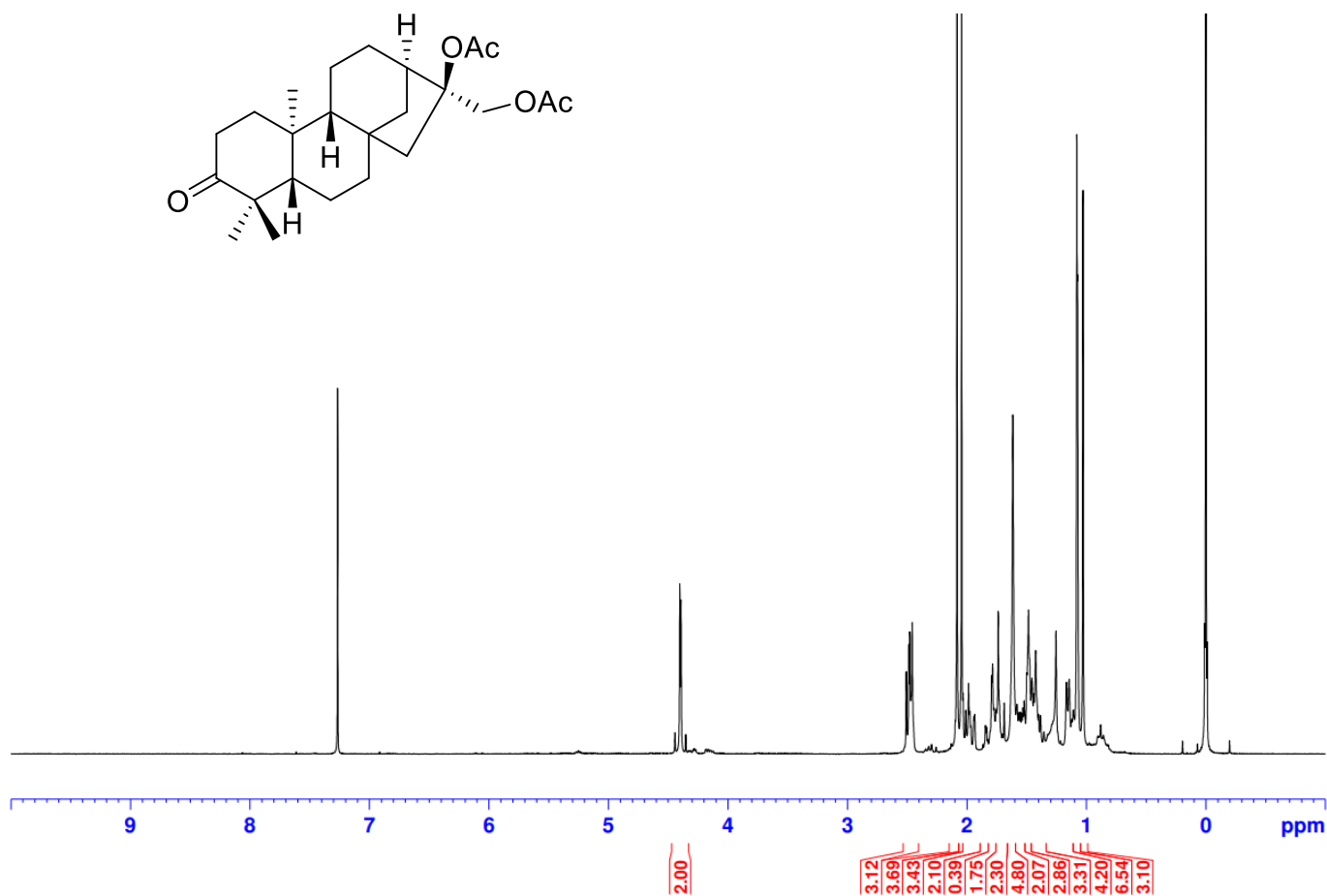
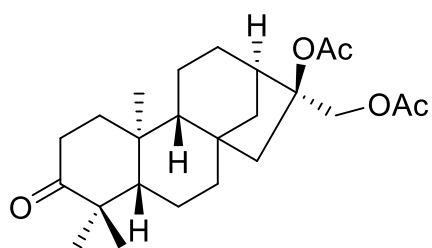
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)



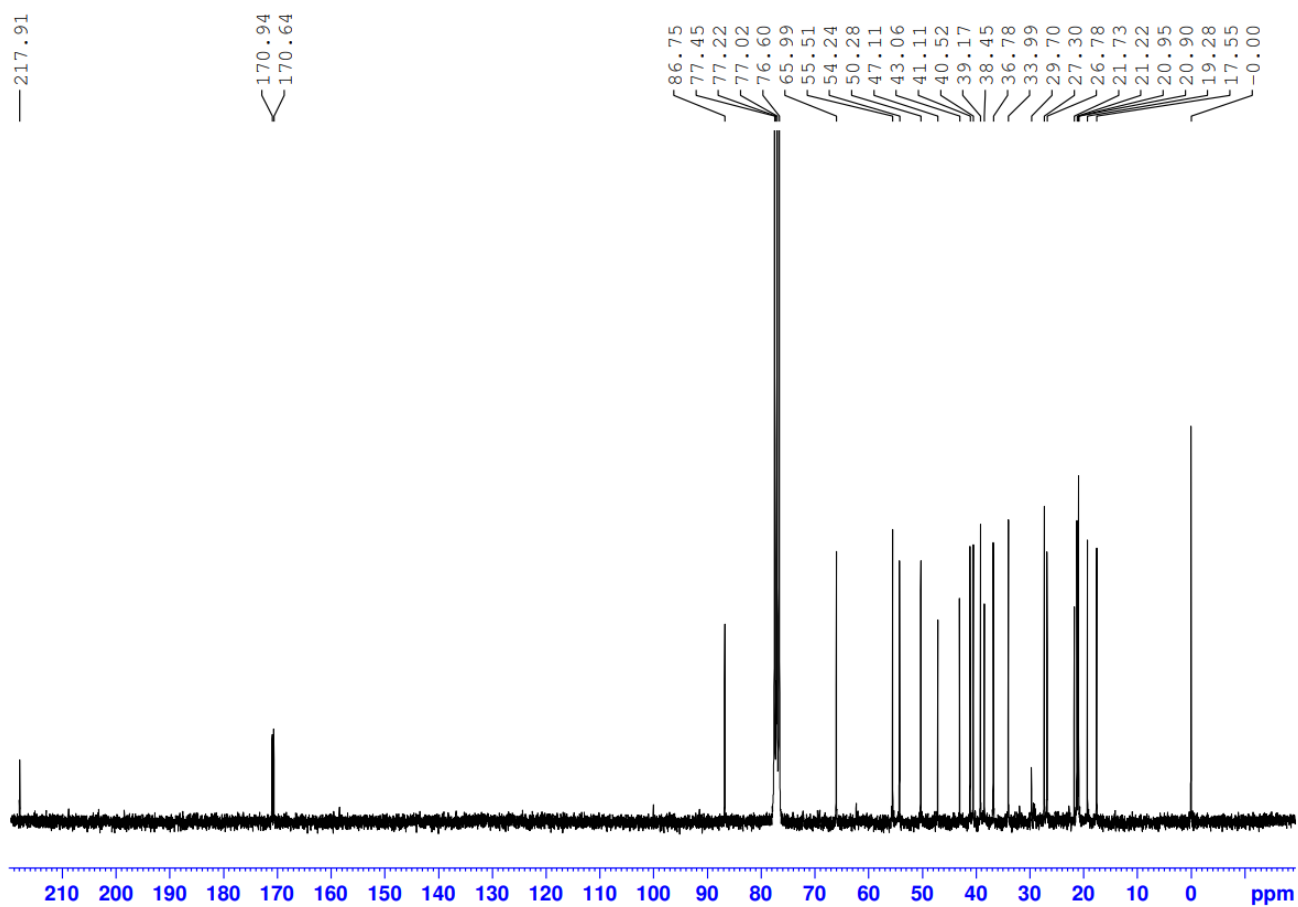
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ *ent*-16 $\alpha$ ,17-dihydroxyatisan-3-one (EL-1)



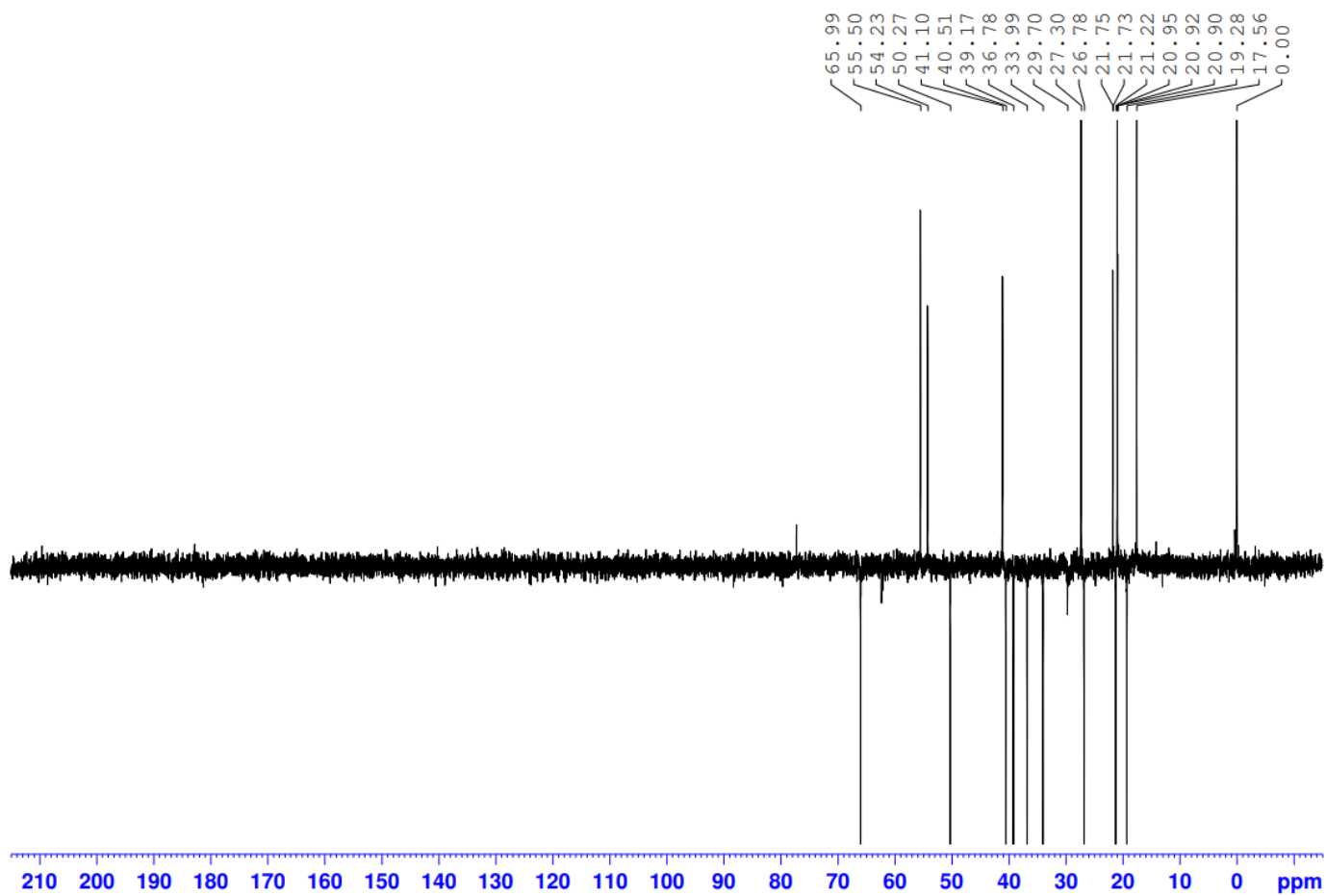
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ *ent*-16*S*,17-diacetylkuanan-3-one (EL-2)



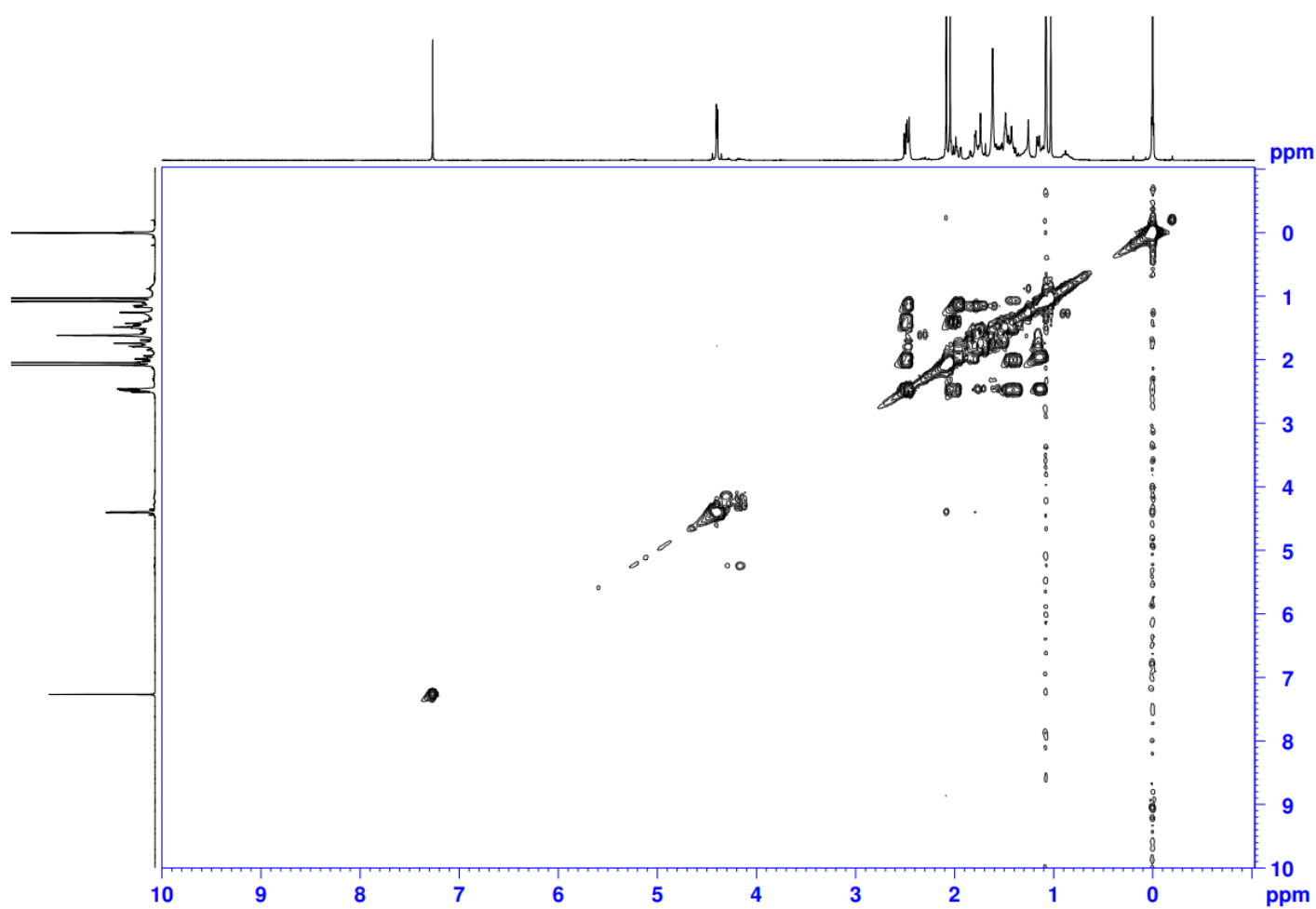
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ *ent*-16*S*,17-diacetylkuanan-3-one (EL-2)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ *ent*-16S,17-diacetylkuaran-3-one (EL-2)

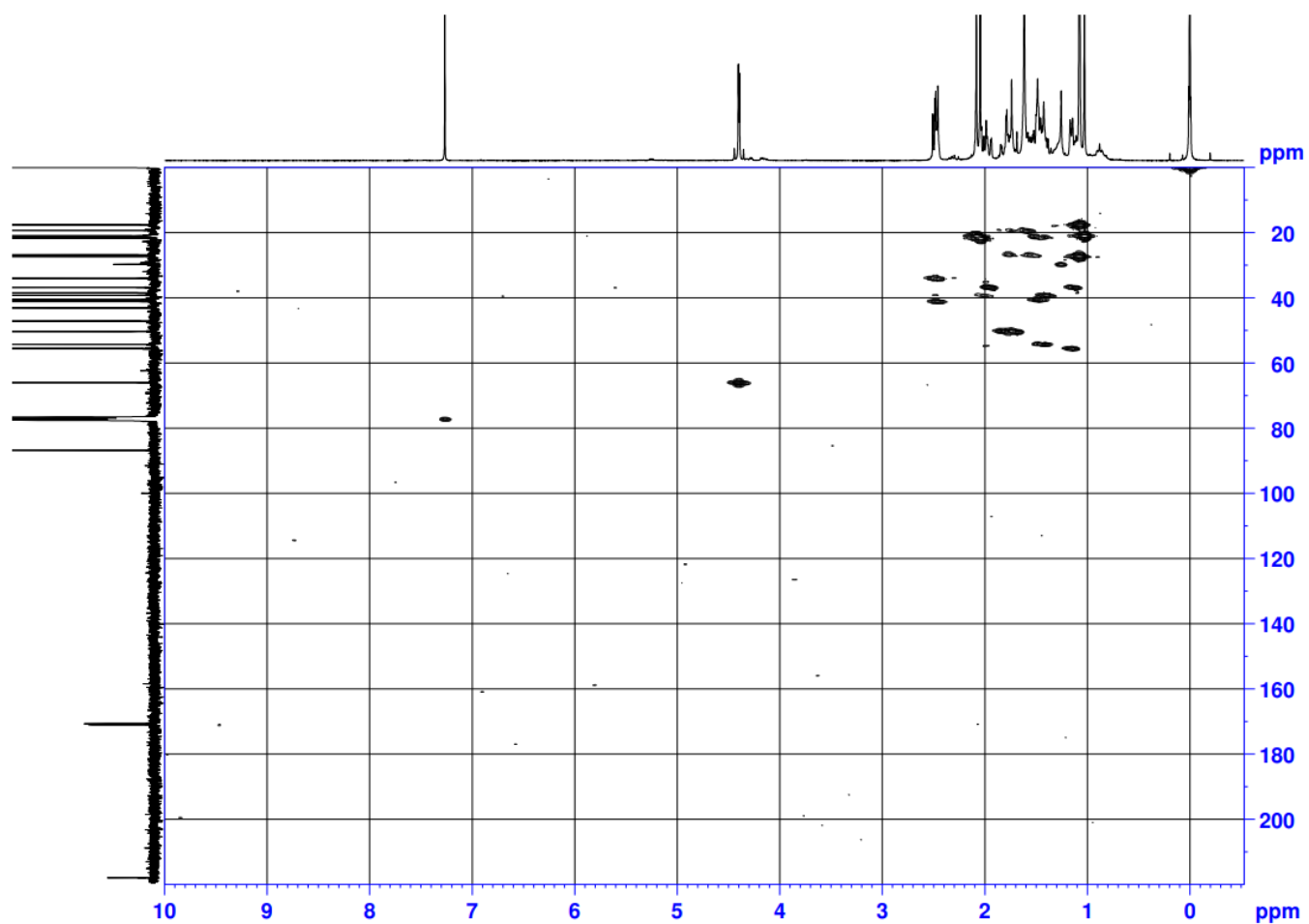


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ *ent*-16S,17-diacetylkuanan-3-one (EL-2)



มหาวิทยาลัยศิลปากร

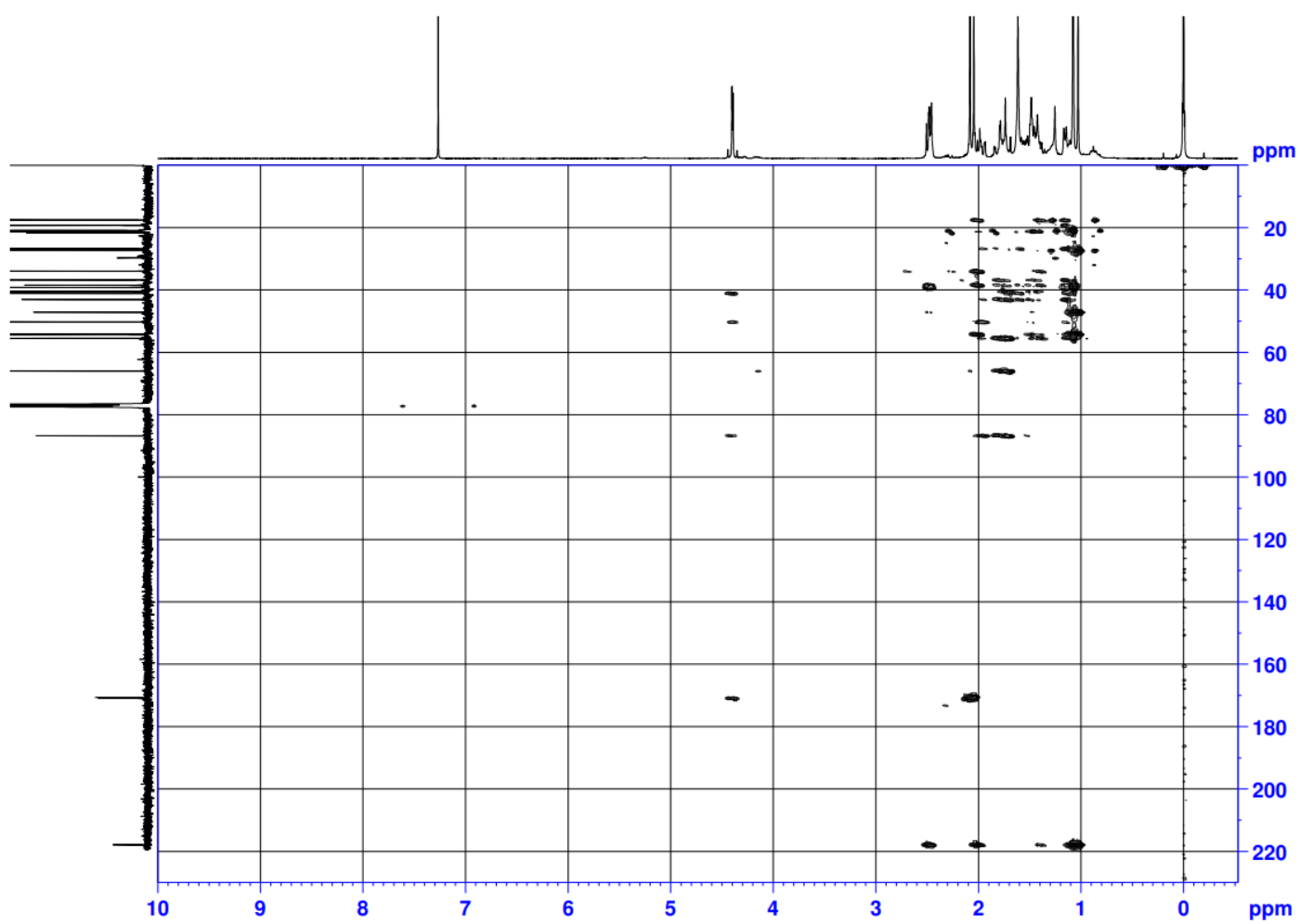
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ *ent*-16*S*,17-diacetylkuaran-3-one (EL-2)



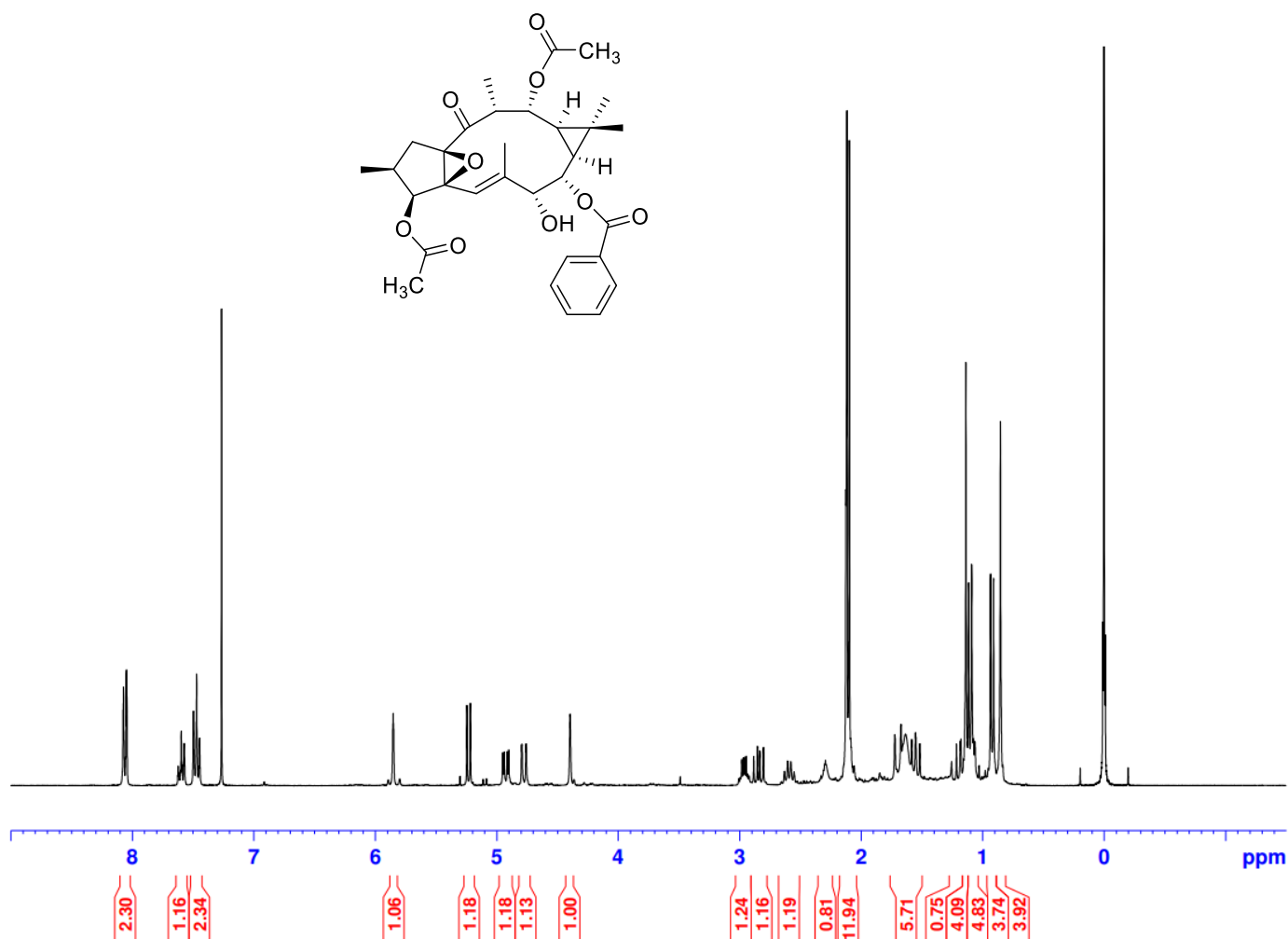
มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ *ent*-16*S*,17-diacetylkuanan-3-one (EL-2)

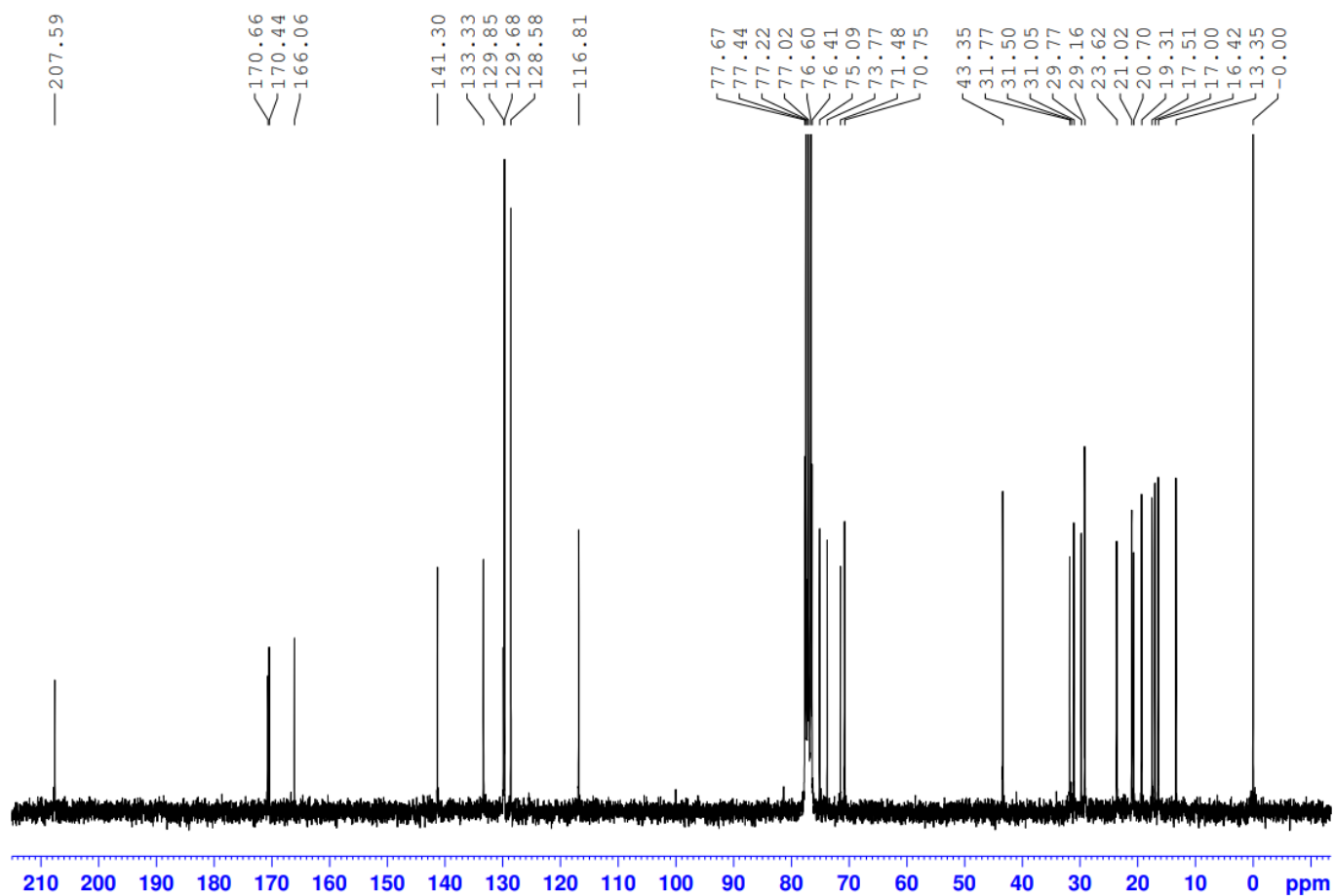


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)

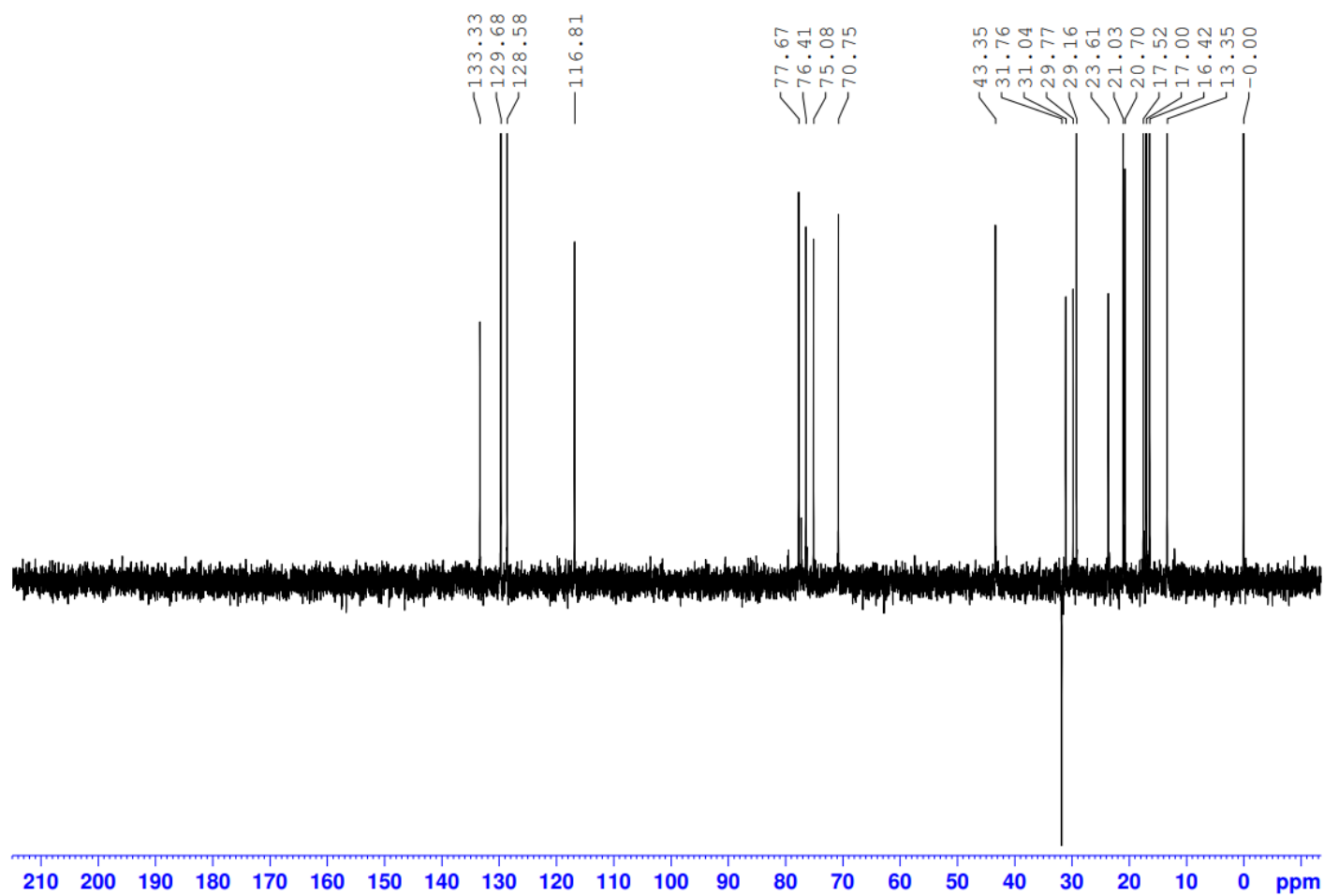


วิทยาลัยศิลป

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)

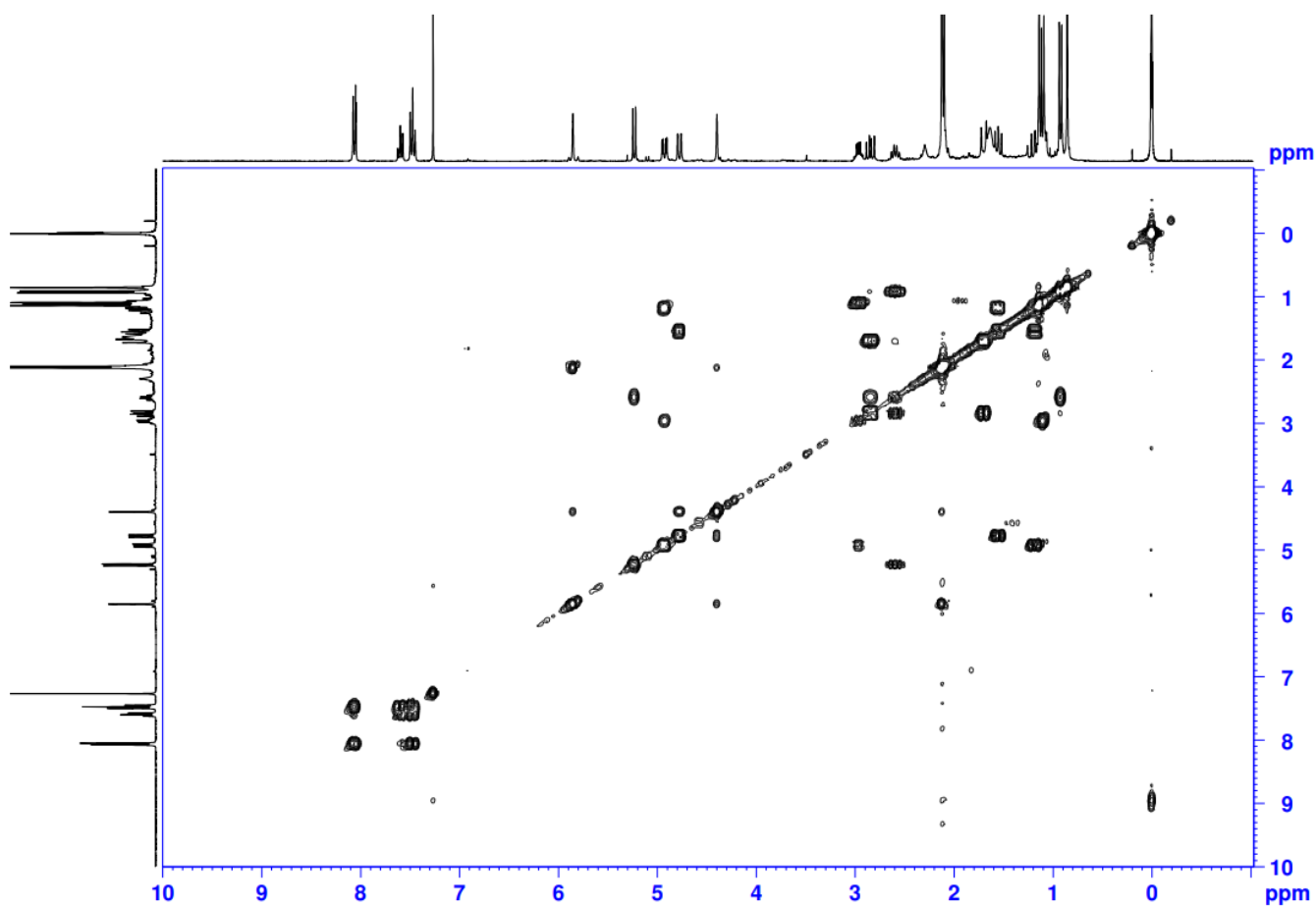


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)



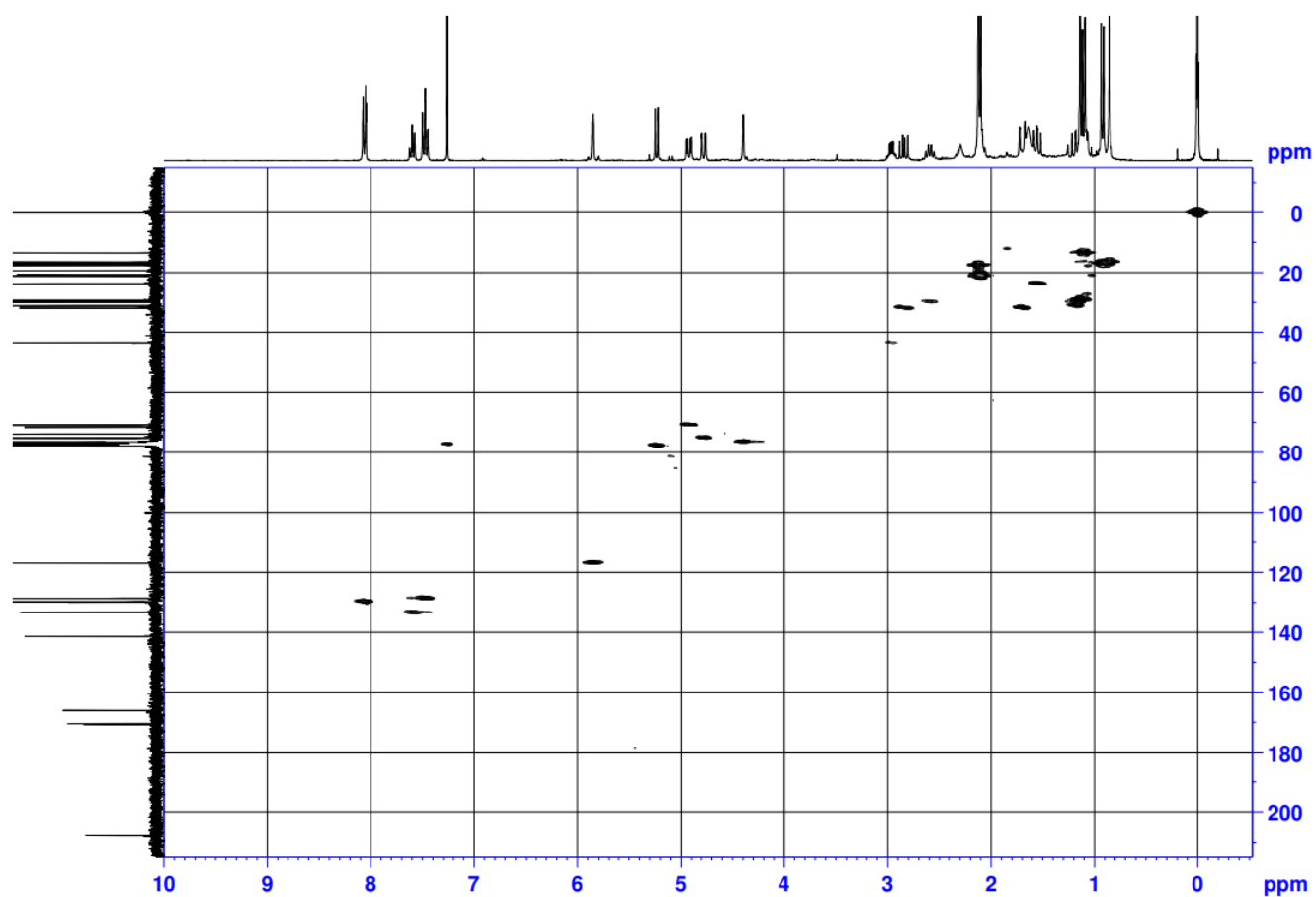
วิทยาลัยศิลป

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)

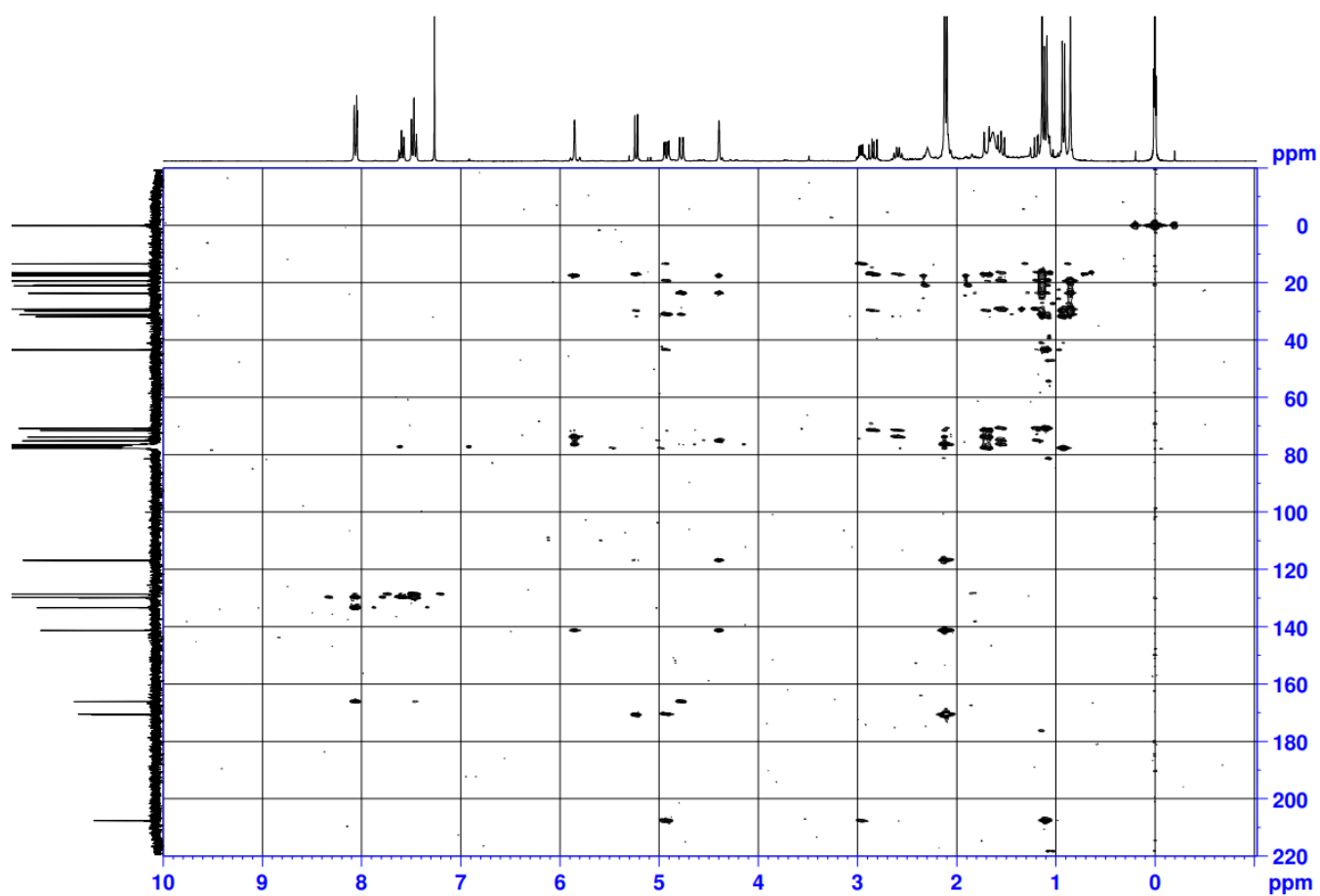


มหาวิทยาลัยศิลปากร

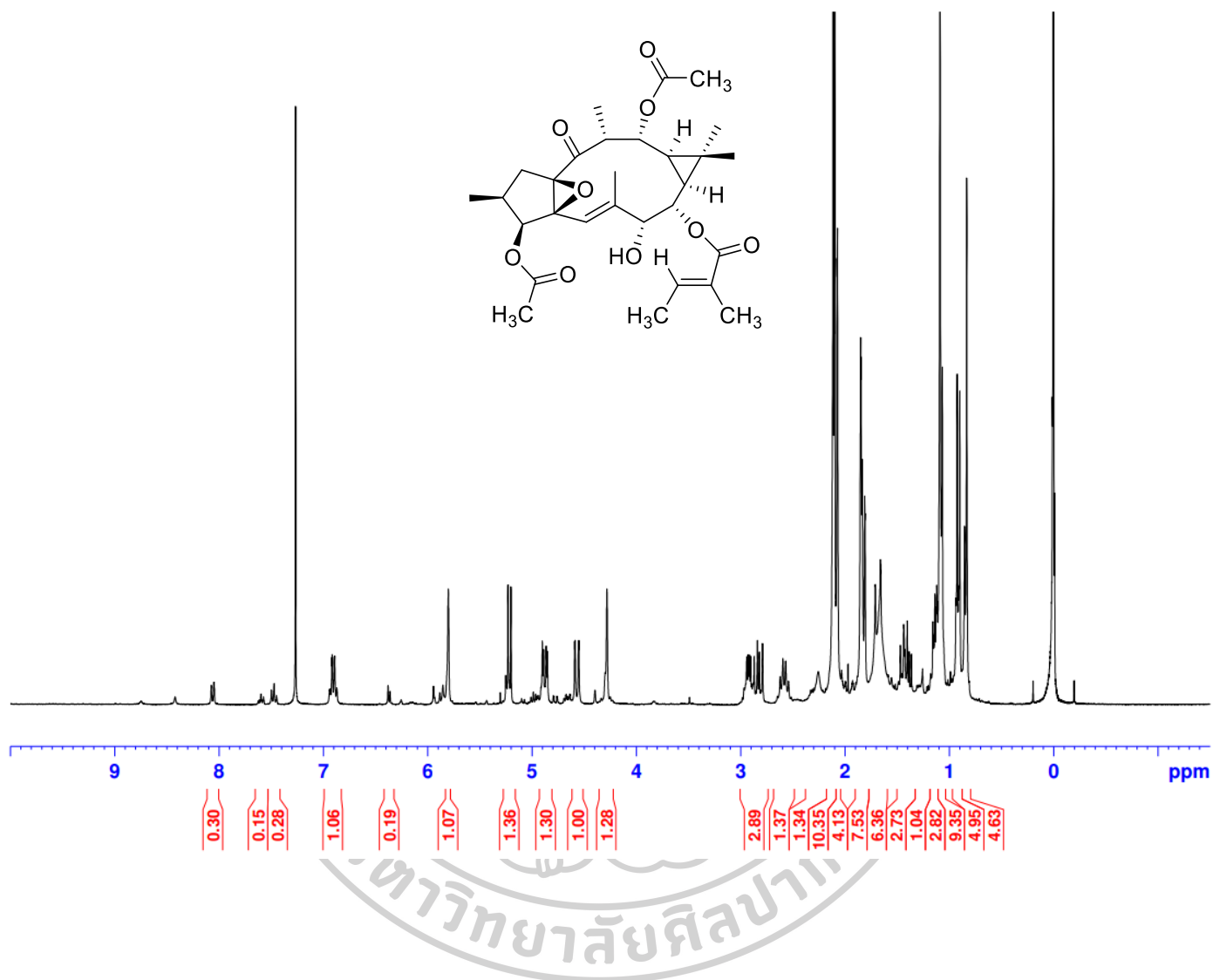
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)



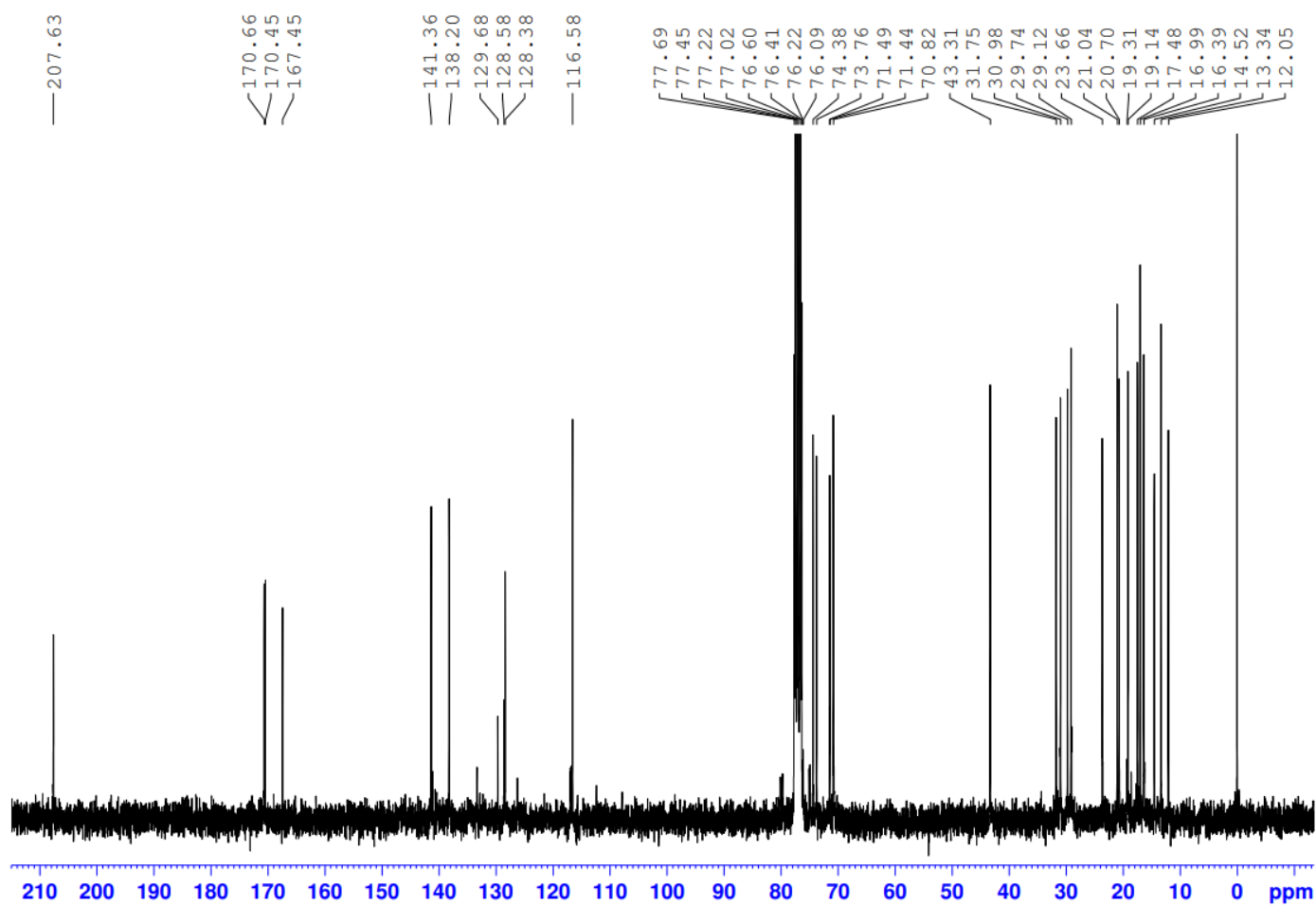
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ 3,12-diacetyl-8benzoylingol (EL-3)



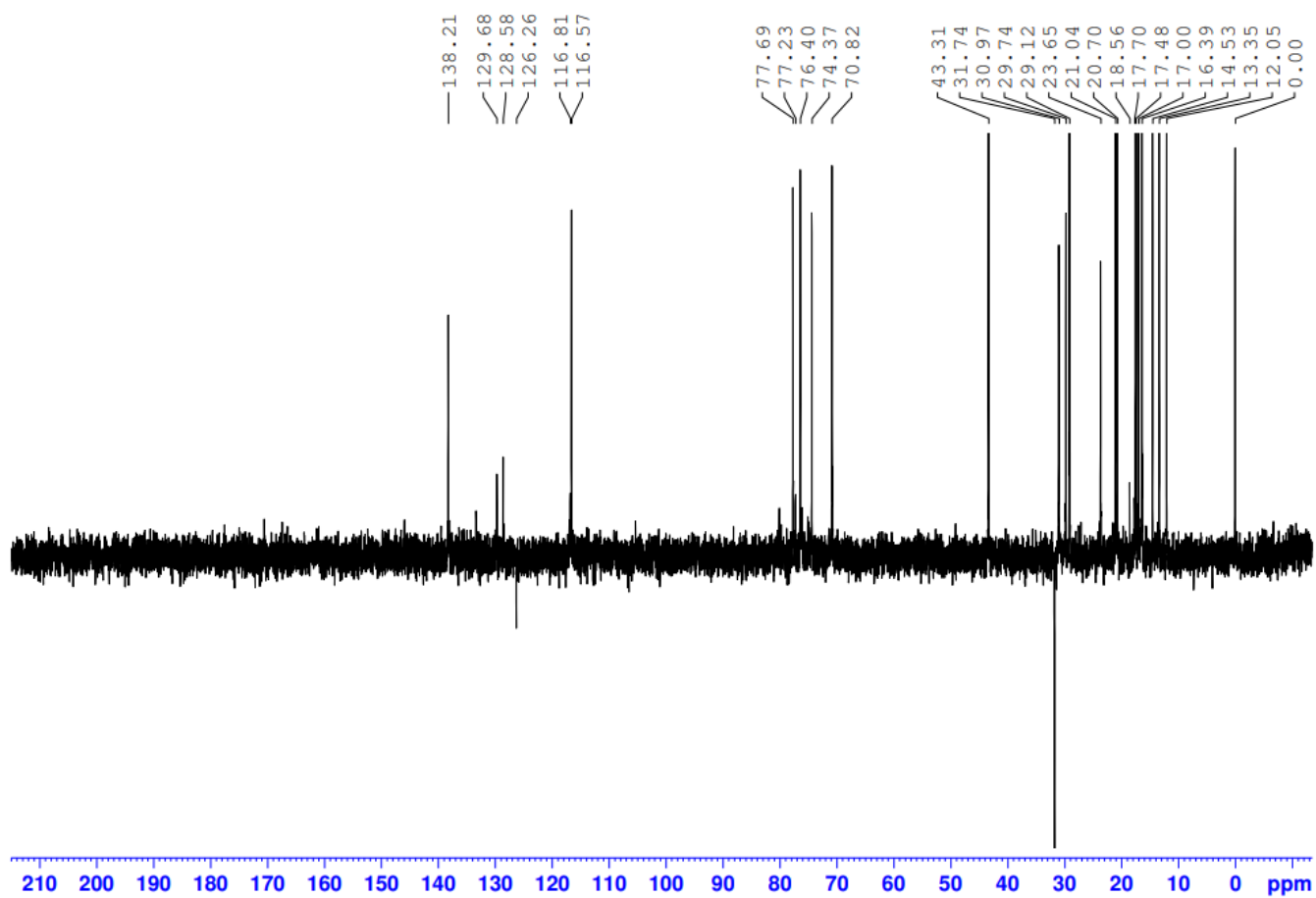
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)



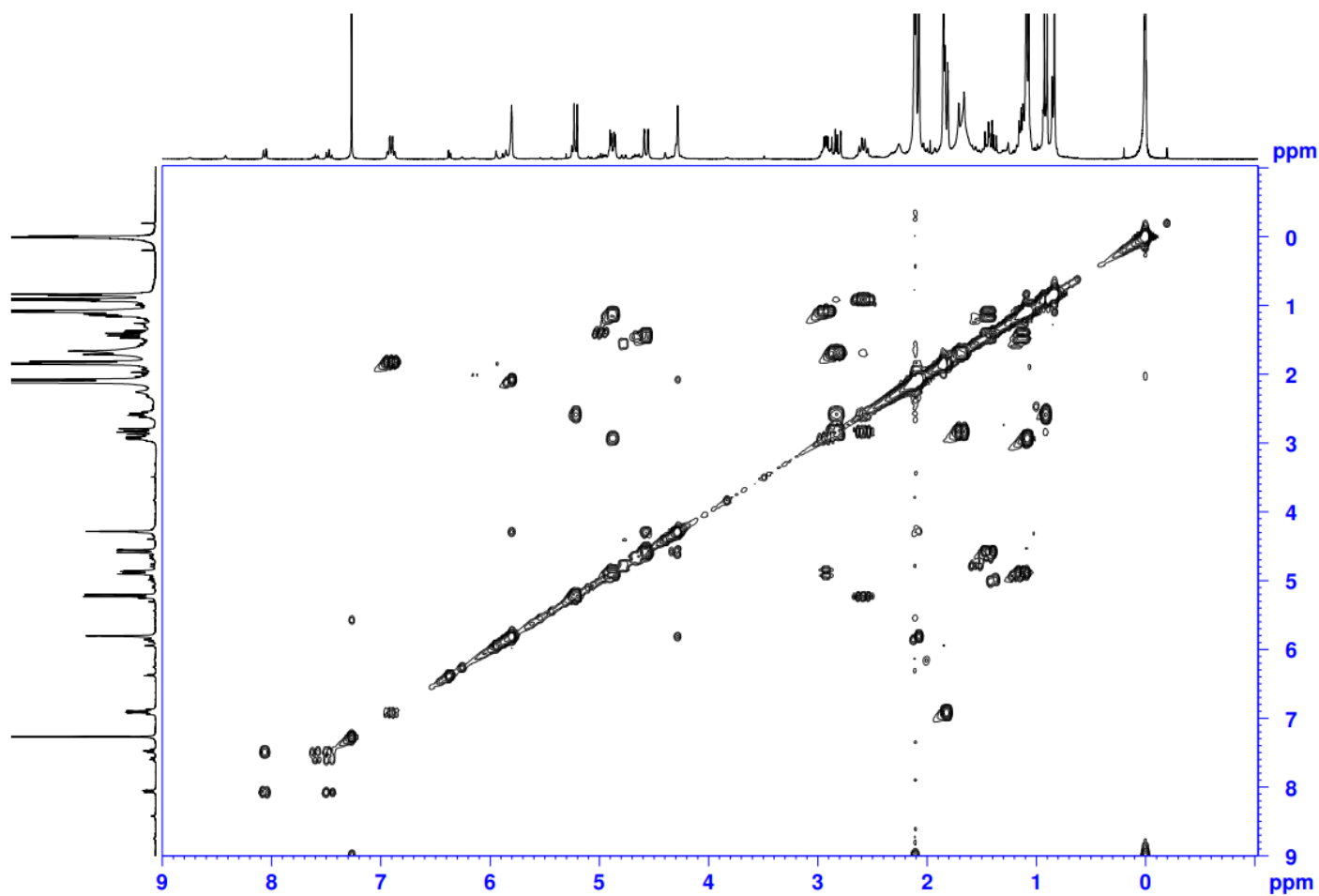


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)

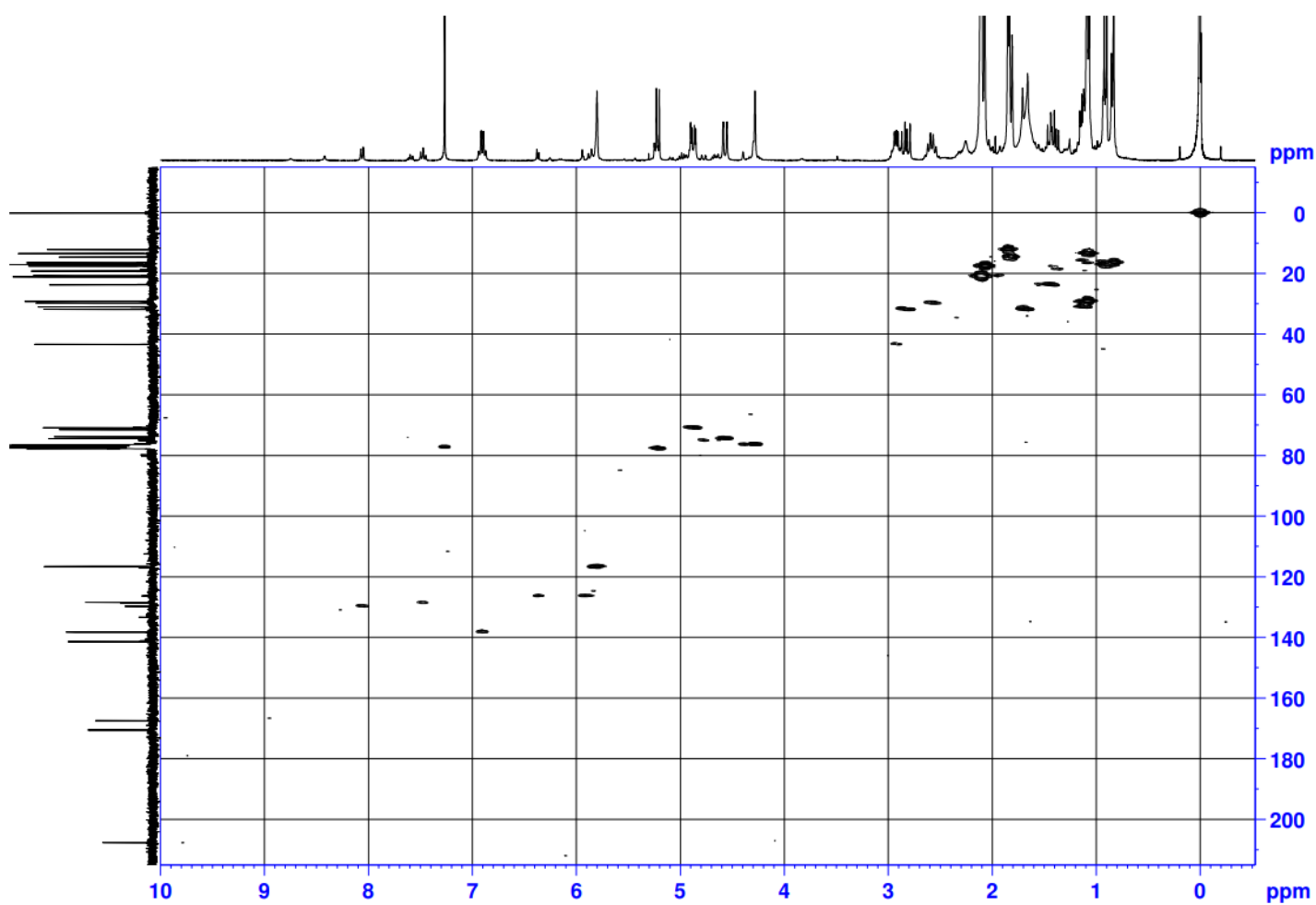


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)



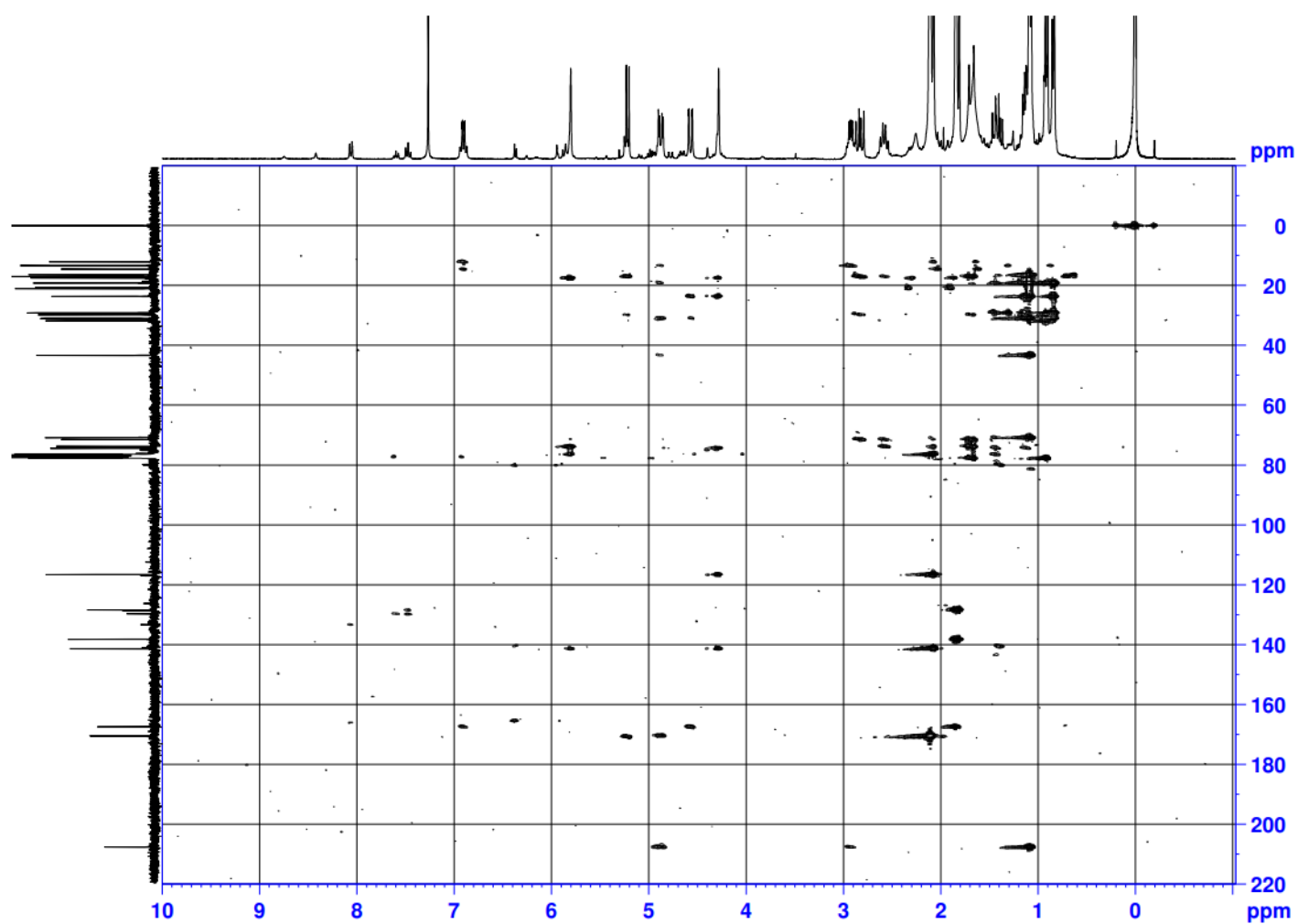
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)



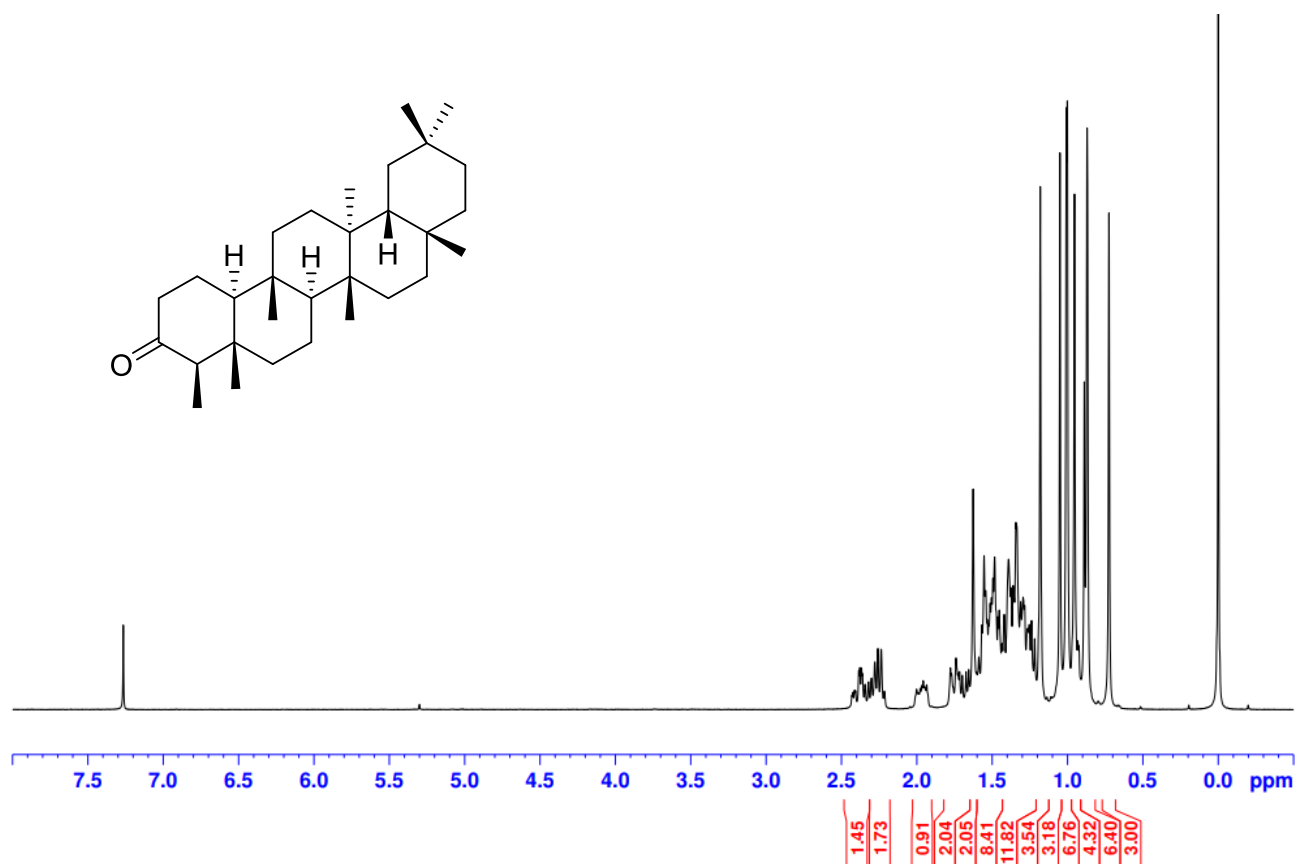
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ 3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol (EL4)

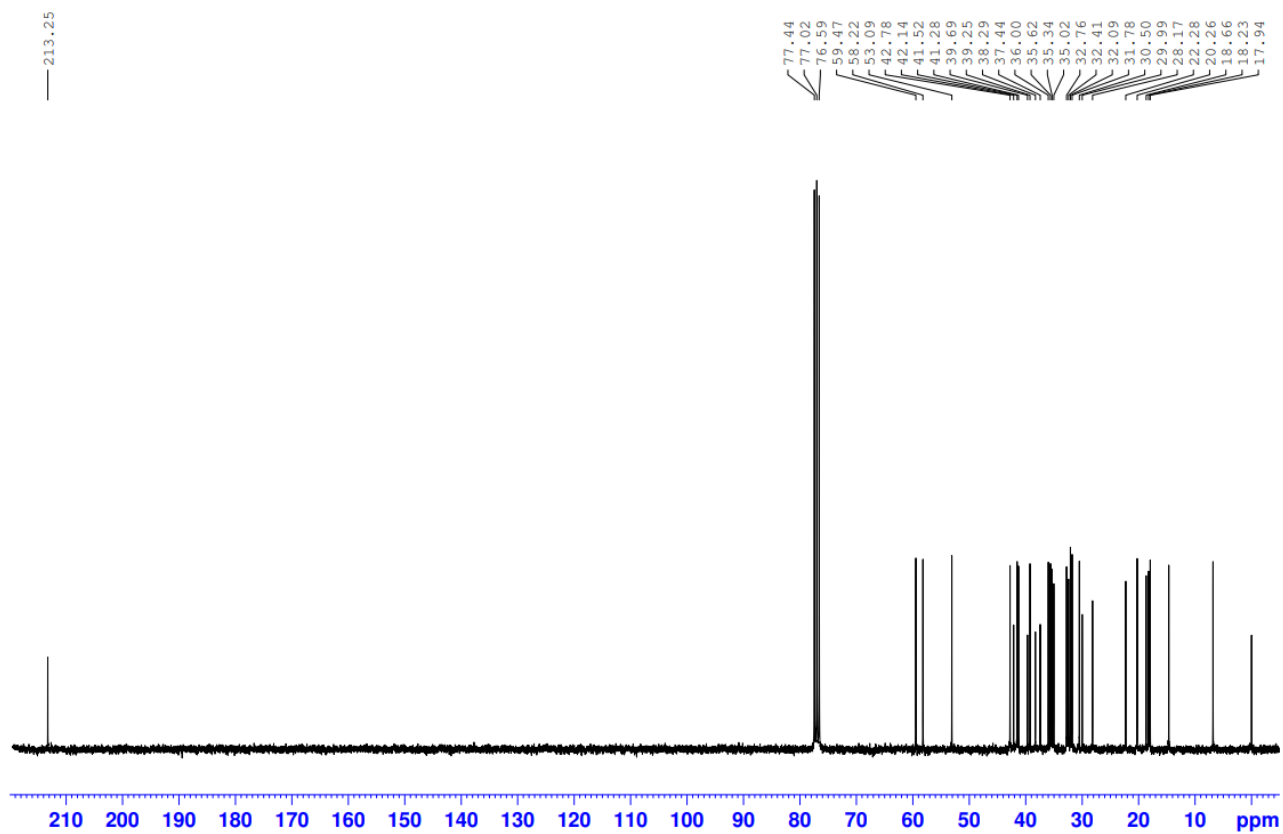


มหาวิทยาลัยศิลปากร

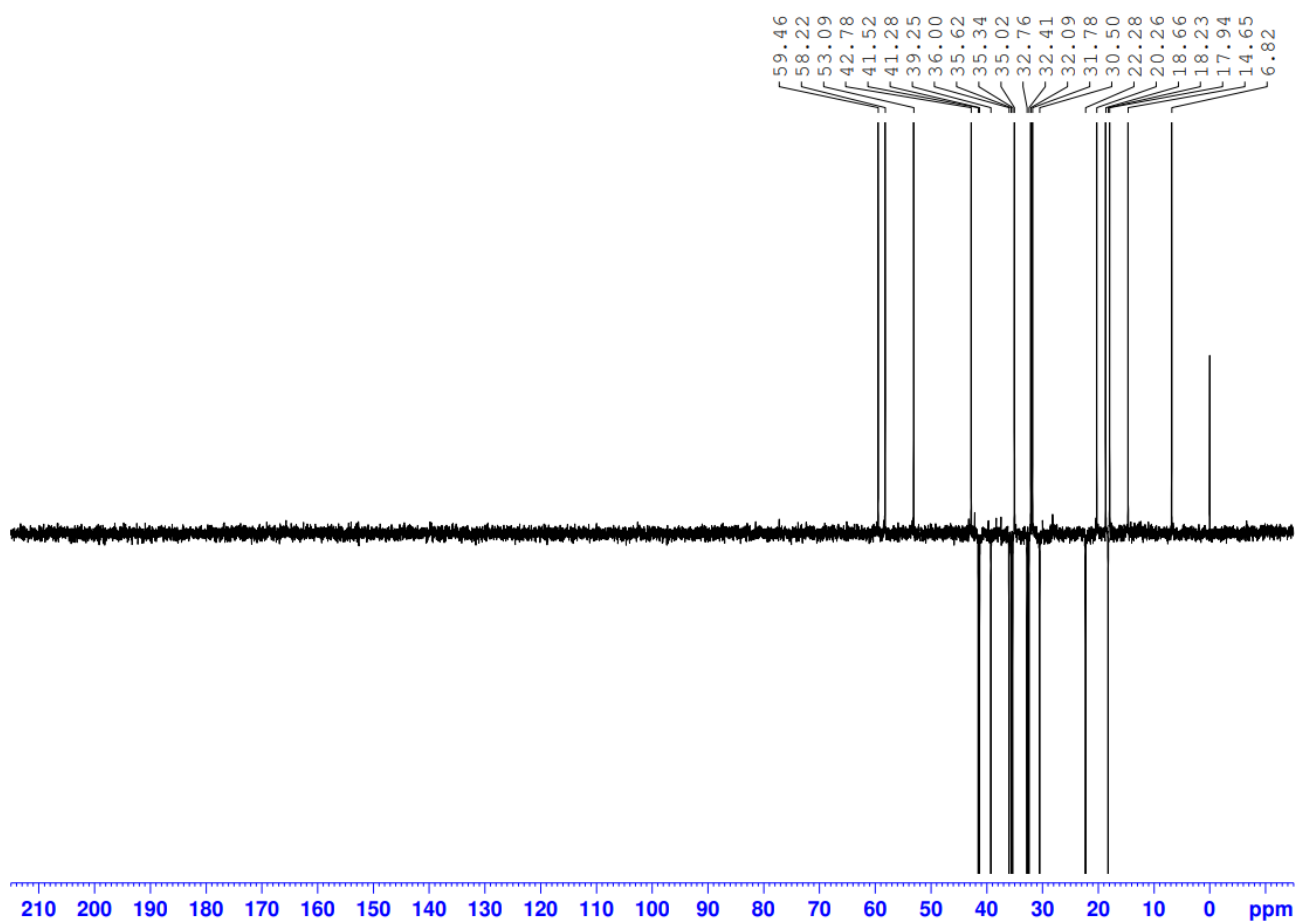
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Friedelin (EL-5)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Friedelin (EL-5)

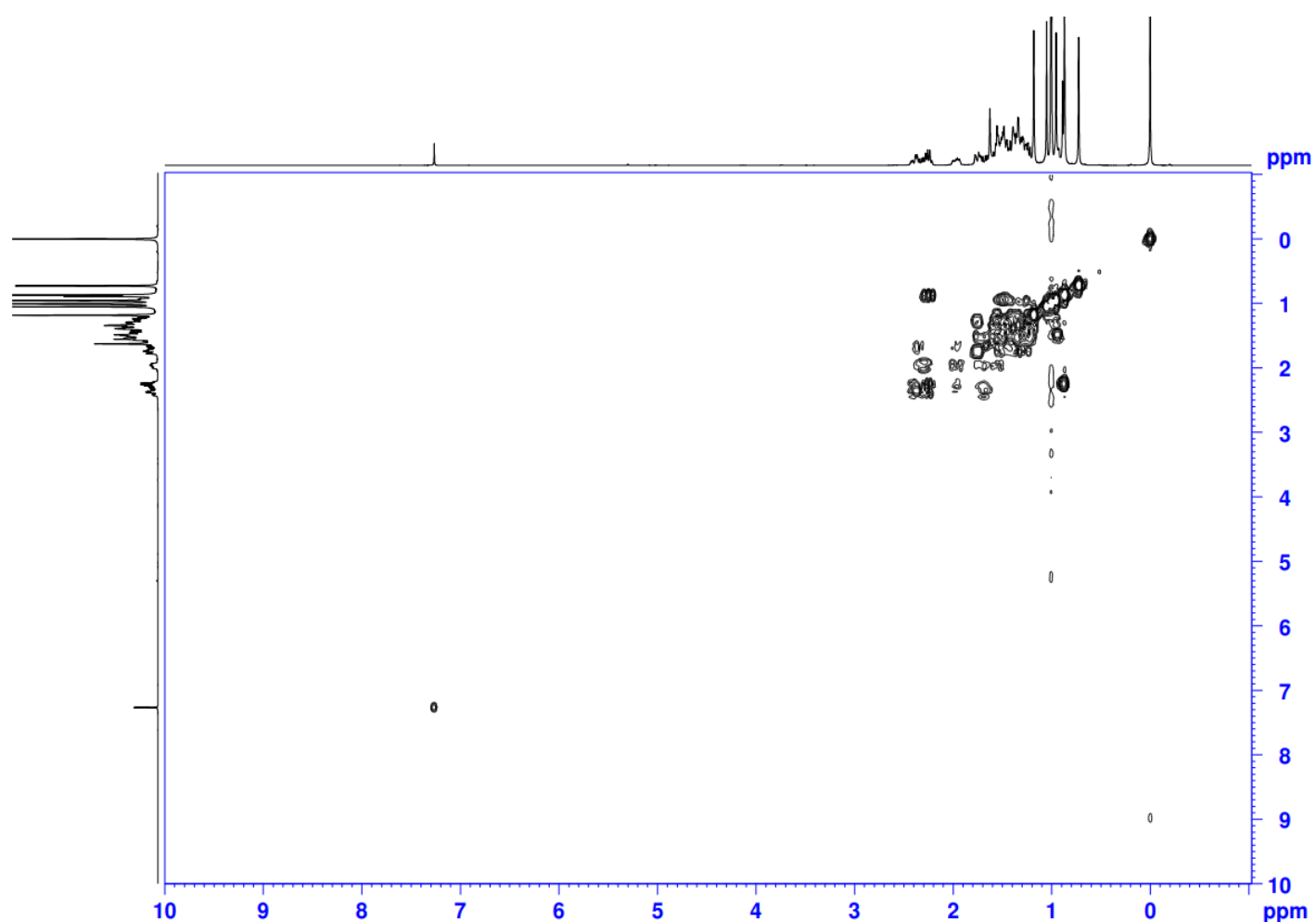


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ Friedelin (EL-5)

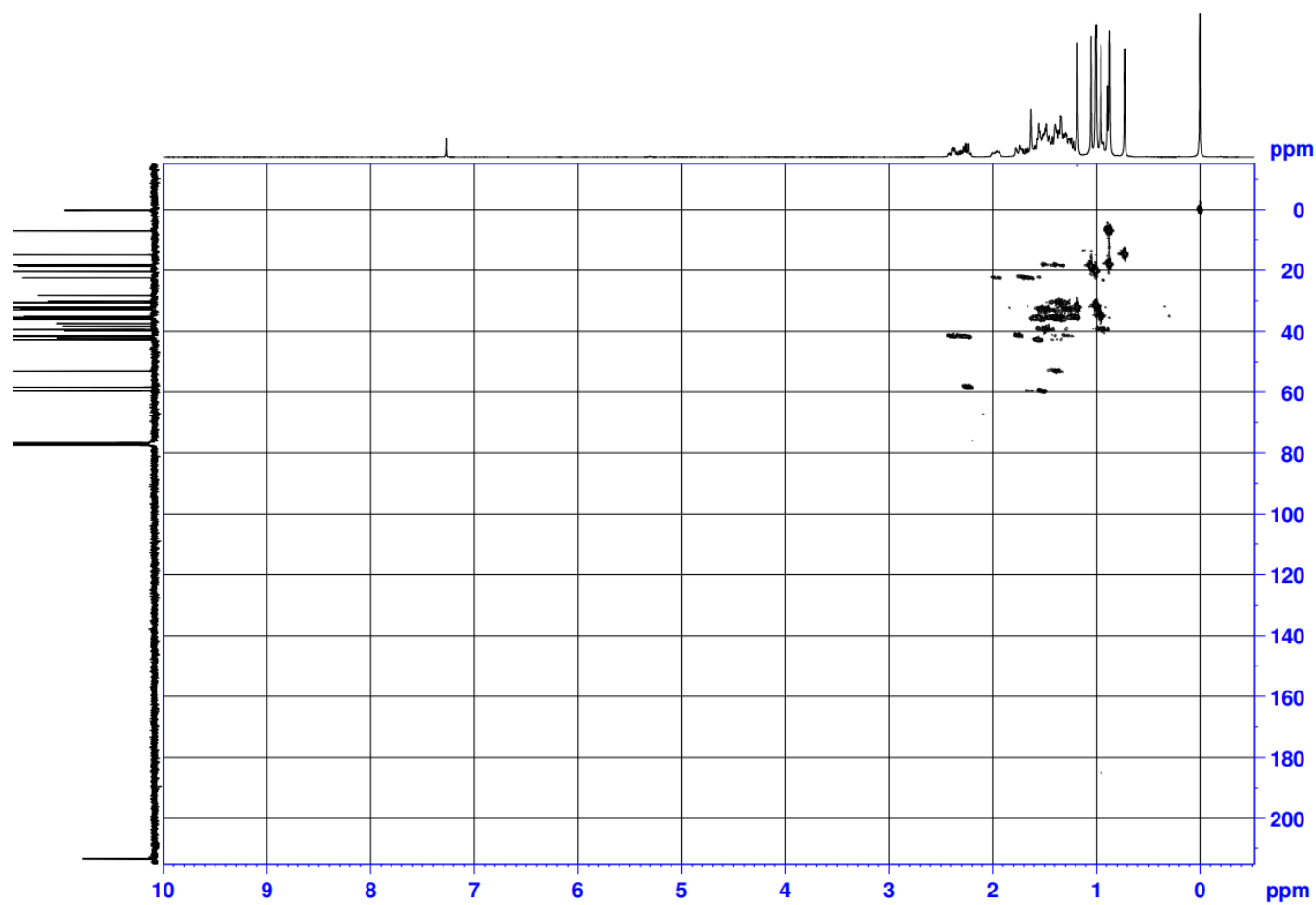




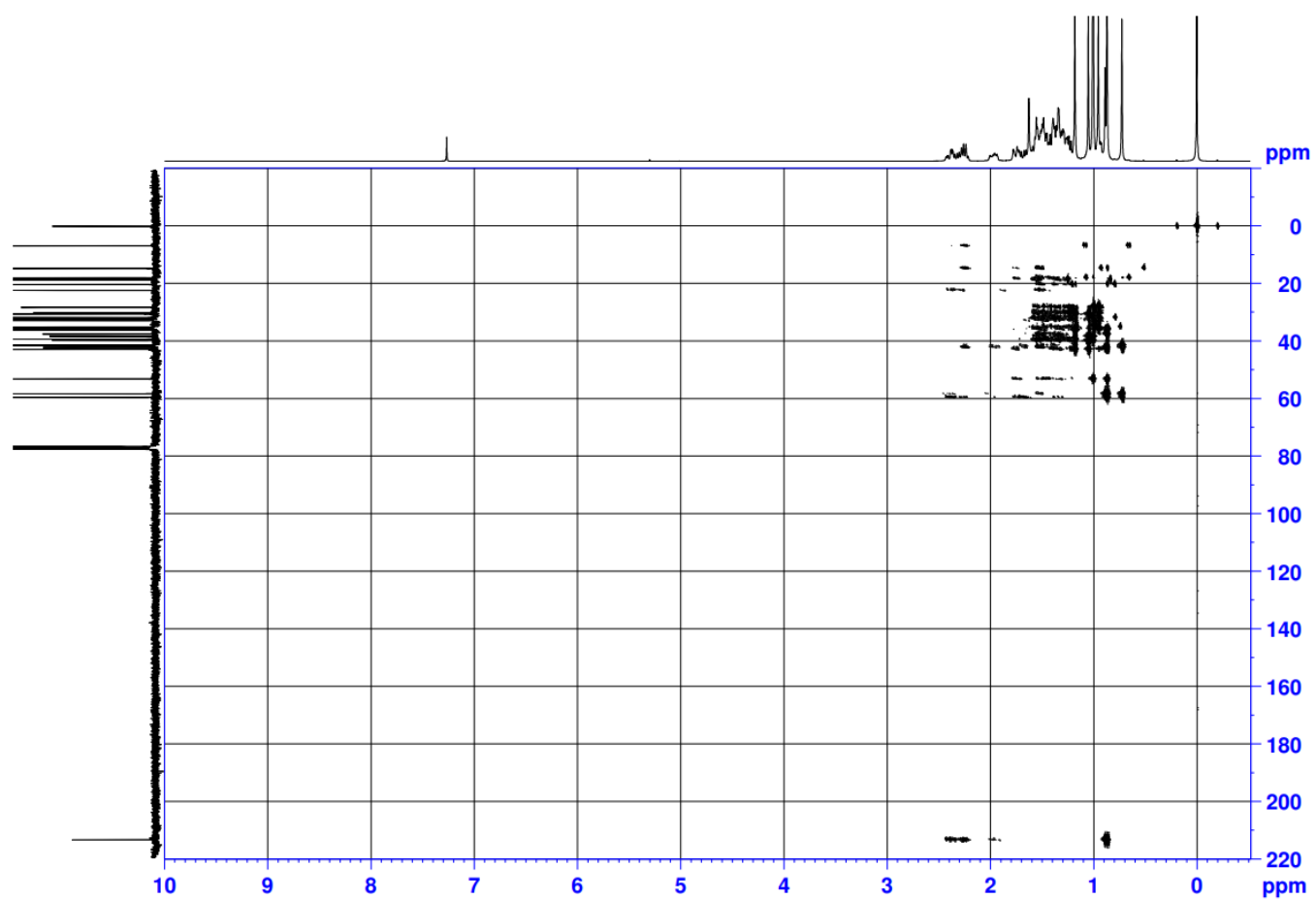
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ Friedelin (EL-5)



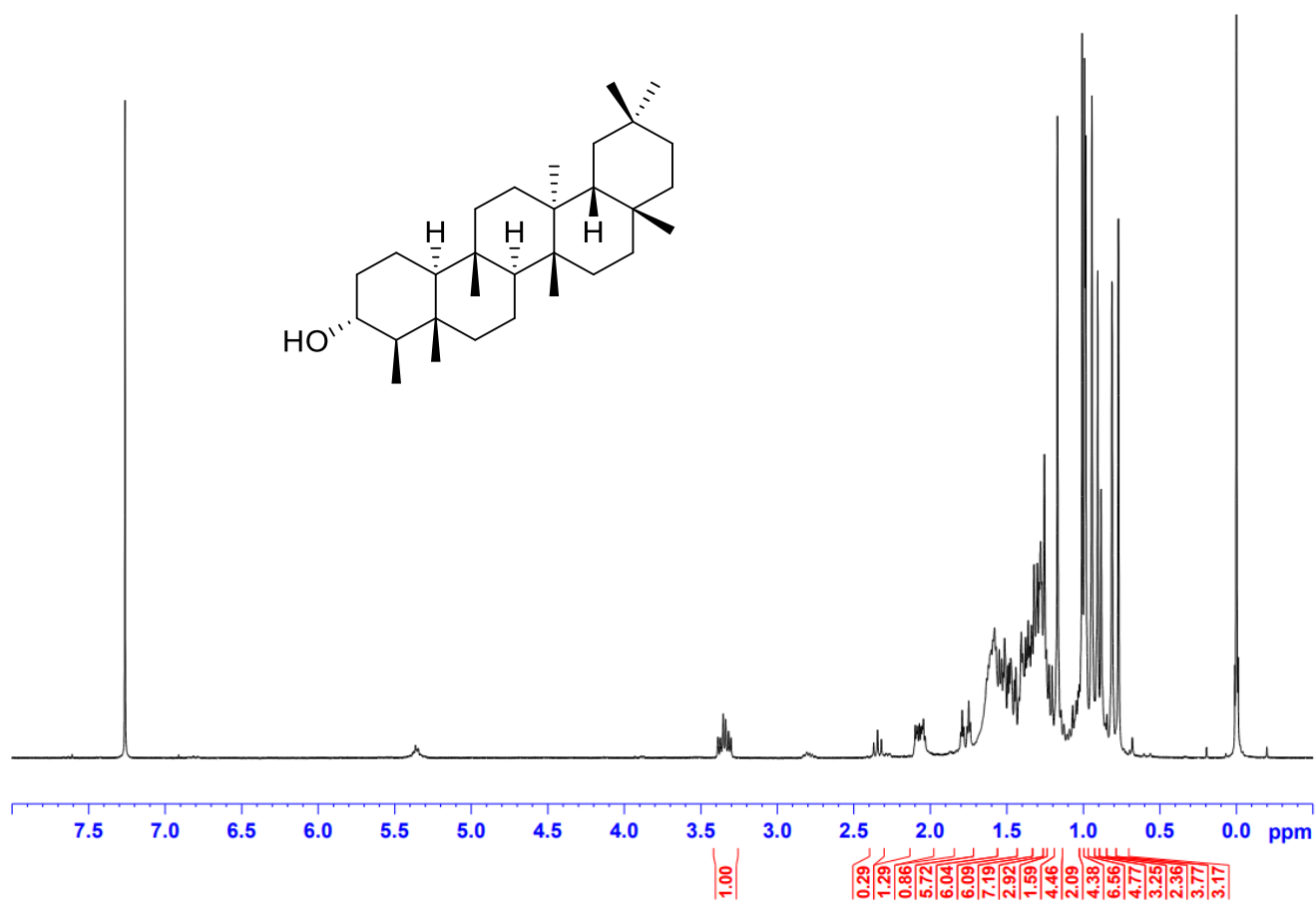
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ Friedelin (EL-5)



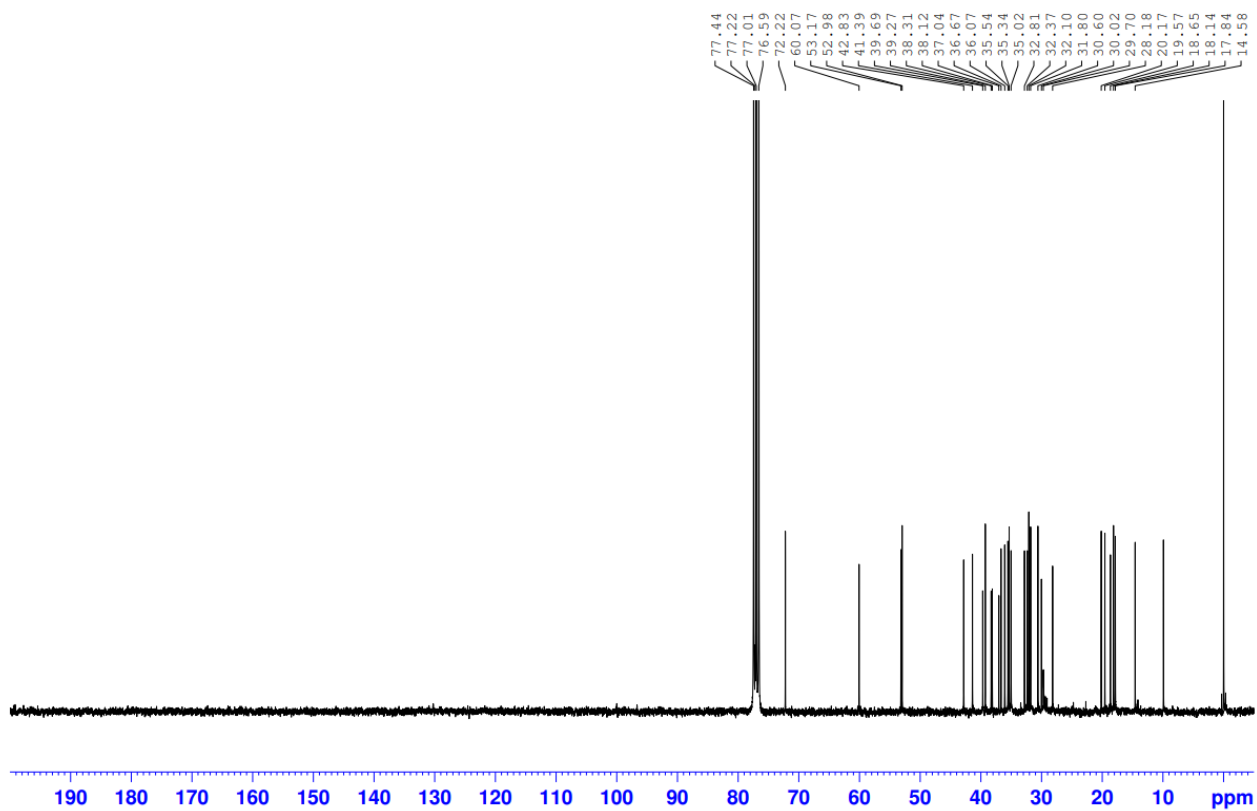
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ Friedelin (EL-5)



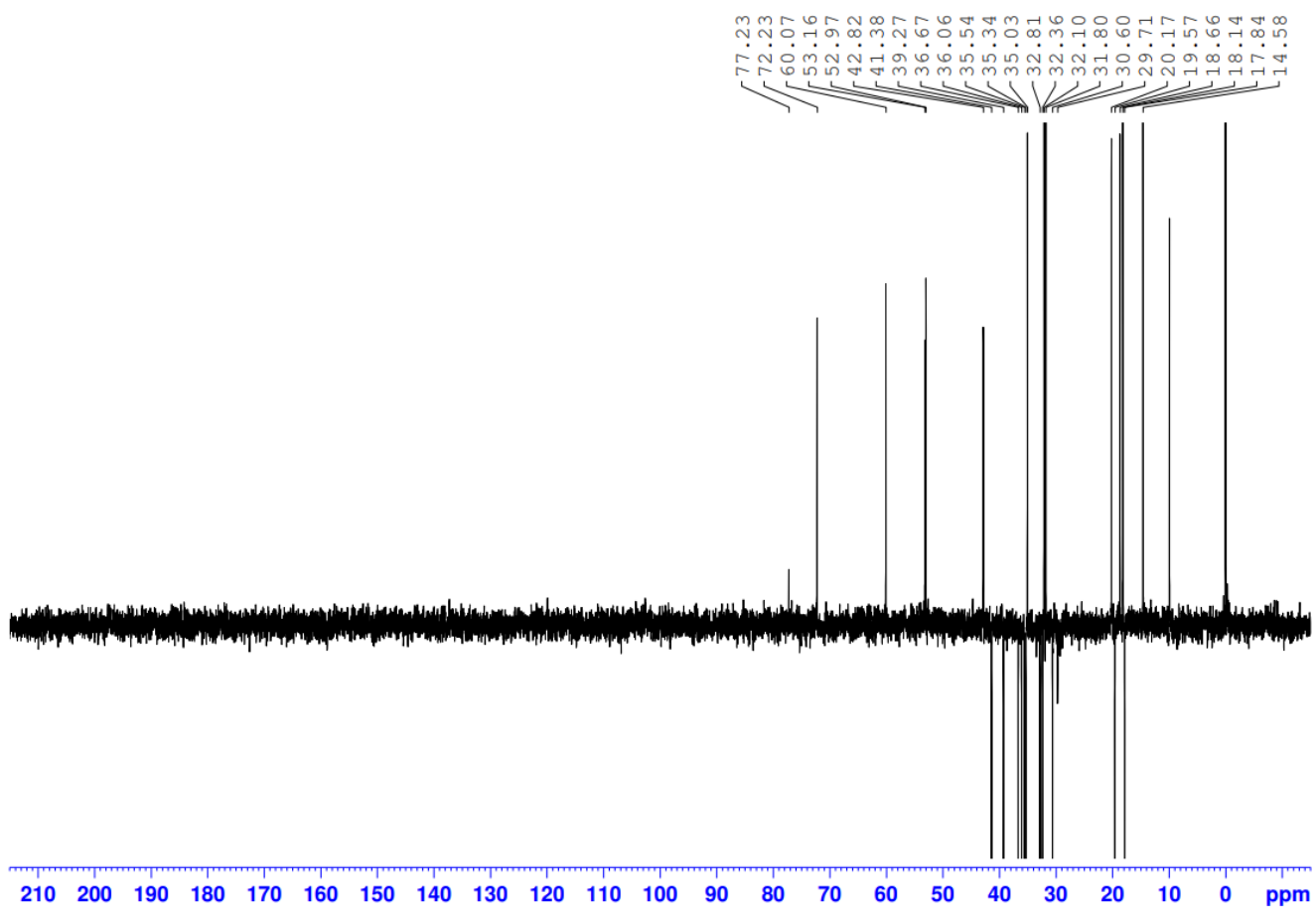
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)



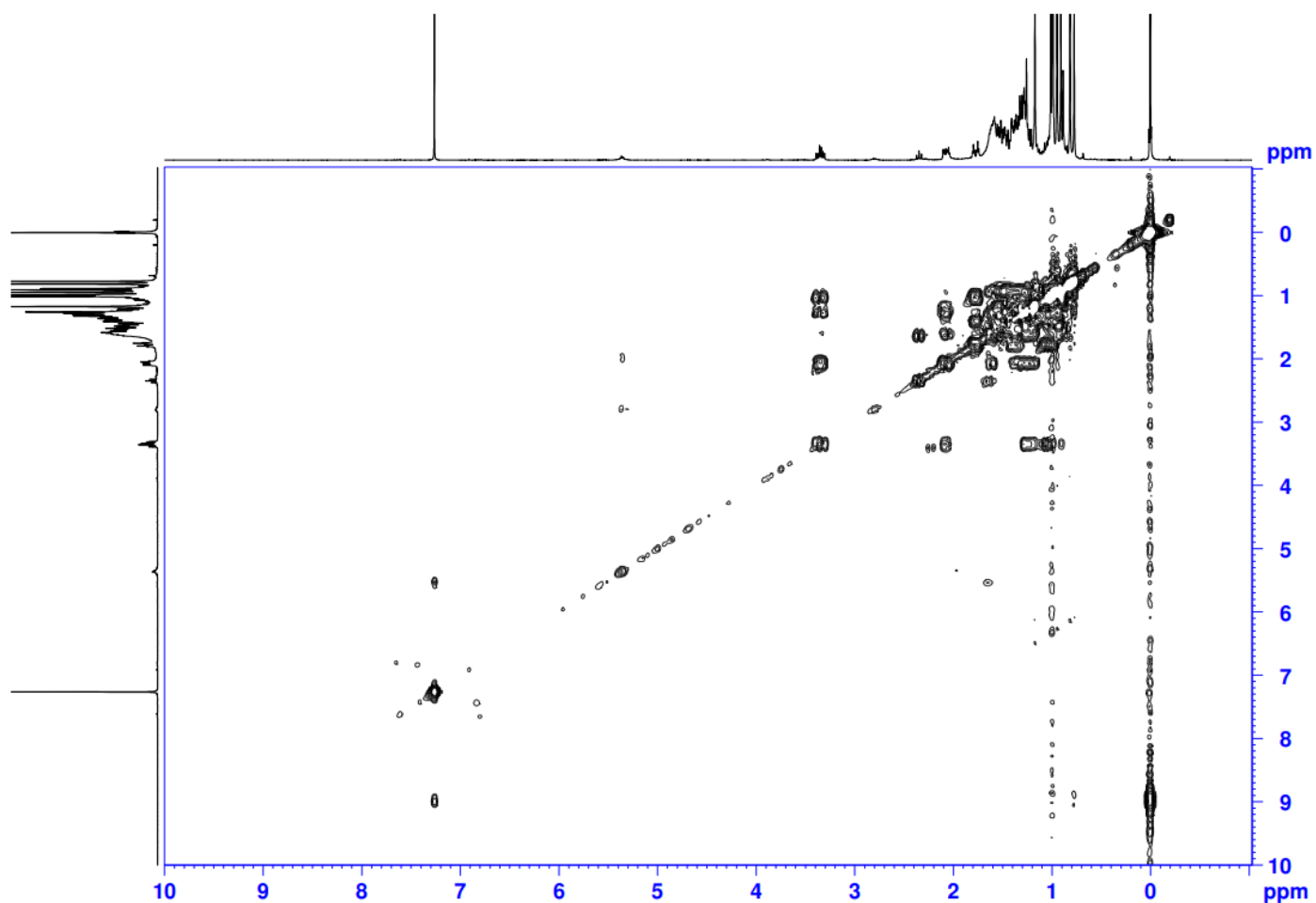
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)



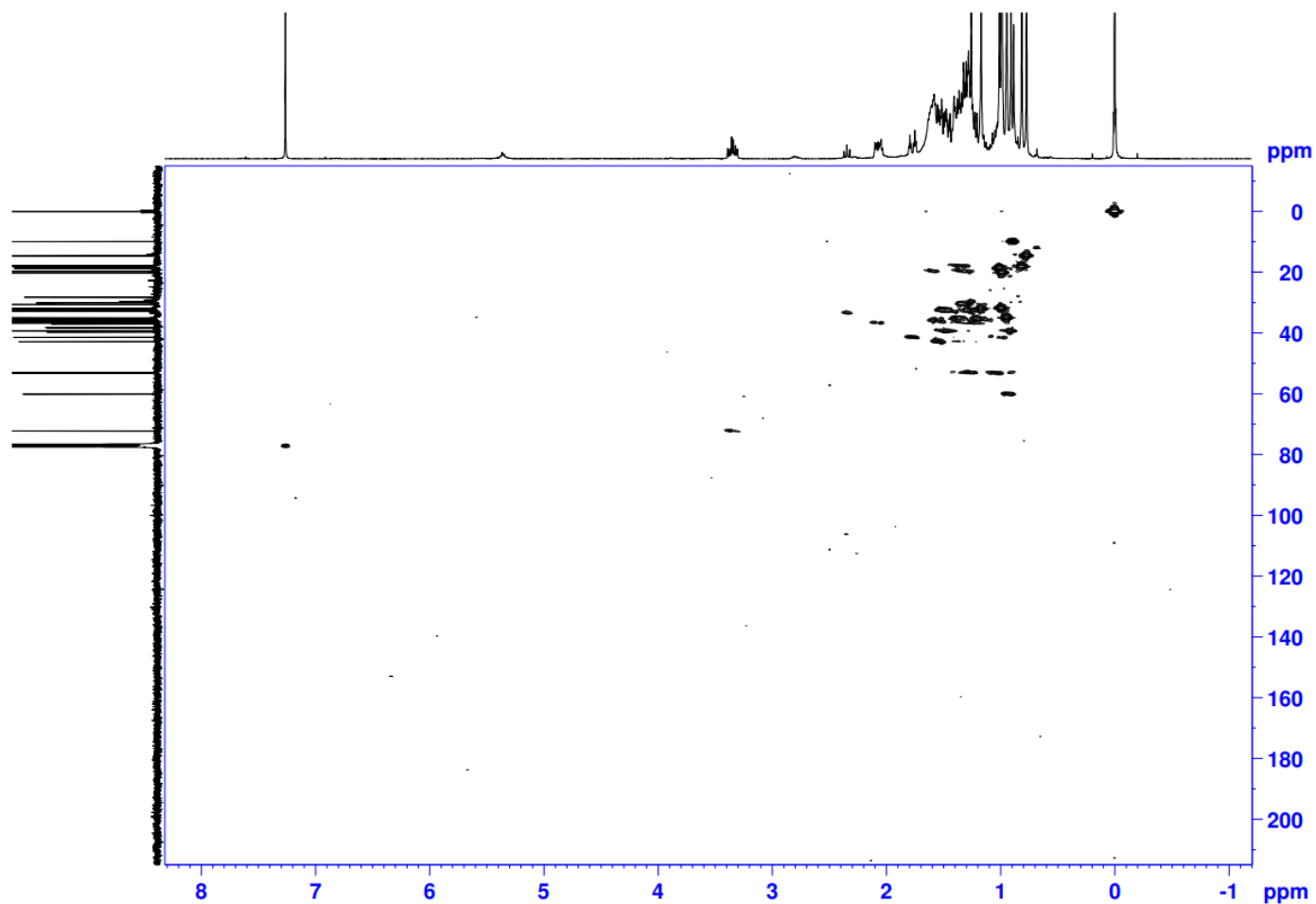
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)

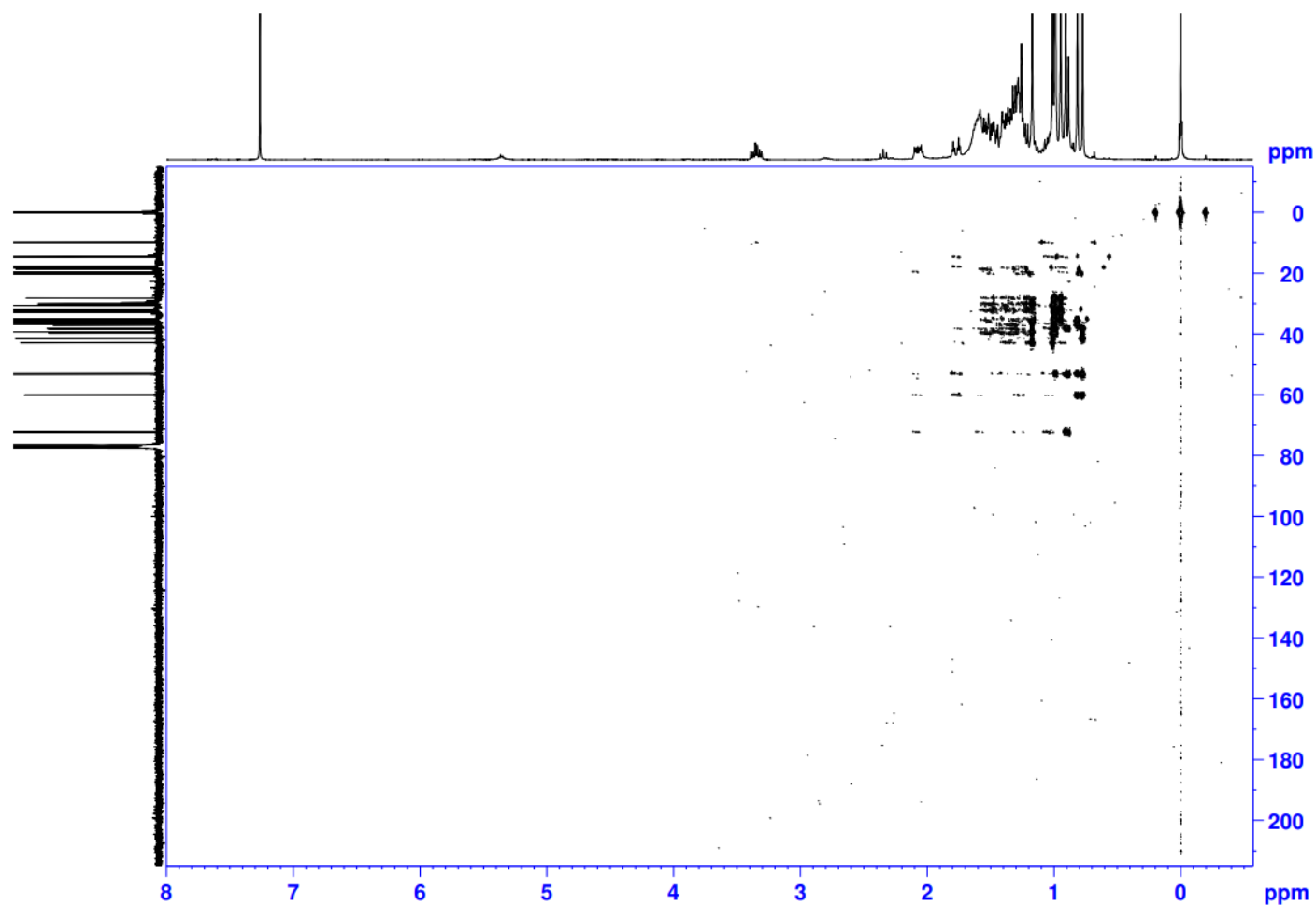


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)

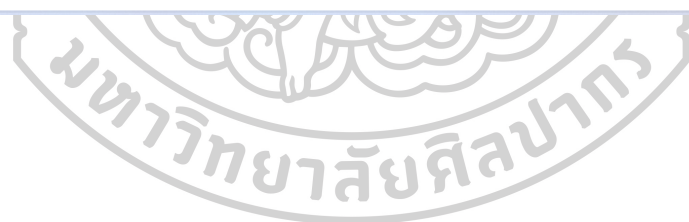
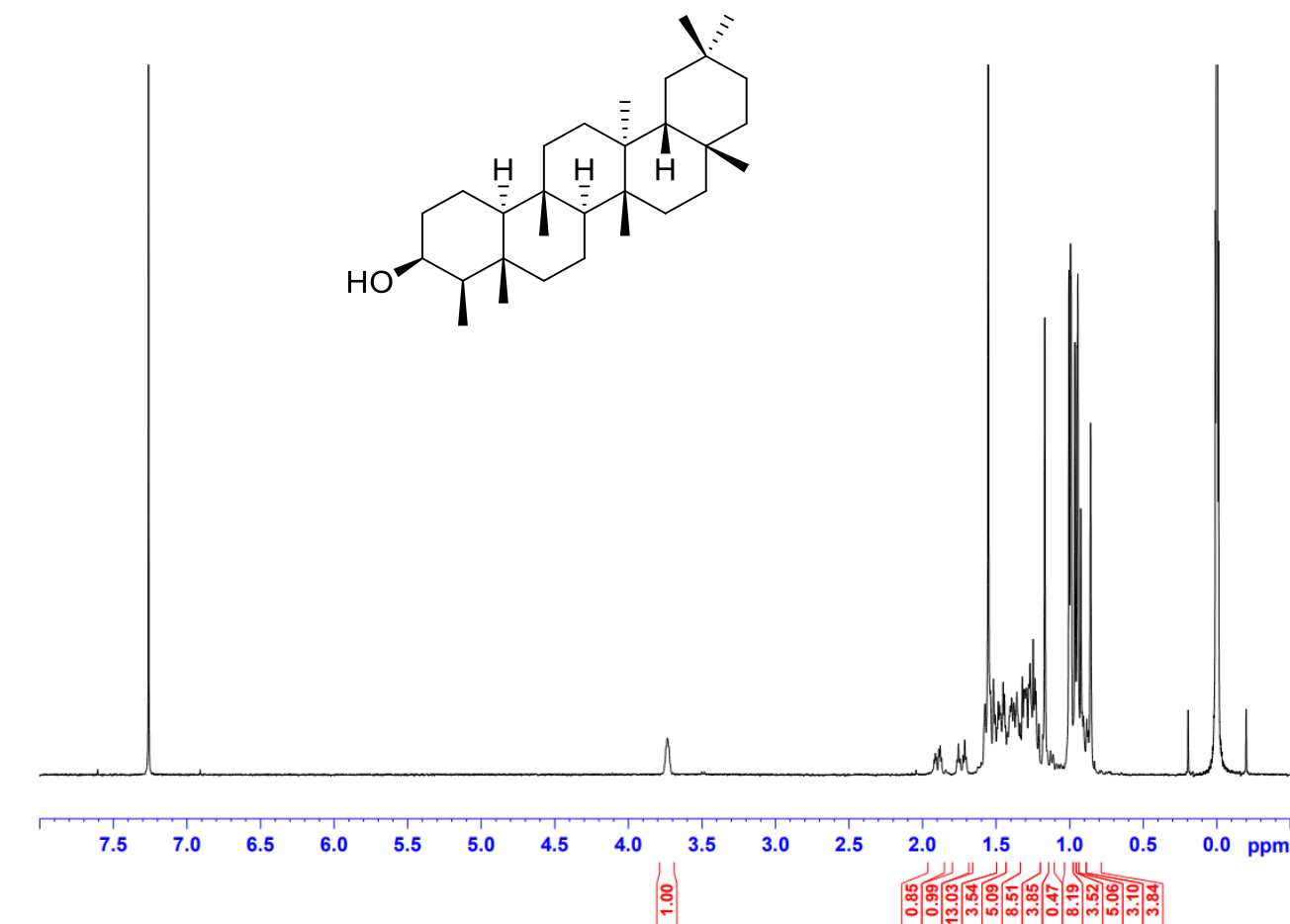




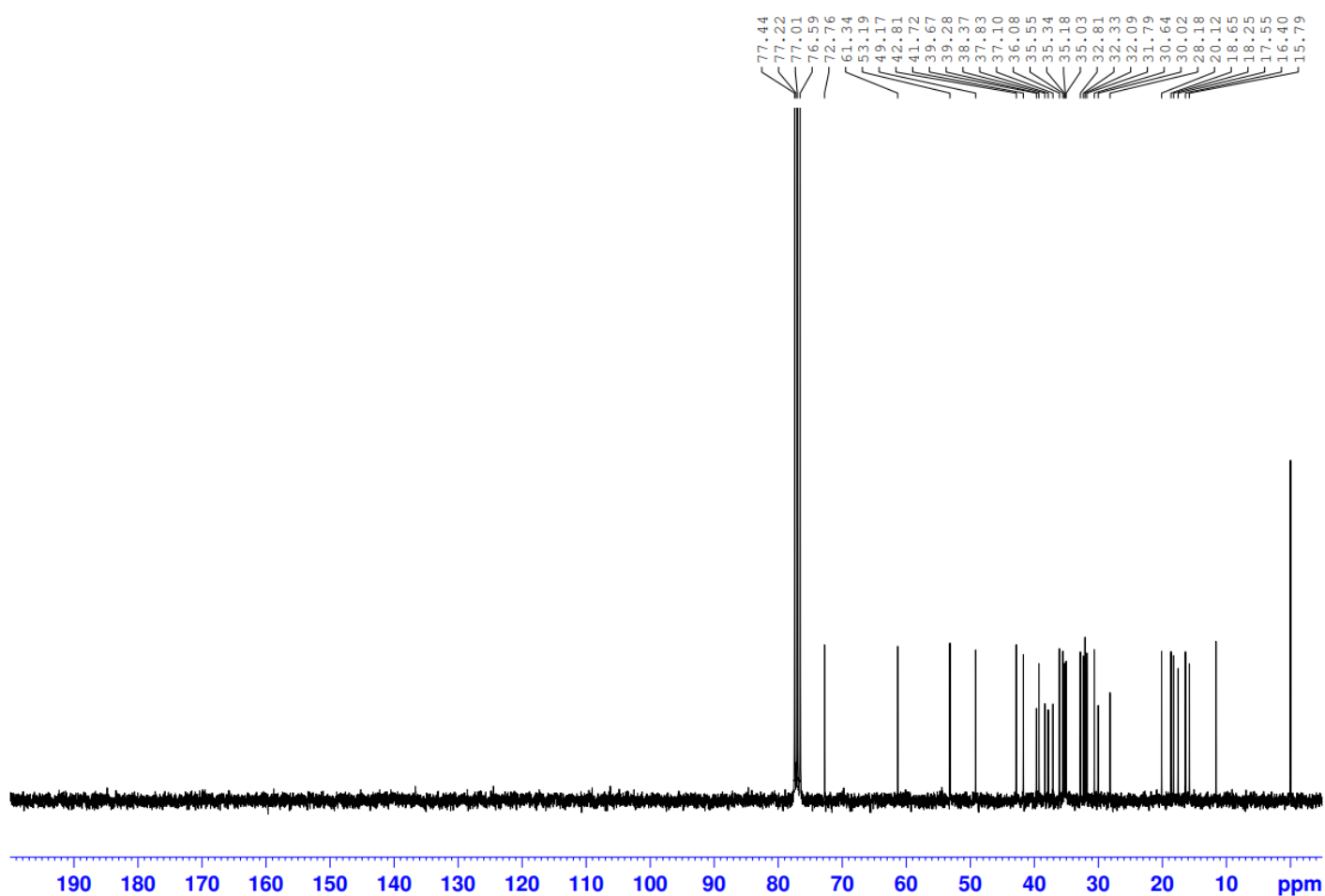
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ Friedelan-3 $\alpha$ -ol (EL-6)



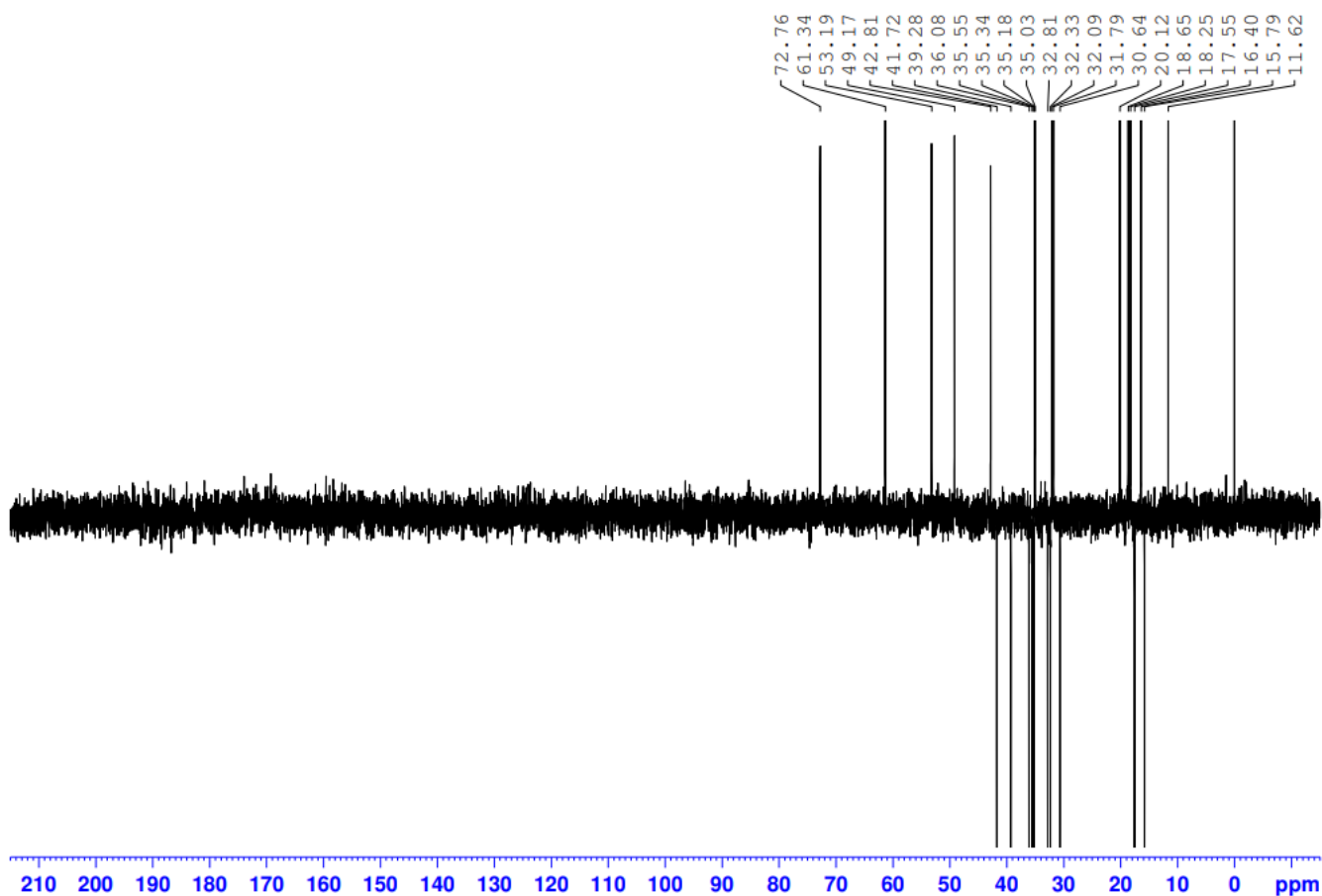
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ friedelan- $3\beta$ -ol (EL-7)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ friedelan- $3\beta$ -ol (EL-7)

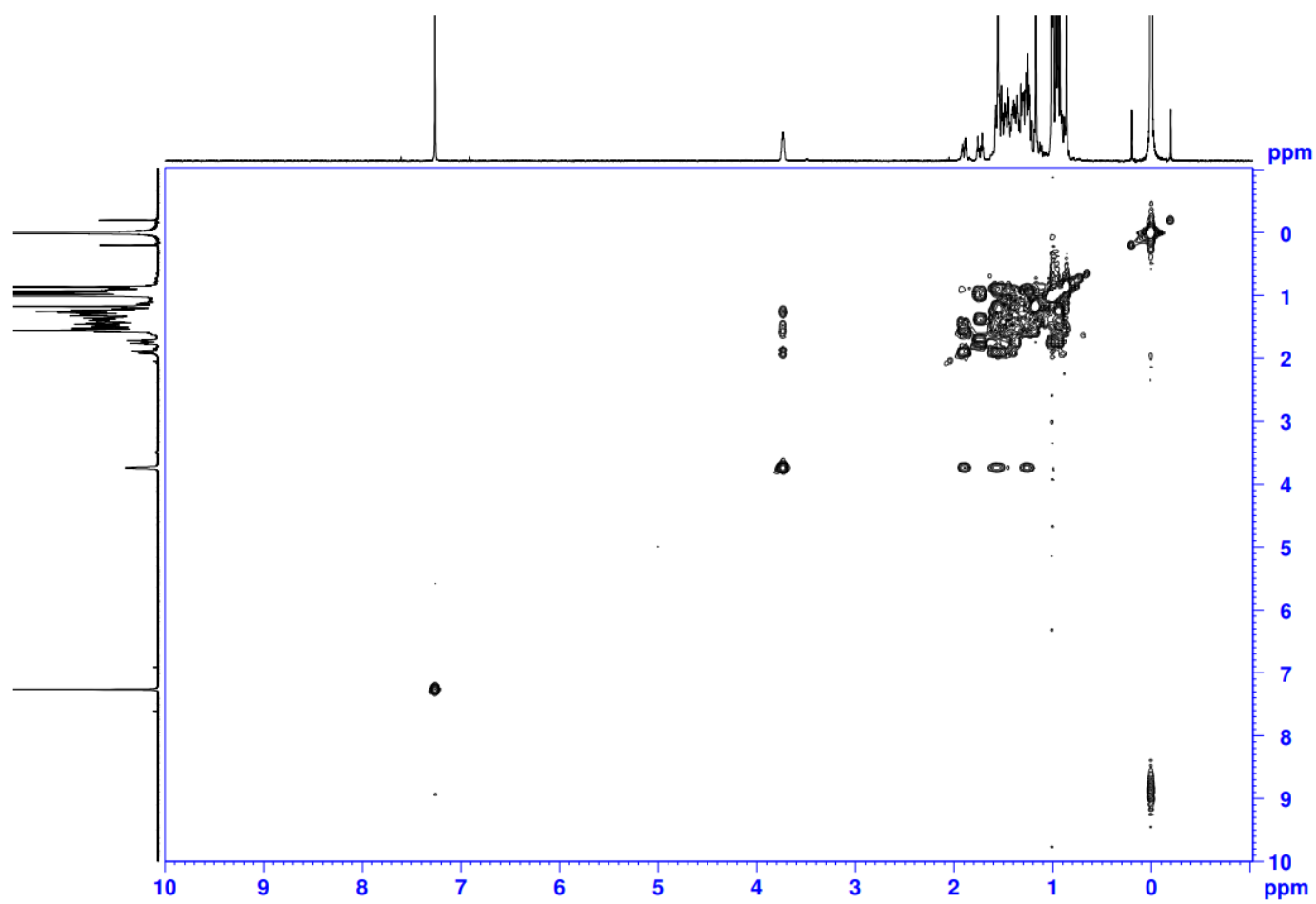


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-7)

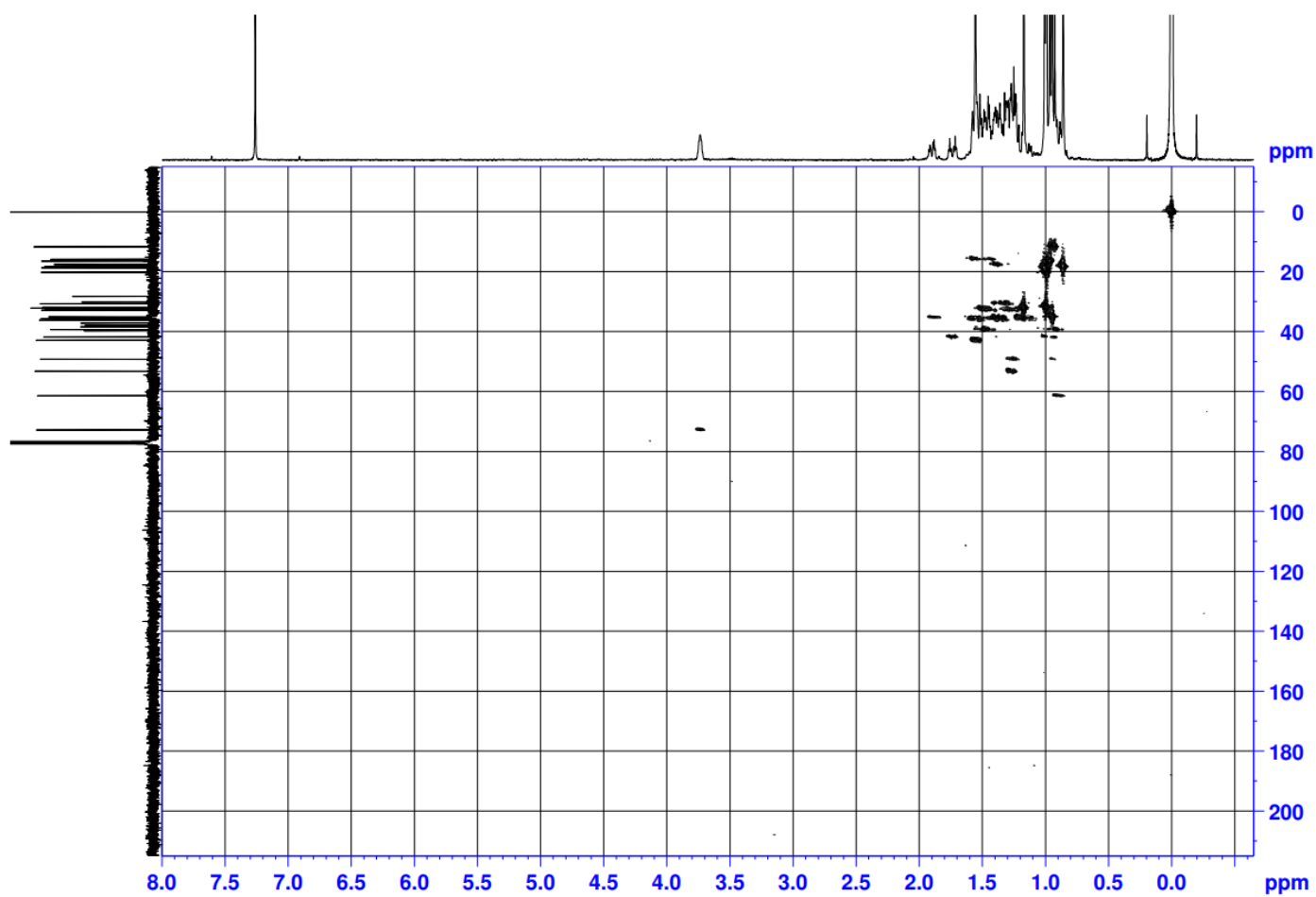


วิทยาลัยศิลป

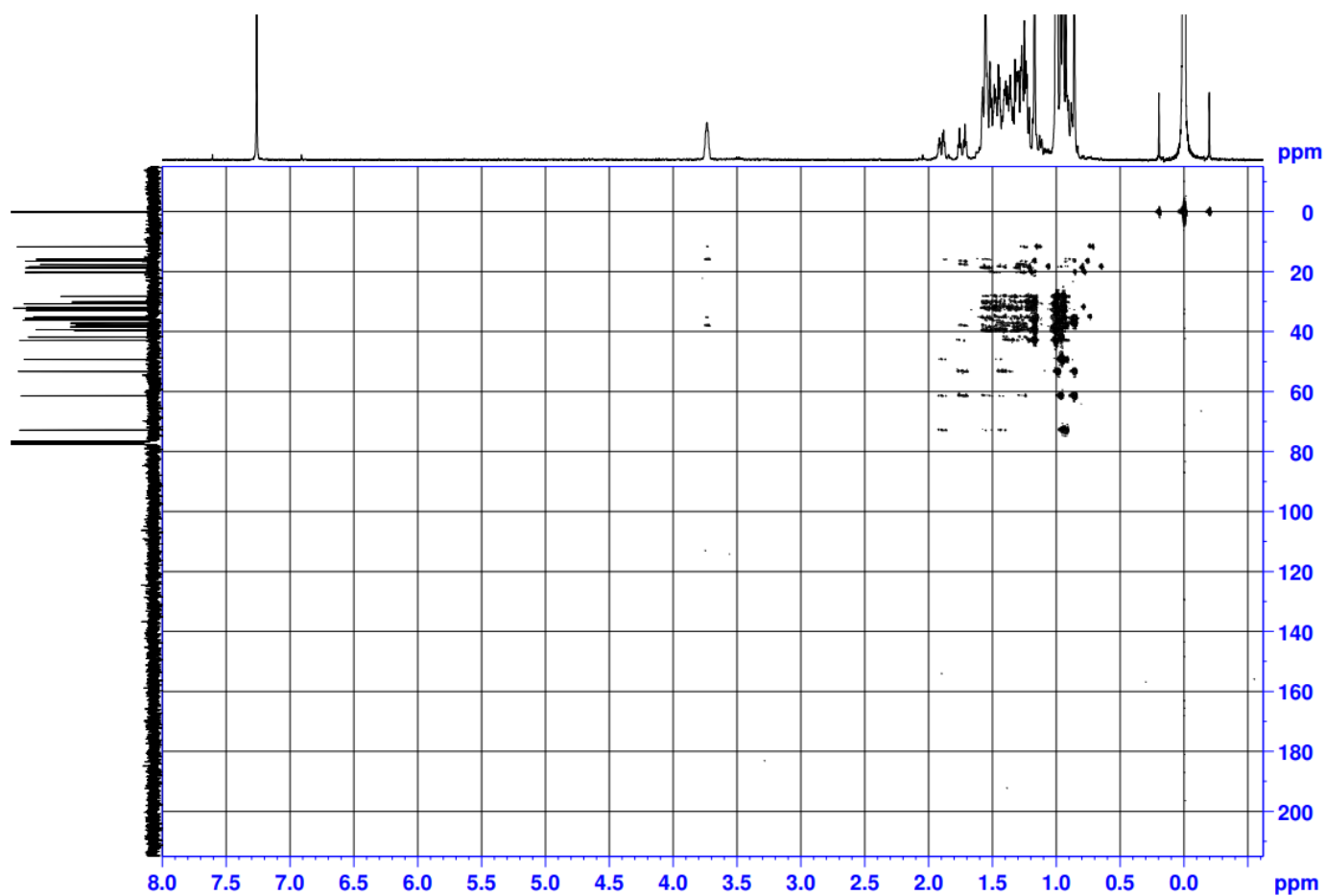
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-7)



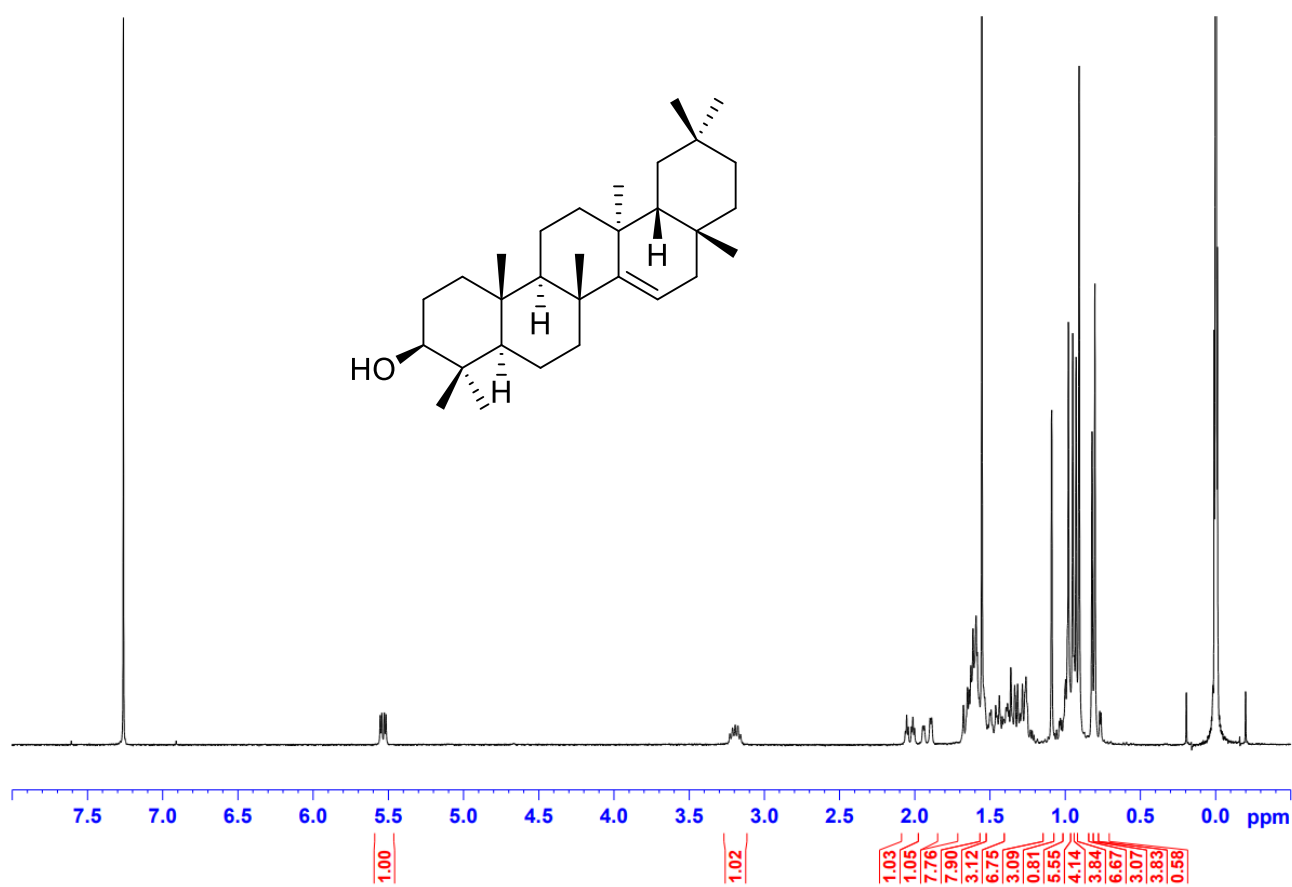
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-7)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ friedelan-3 $\beta$ -ol (EL-7)

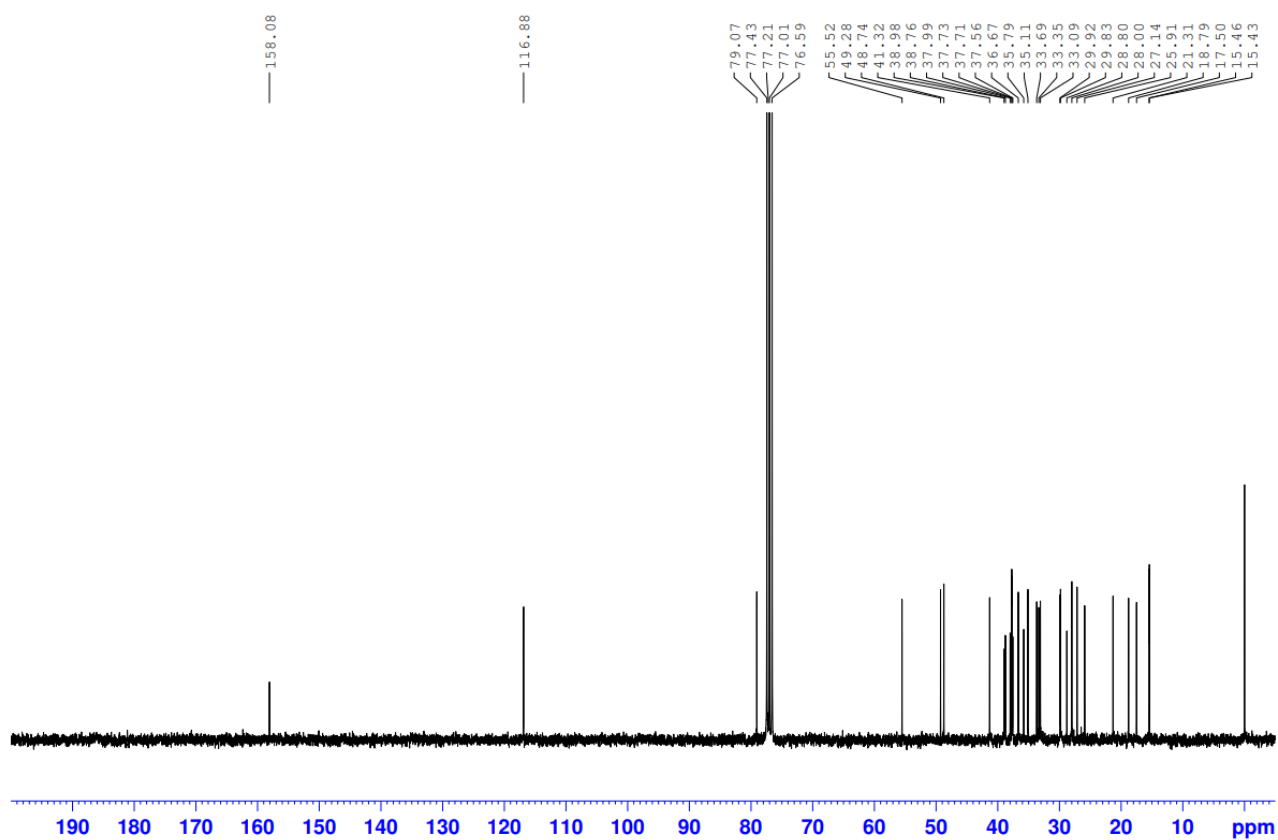


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ taraxerol (EL-8)

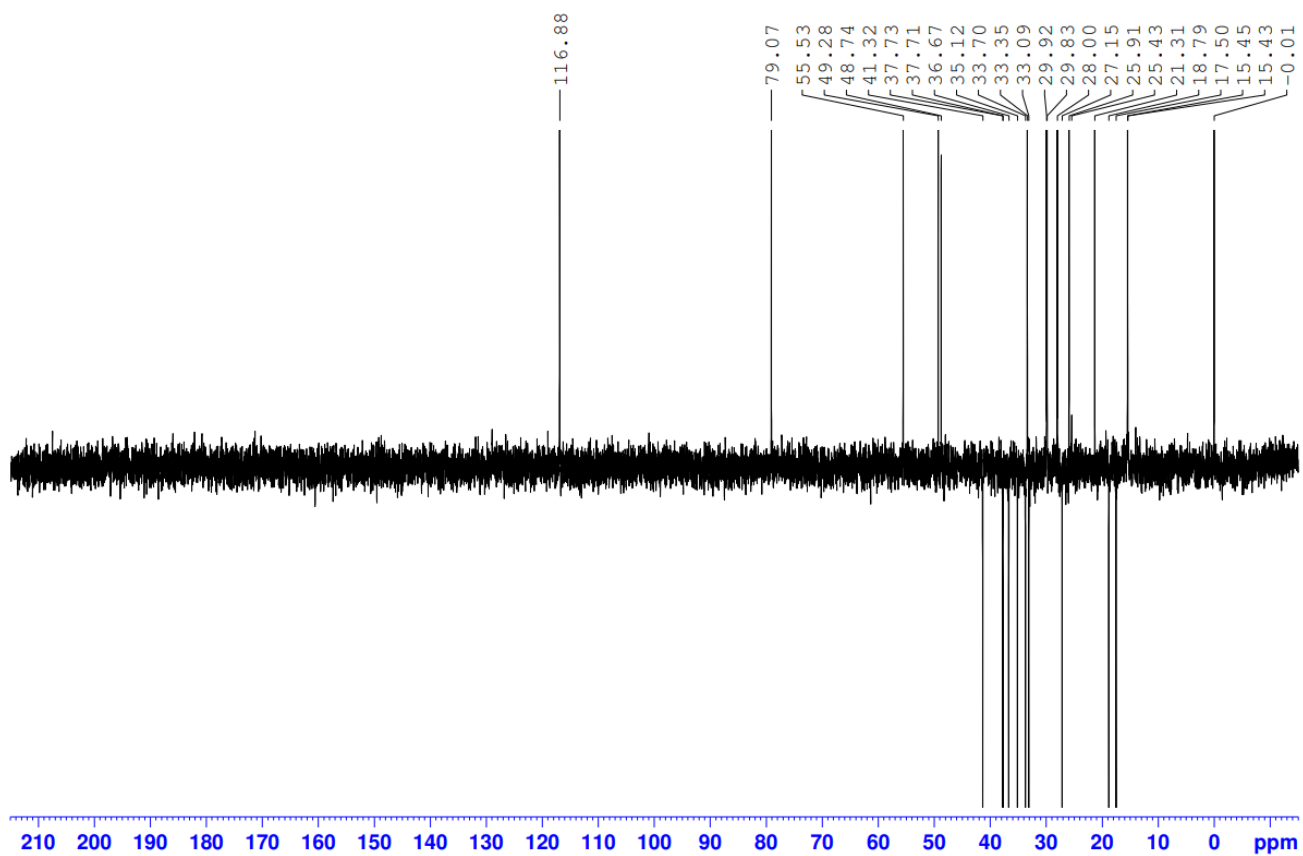




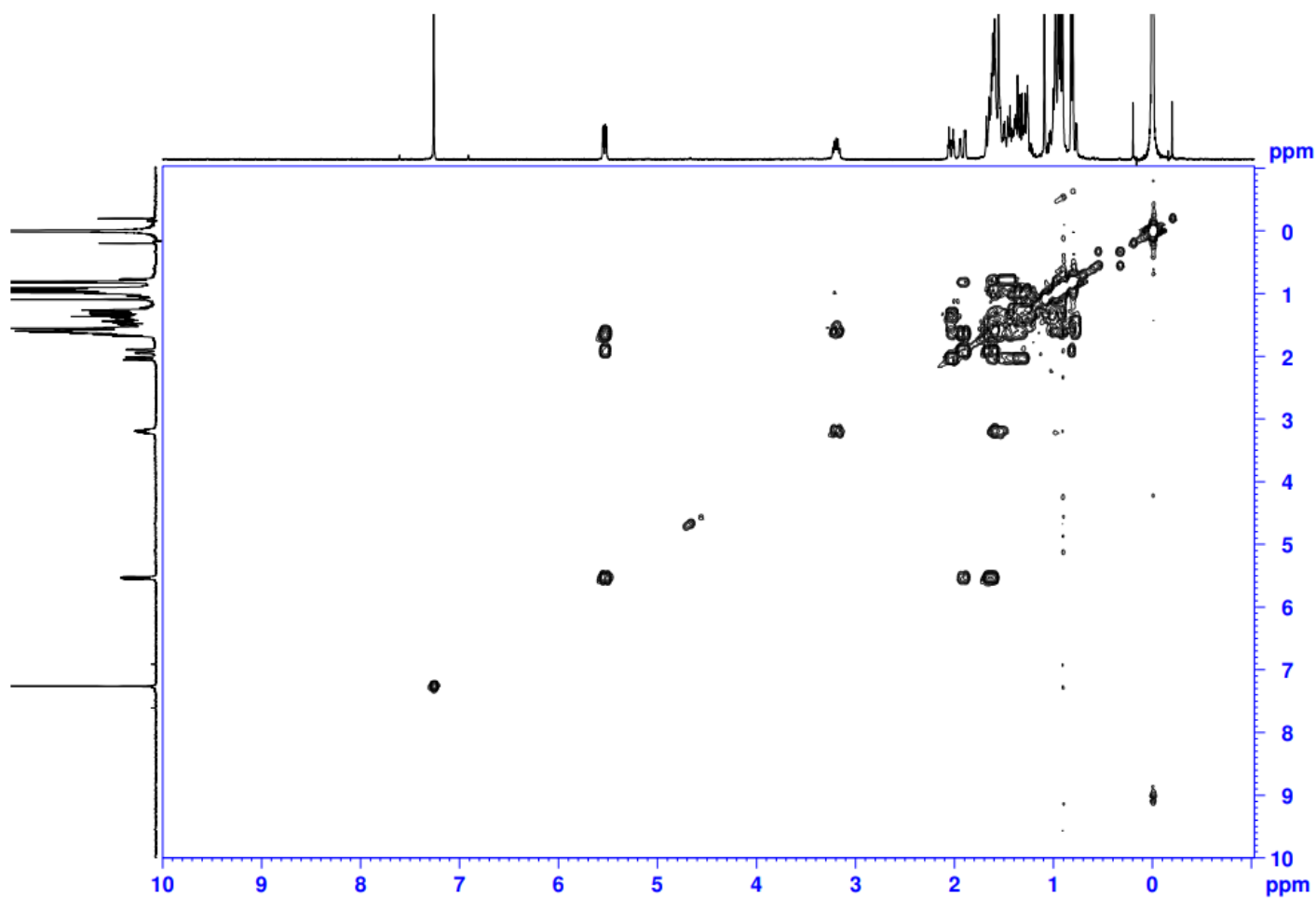
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ taraxerol (EL-8)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ taraxerol (EL-8)

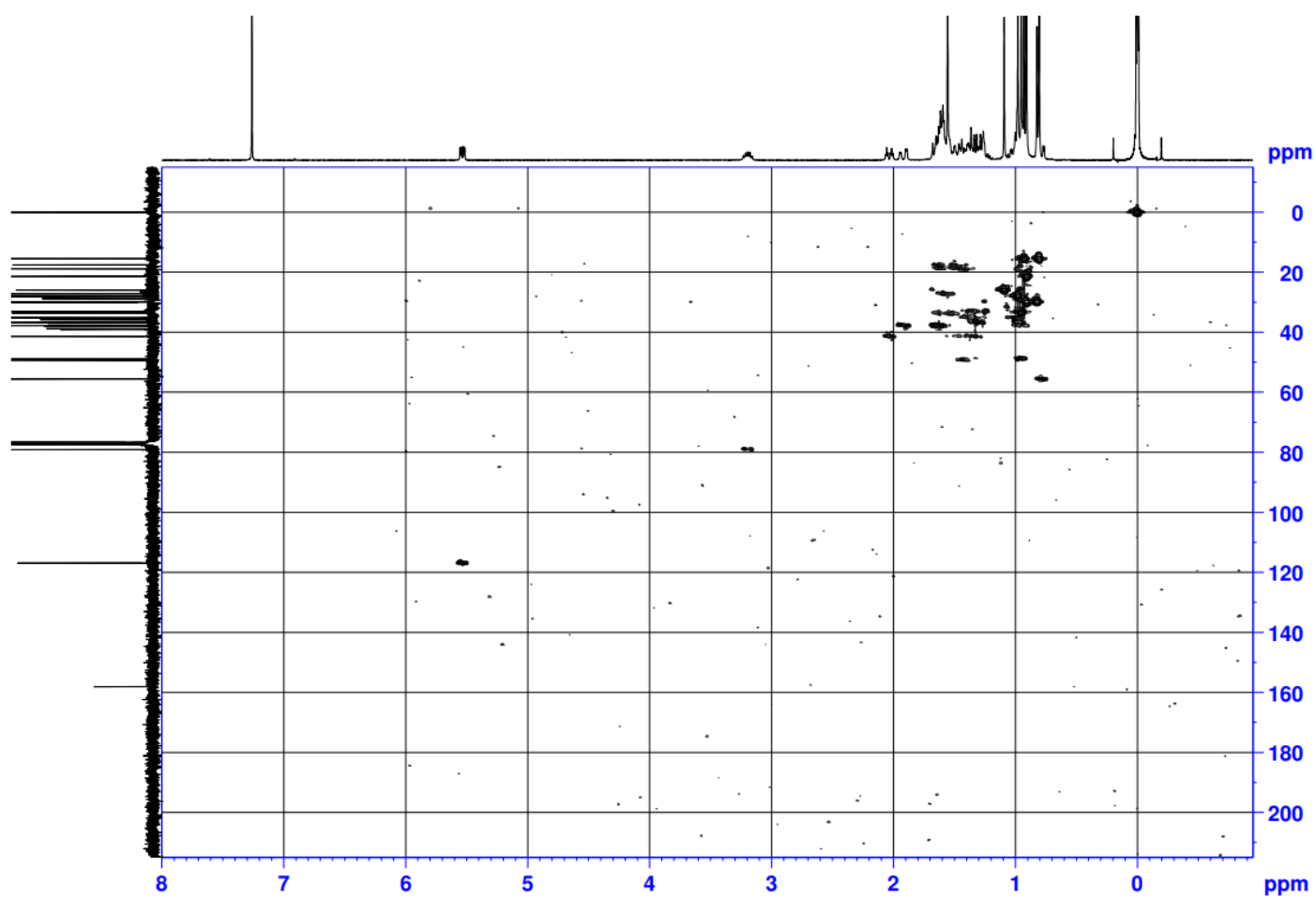


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ taraxerol (EL-8)

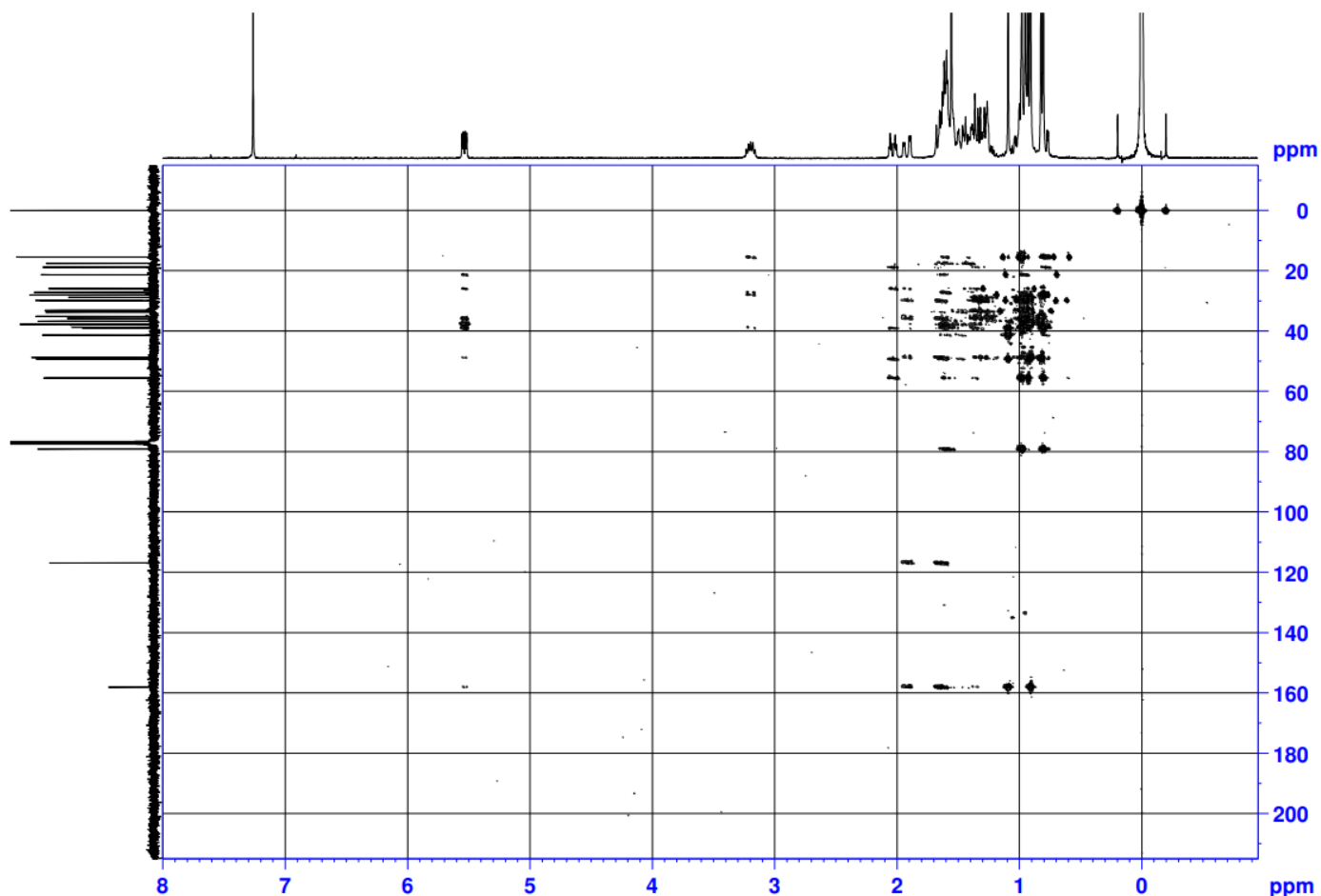


วิทยาลัยศิลป

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ taraxerol (EL-8)

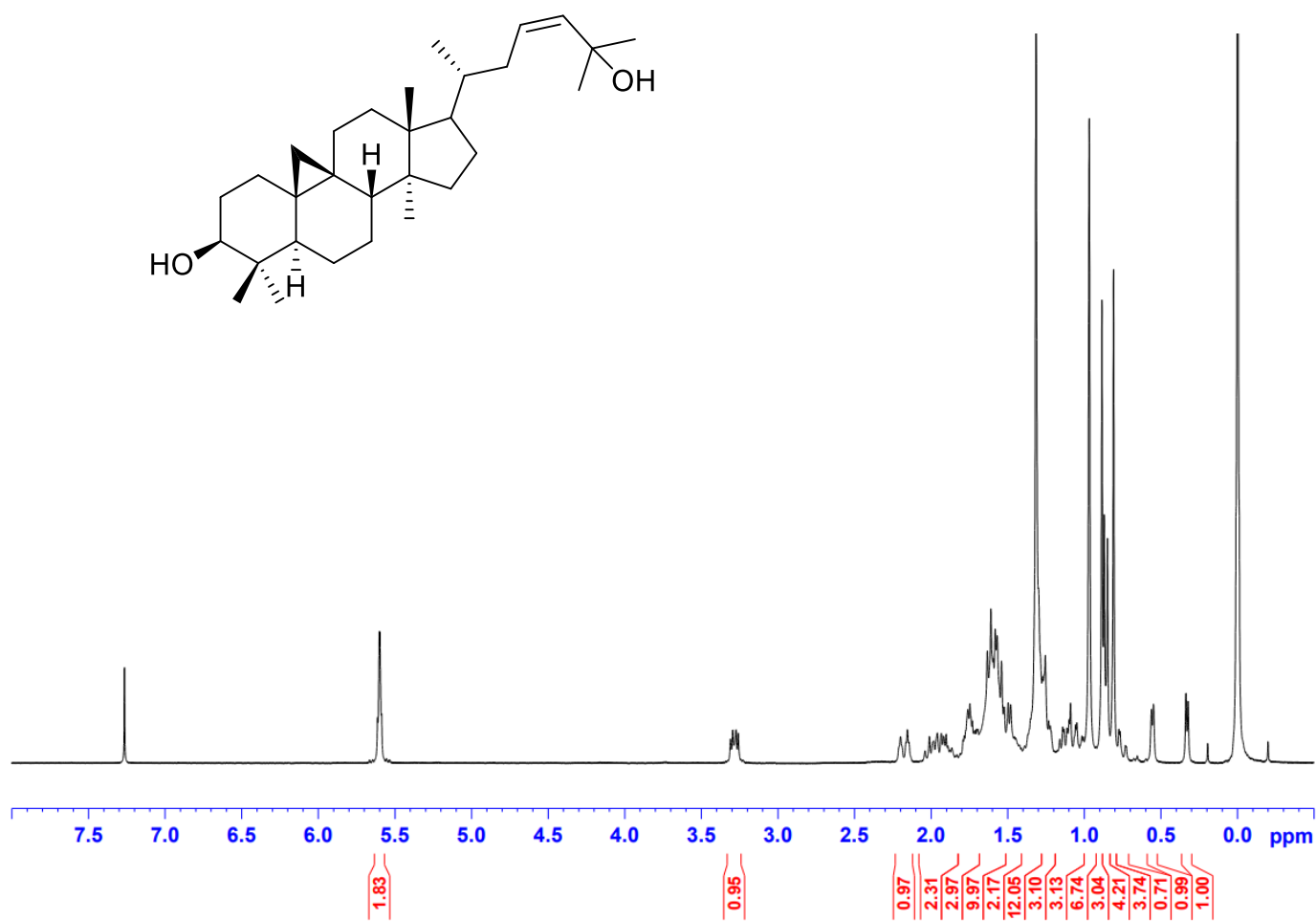


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ taraxerol (EL-8)



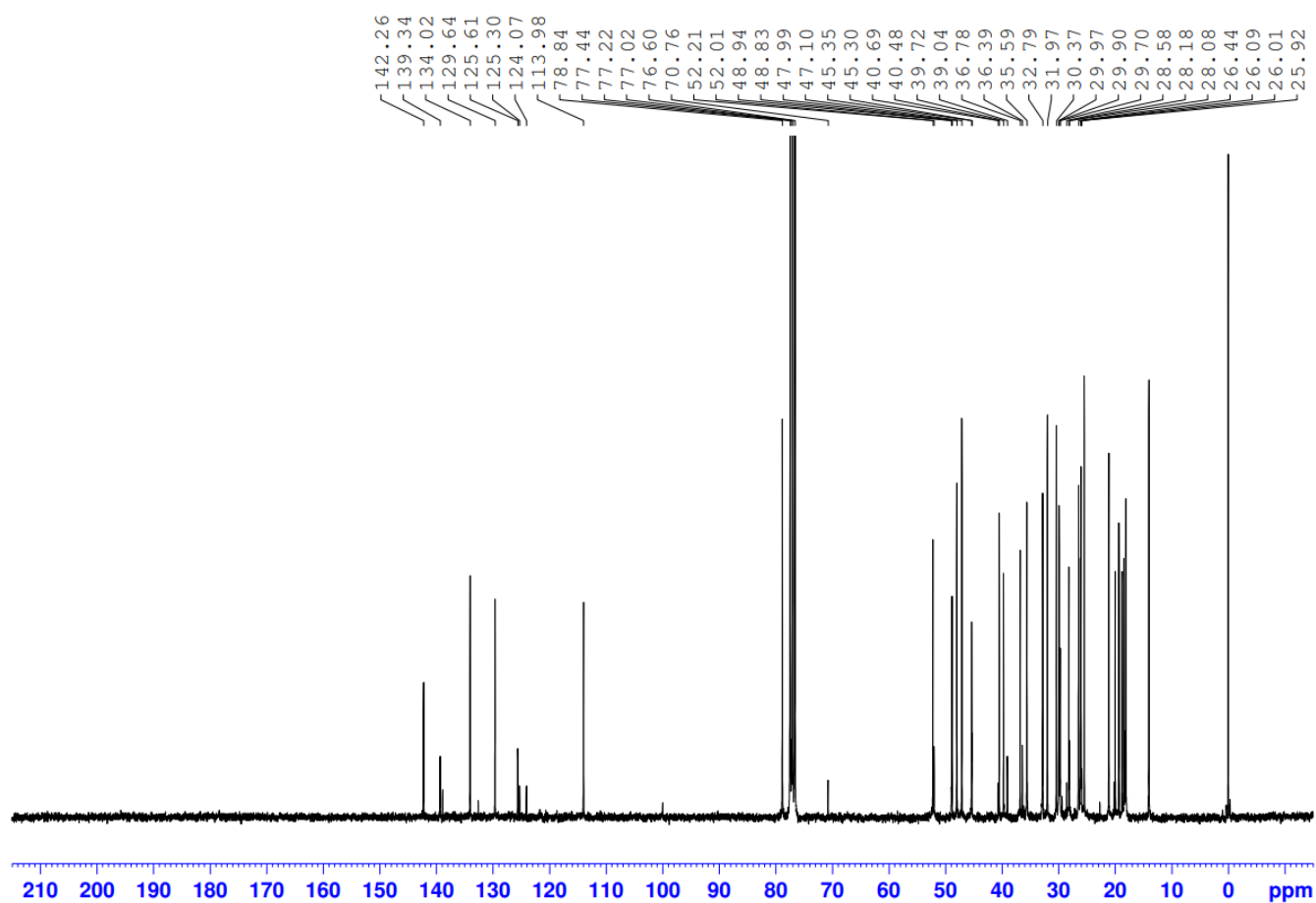
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)

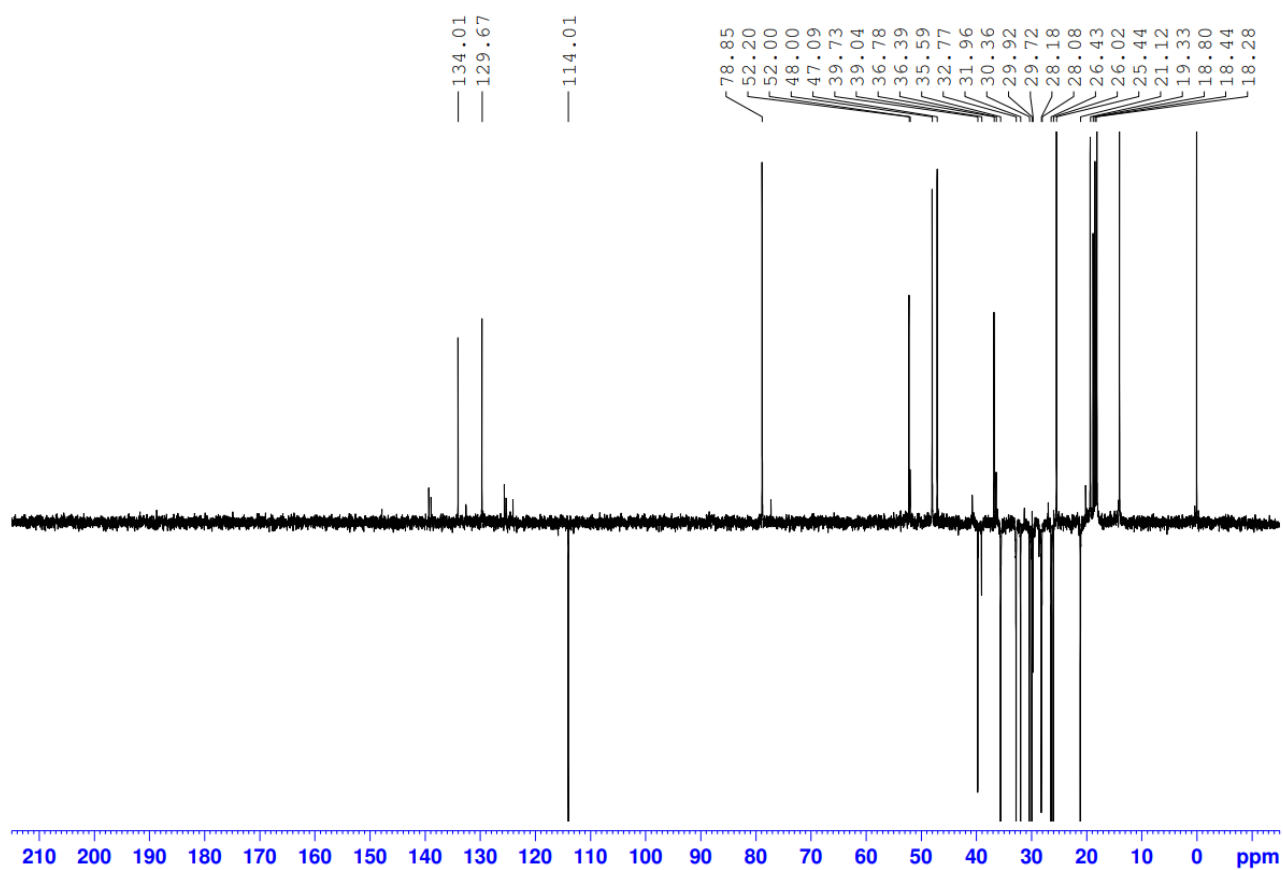


มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)

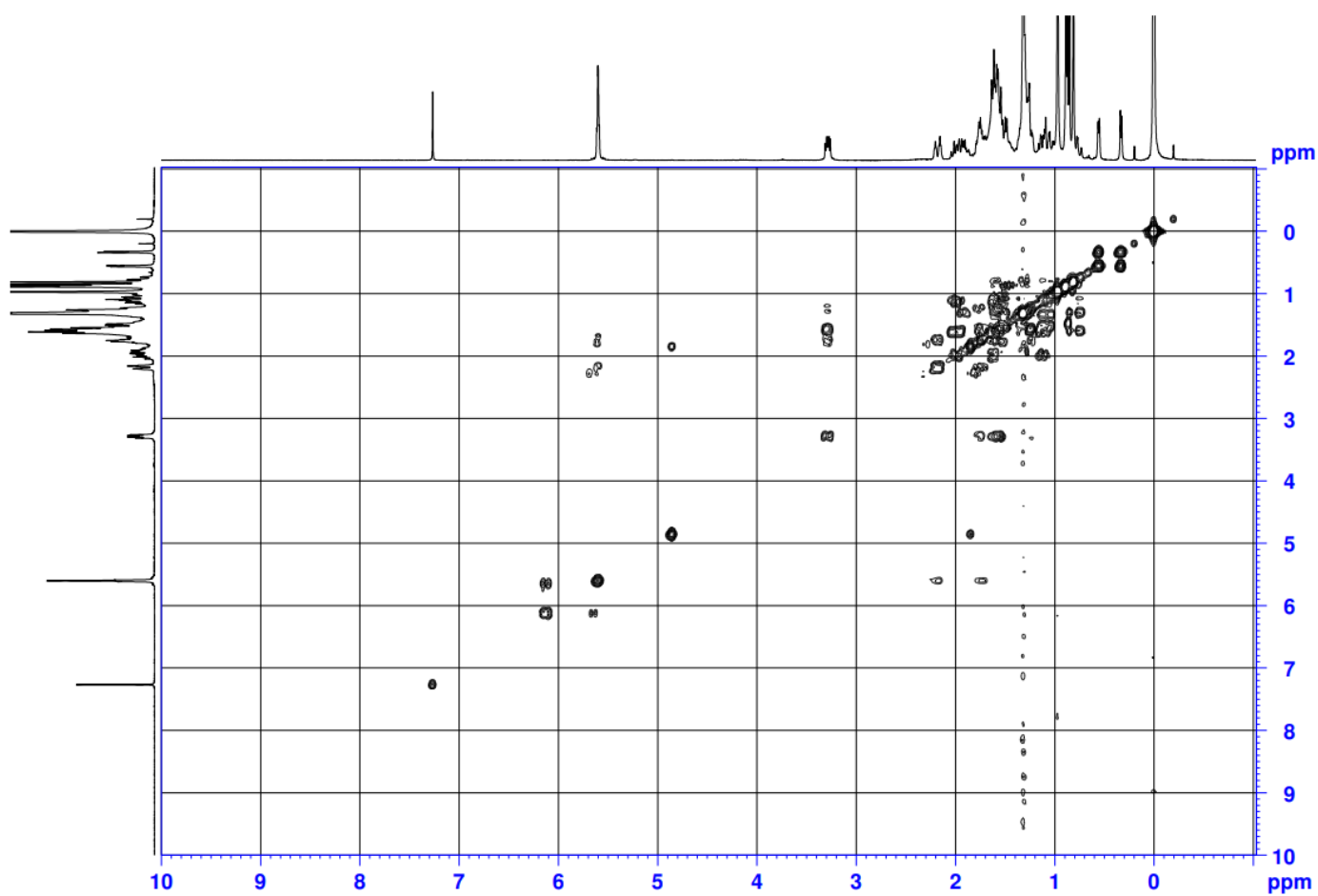


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)

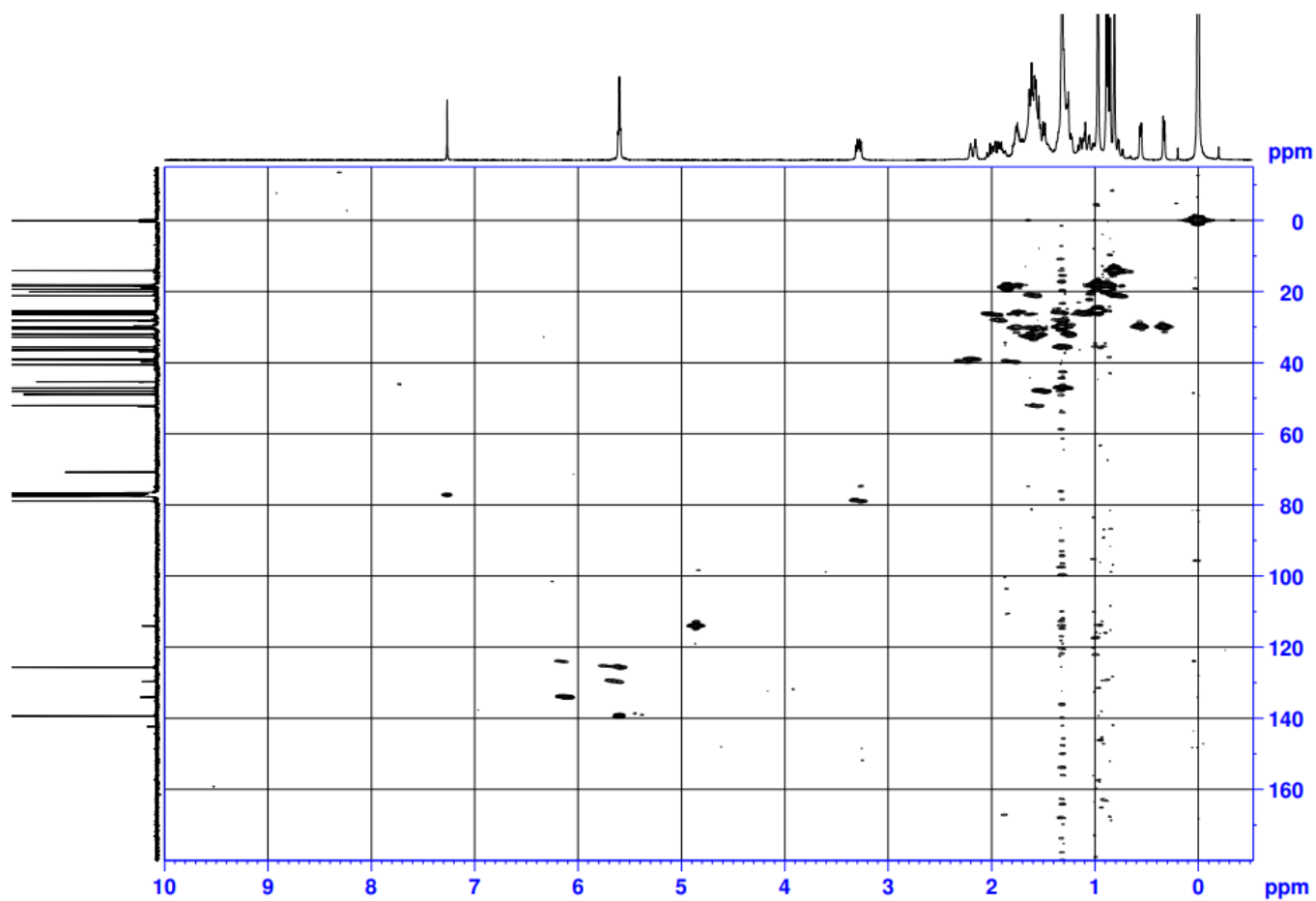




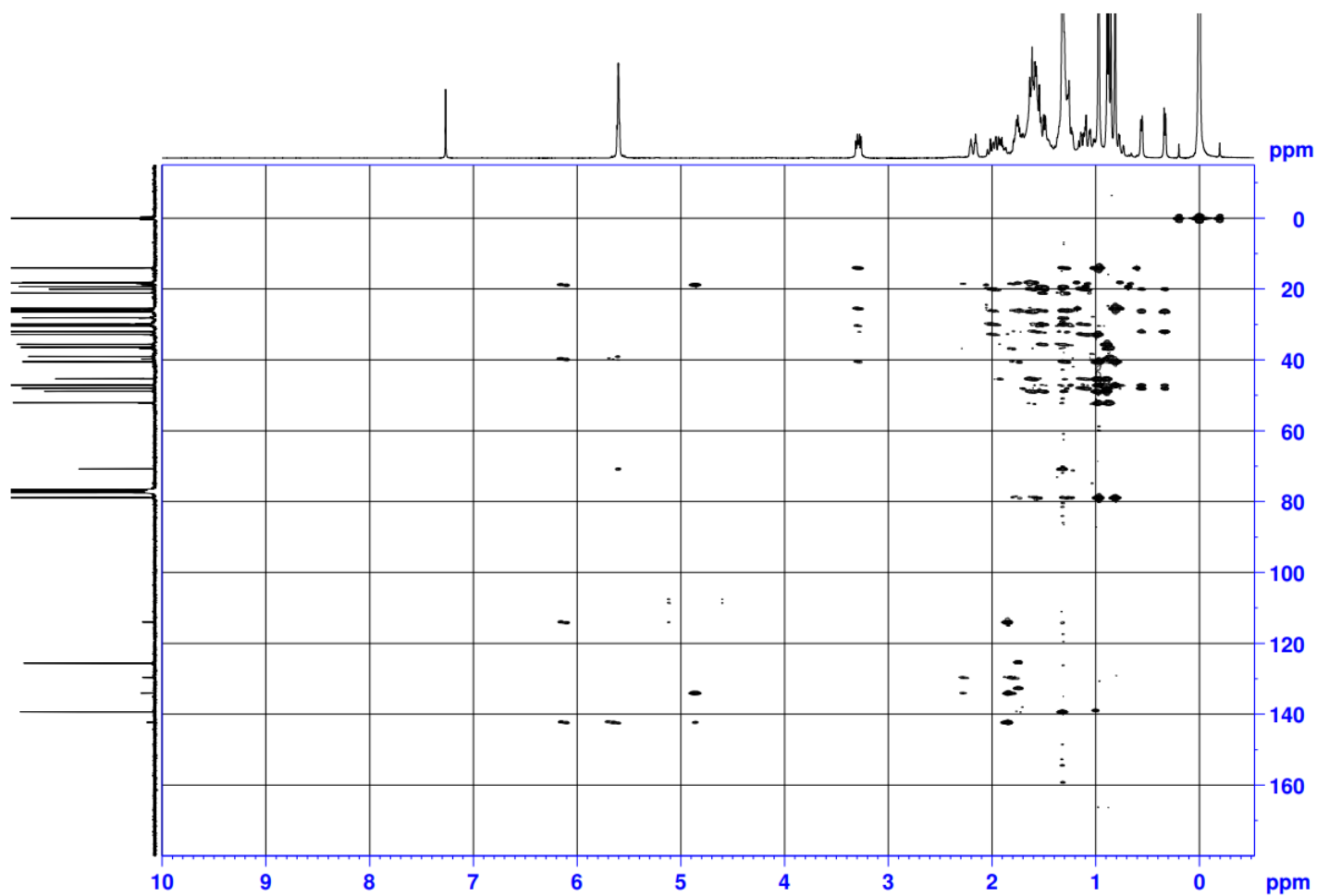
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)



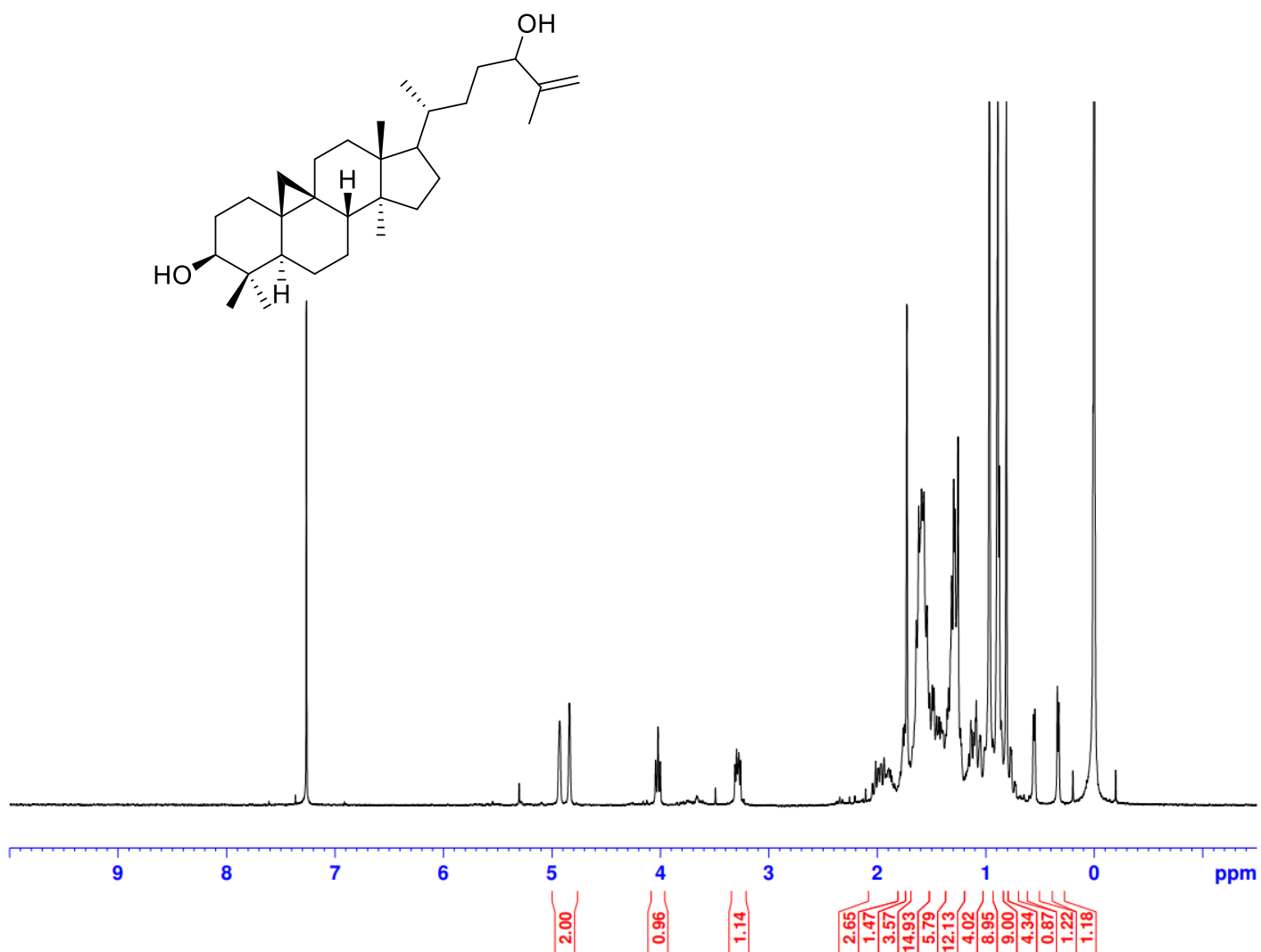
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)



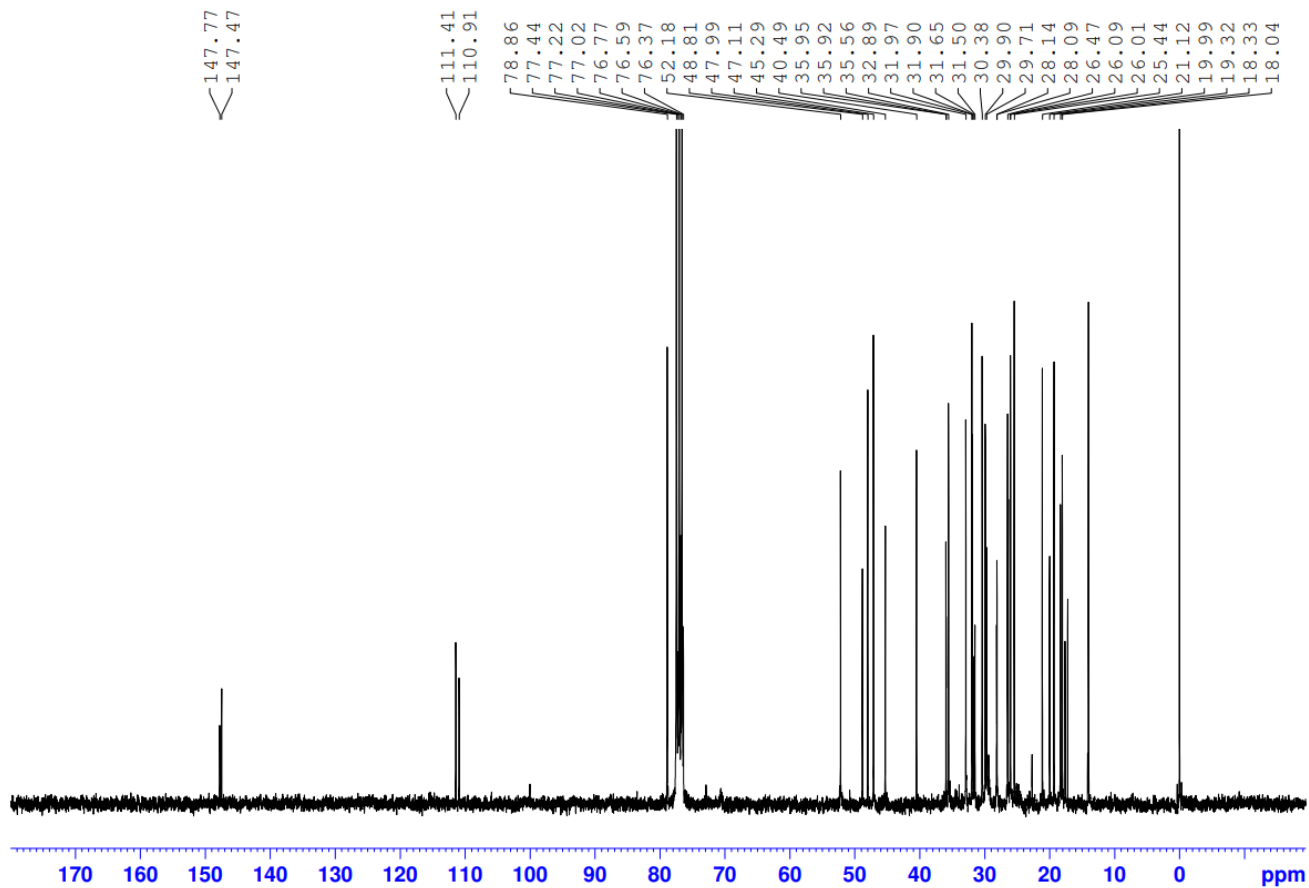
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol (EL-9)



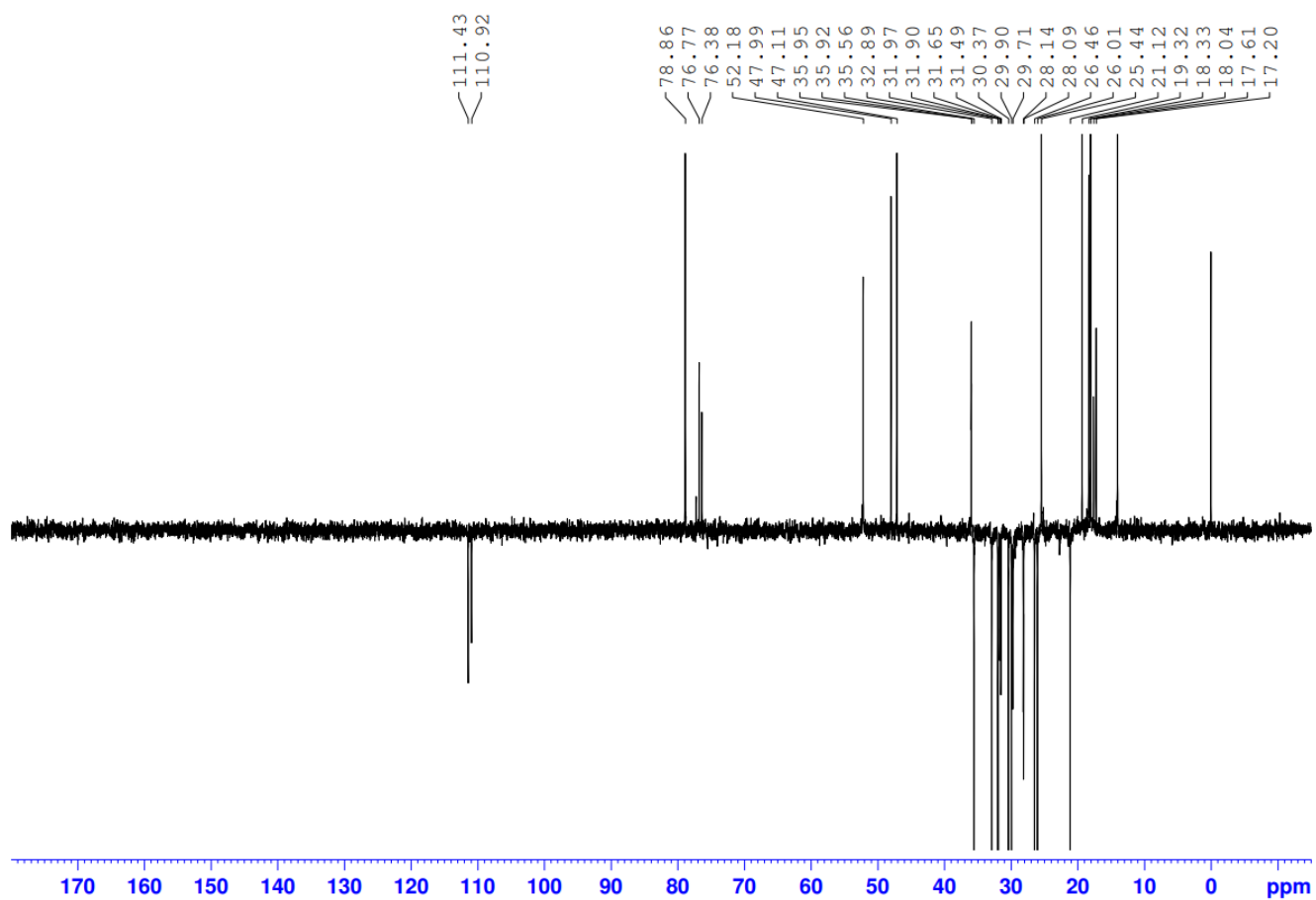
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11)



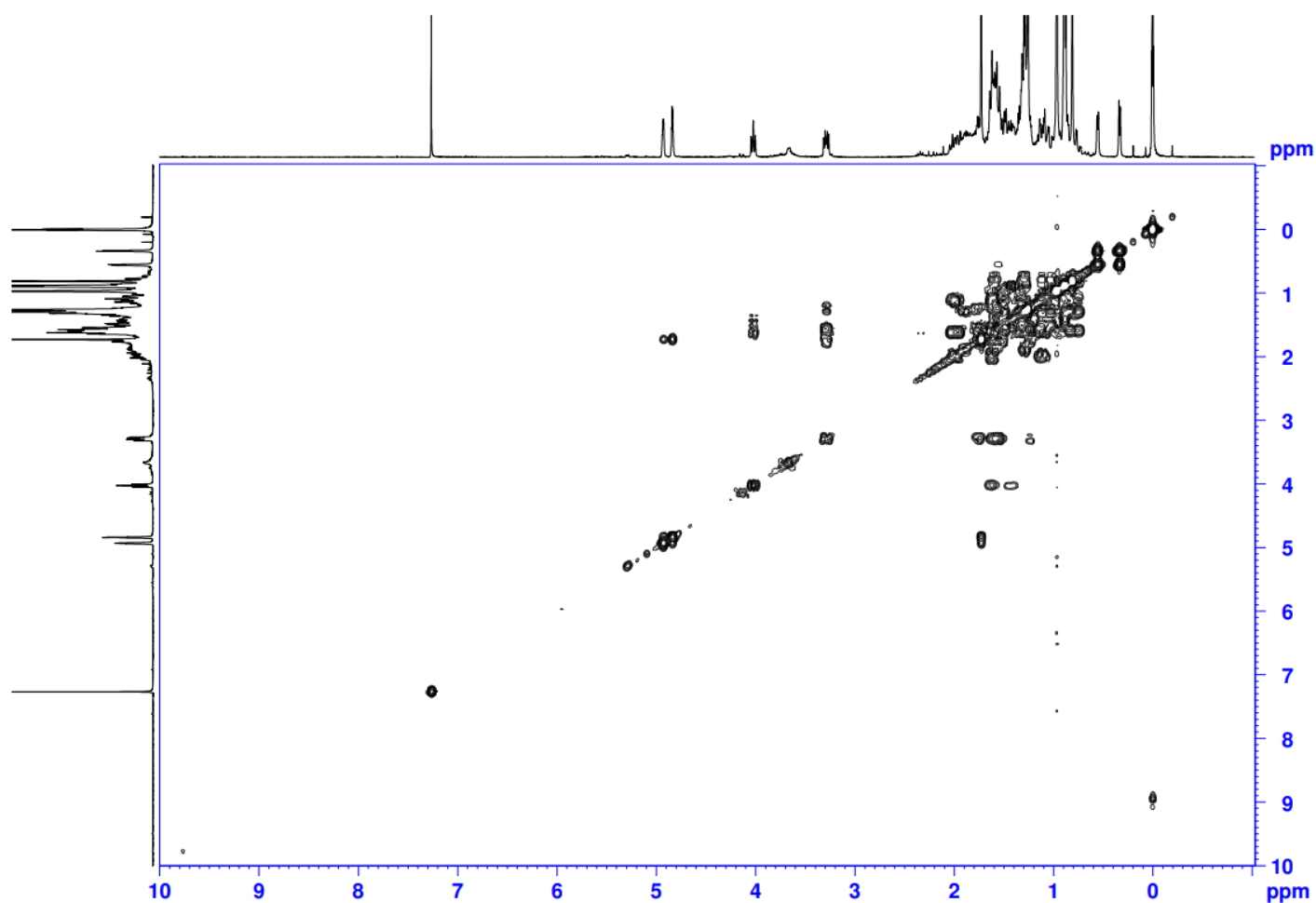
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11)



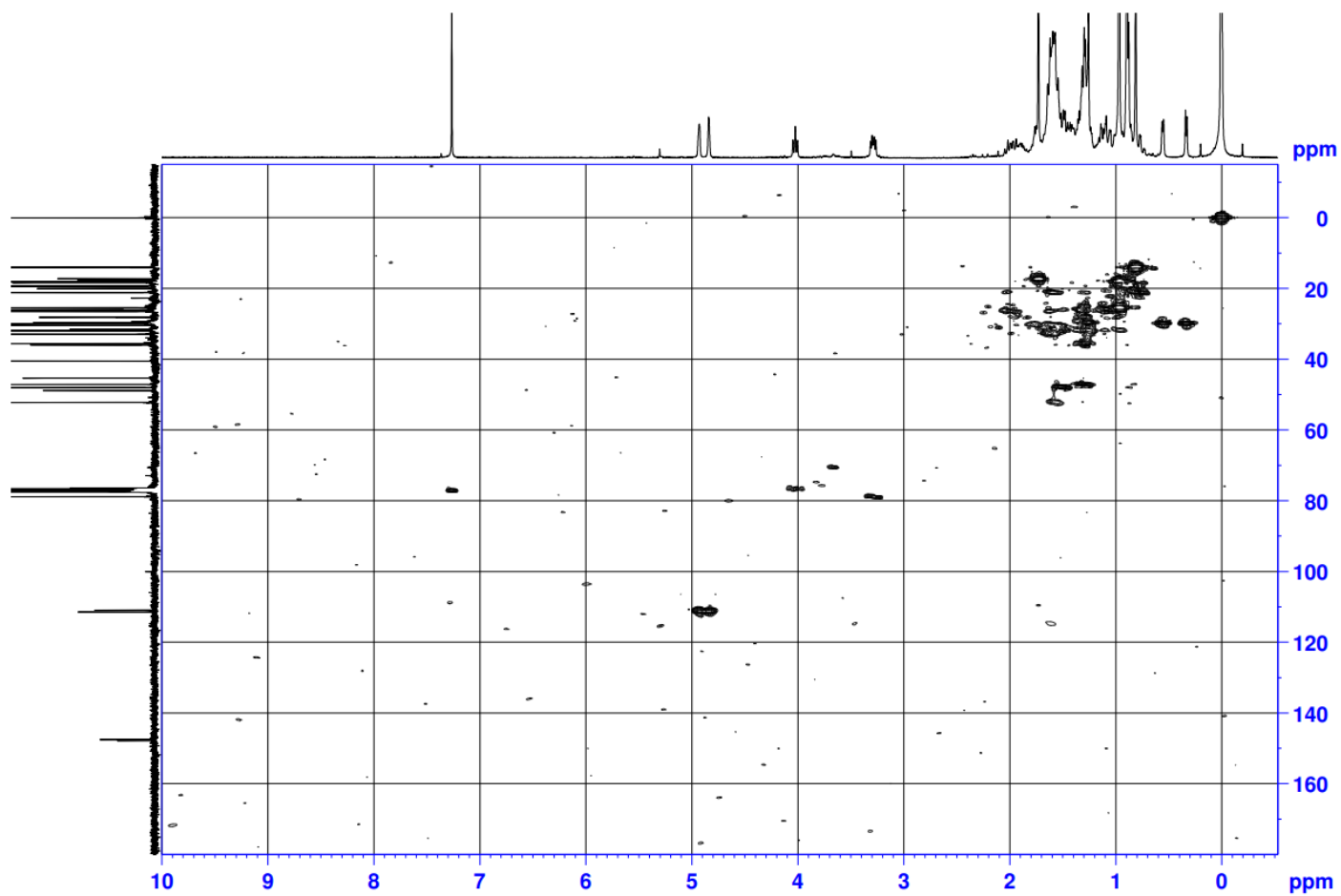
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11



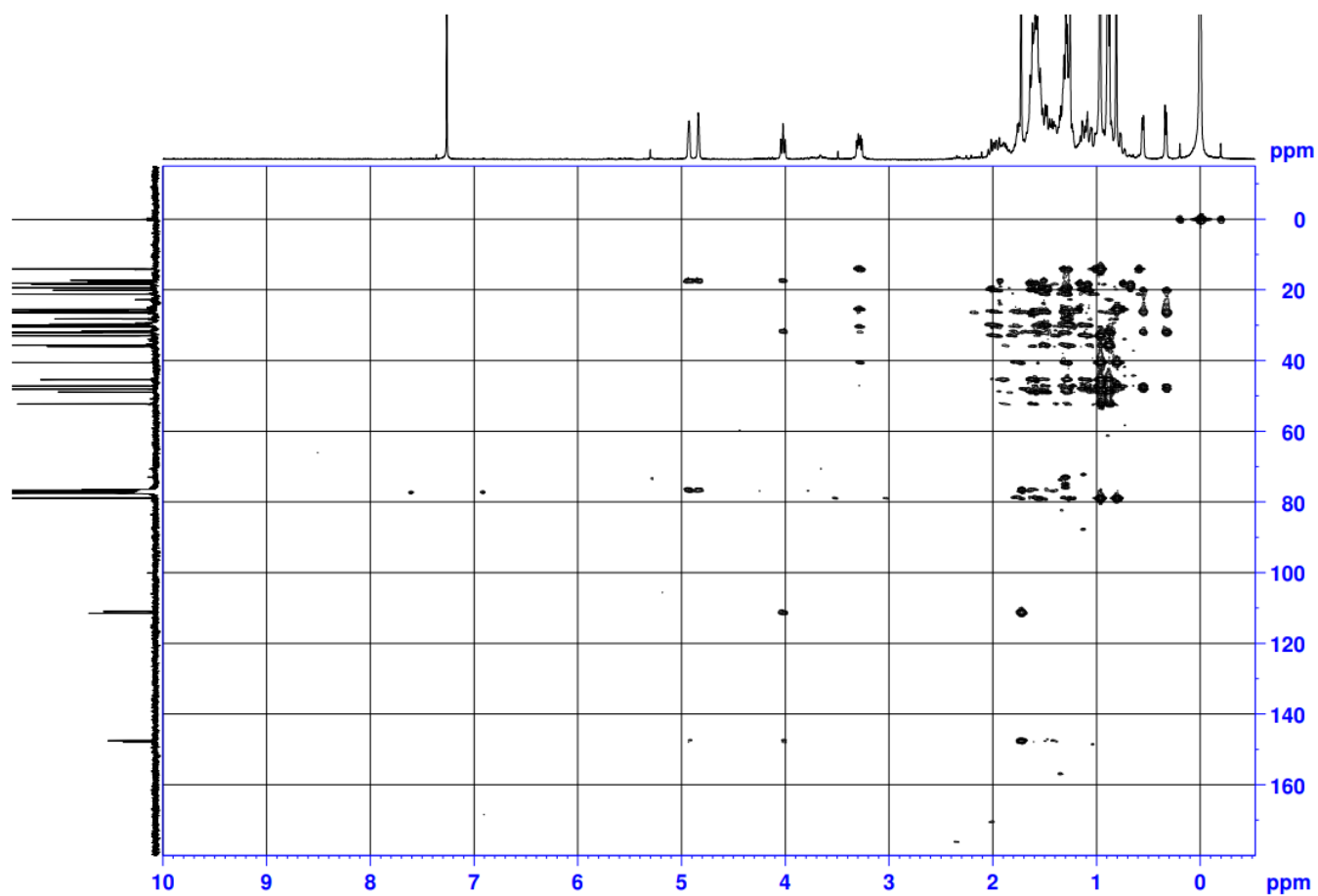
ภาคผนวก ข แสดง HMQC NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11)



มหาวิทยาลัยศิลปากร

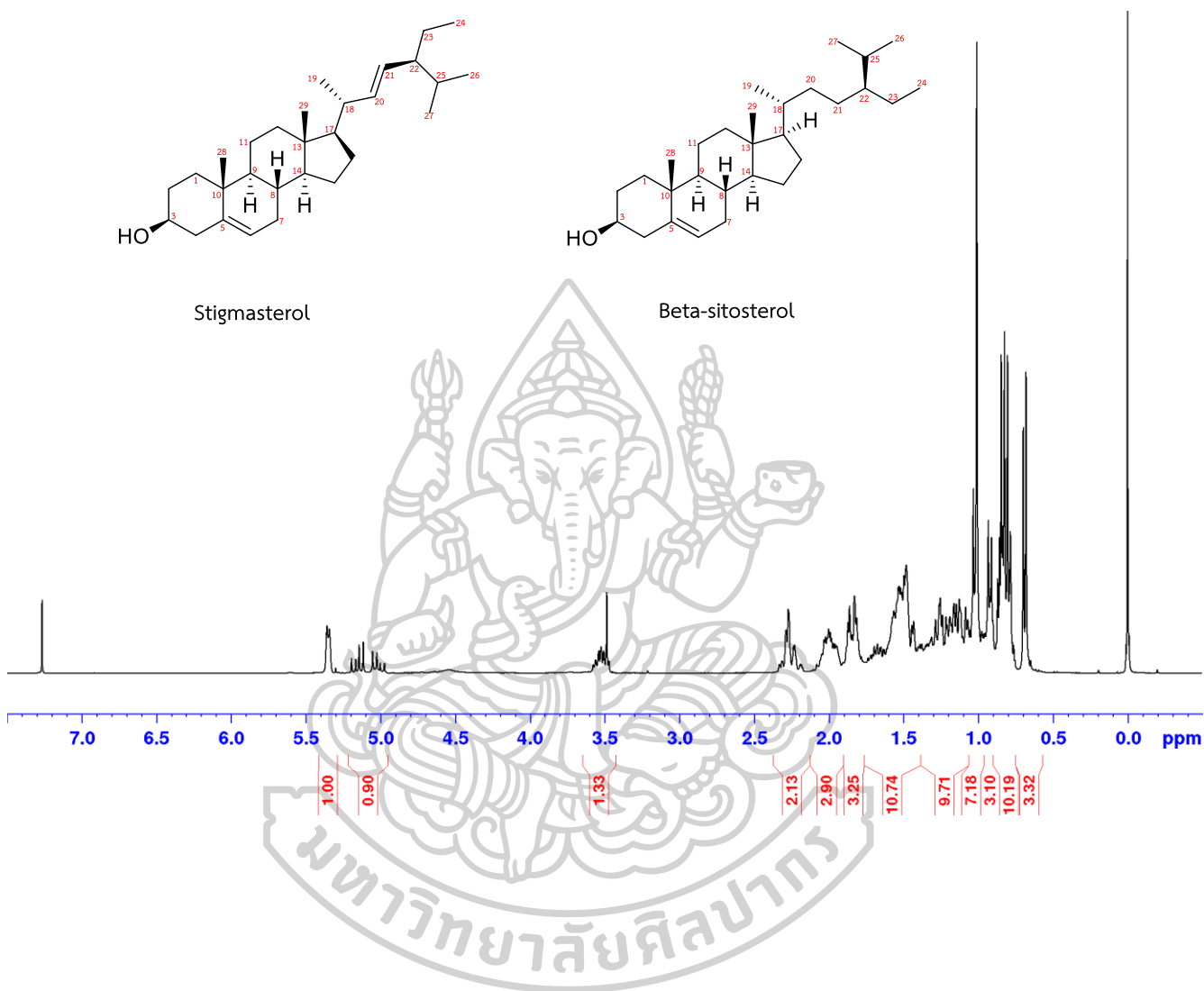


ภาคผนวก ข แสดง HMBC NMR ของ 24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol (EL-10 และ EL-11)

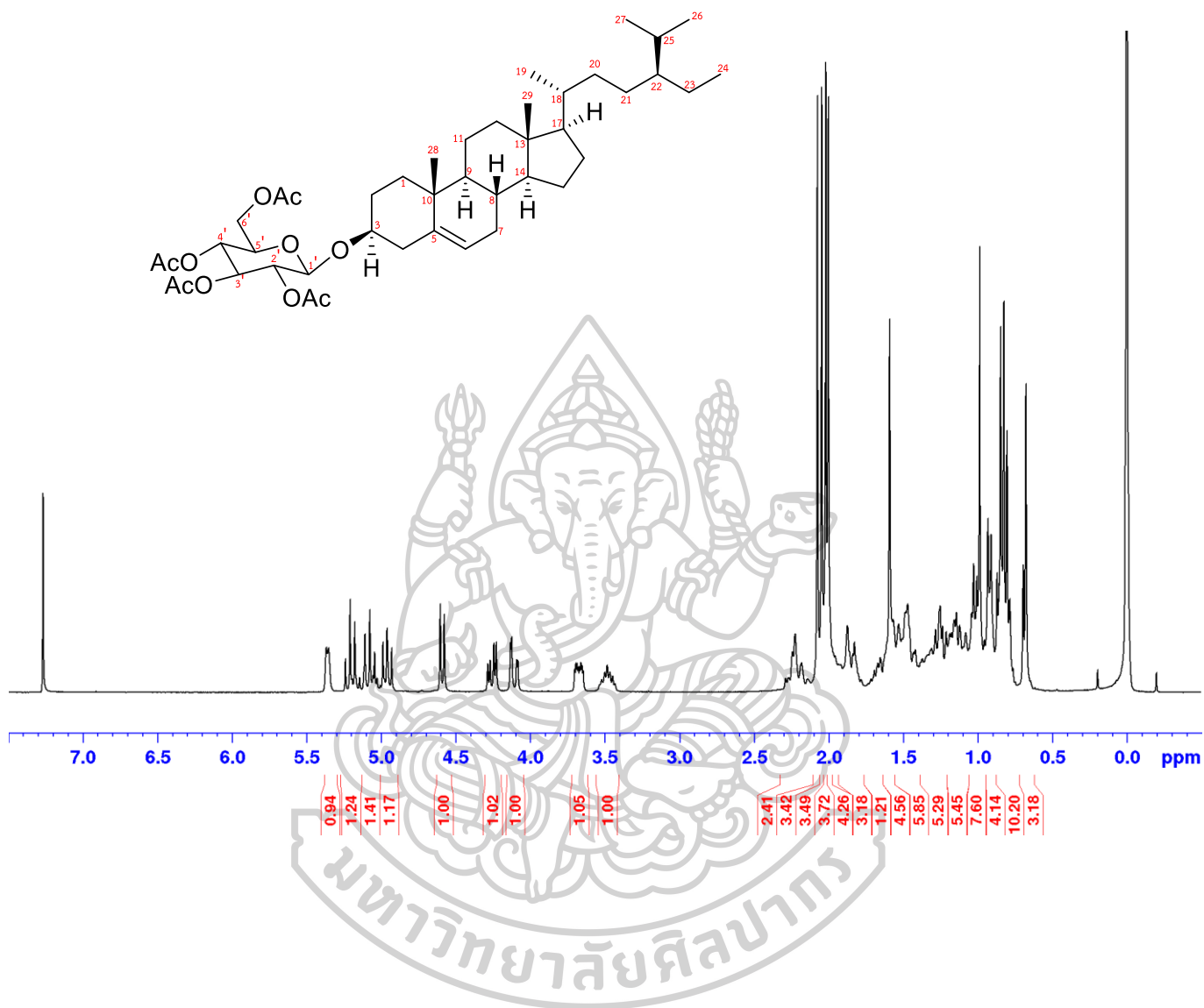


มหาวิทยาลัยศิลปากร

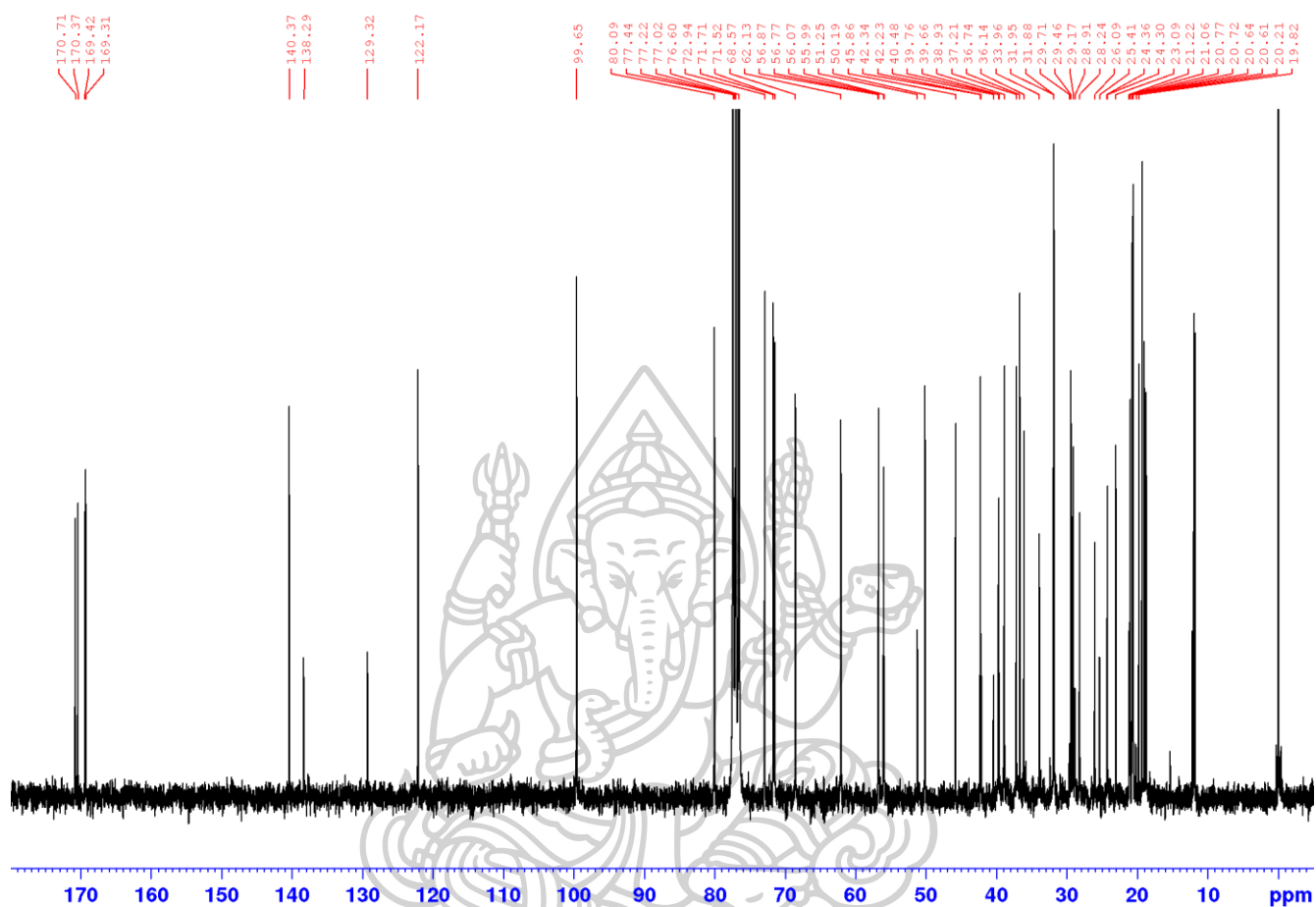
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของสารผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol (EL-12 และ EL-13)



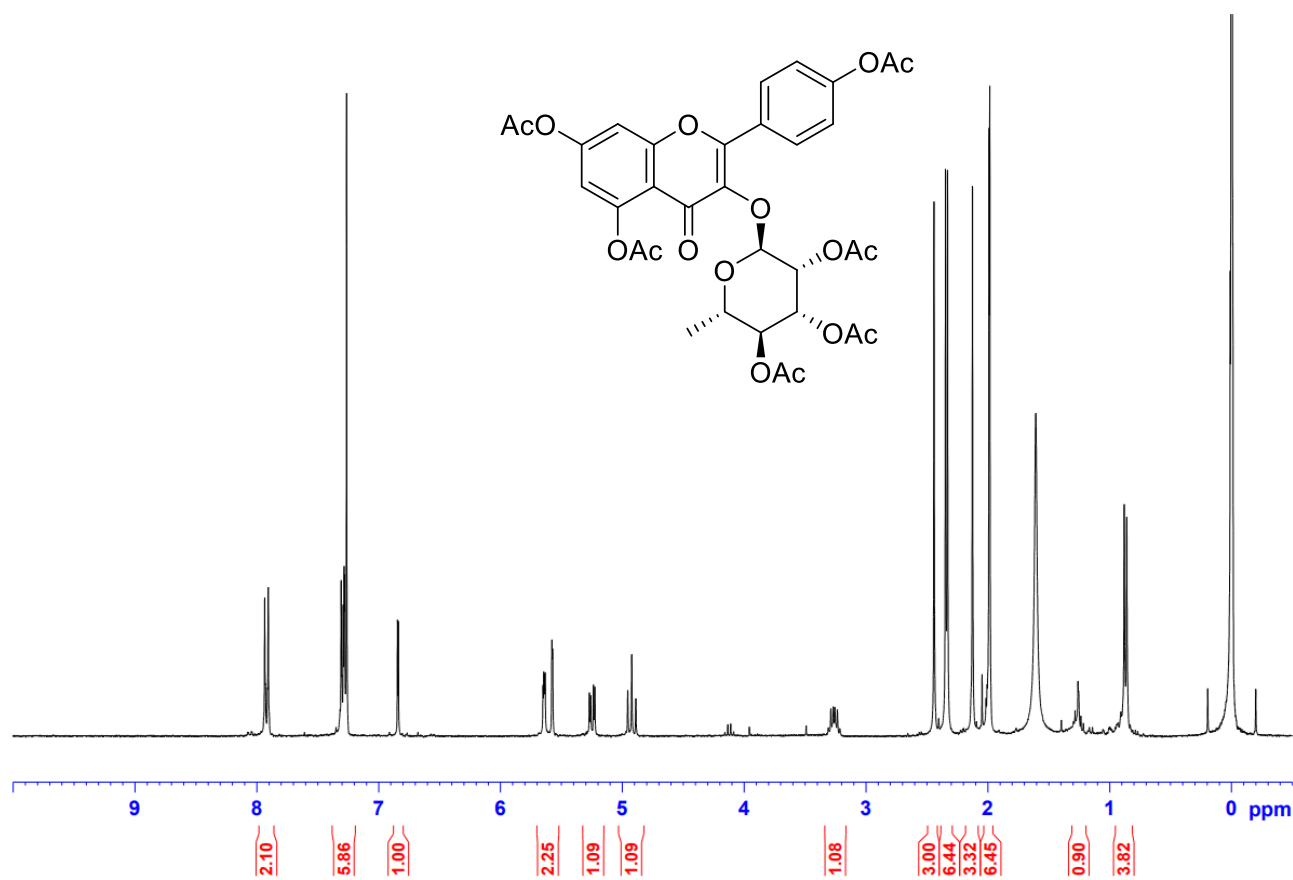
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ  $\beta$ -sitosterol glucoside acetate (EL-14Ac)



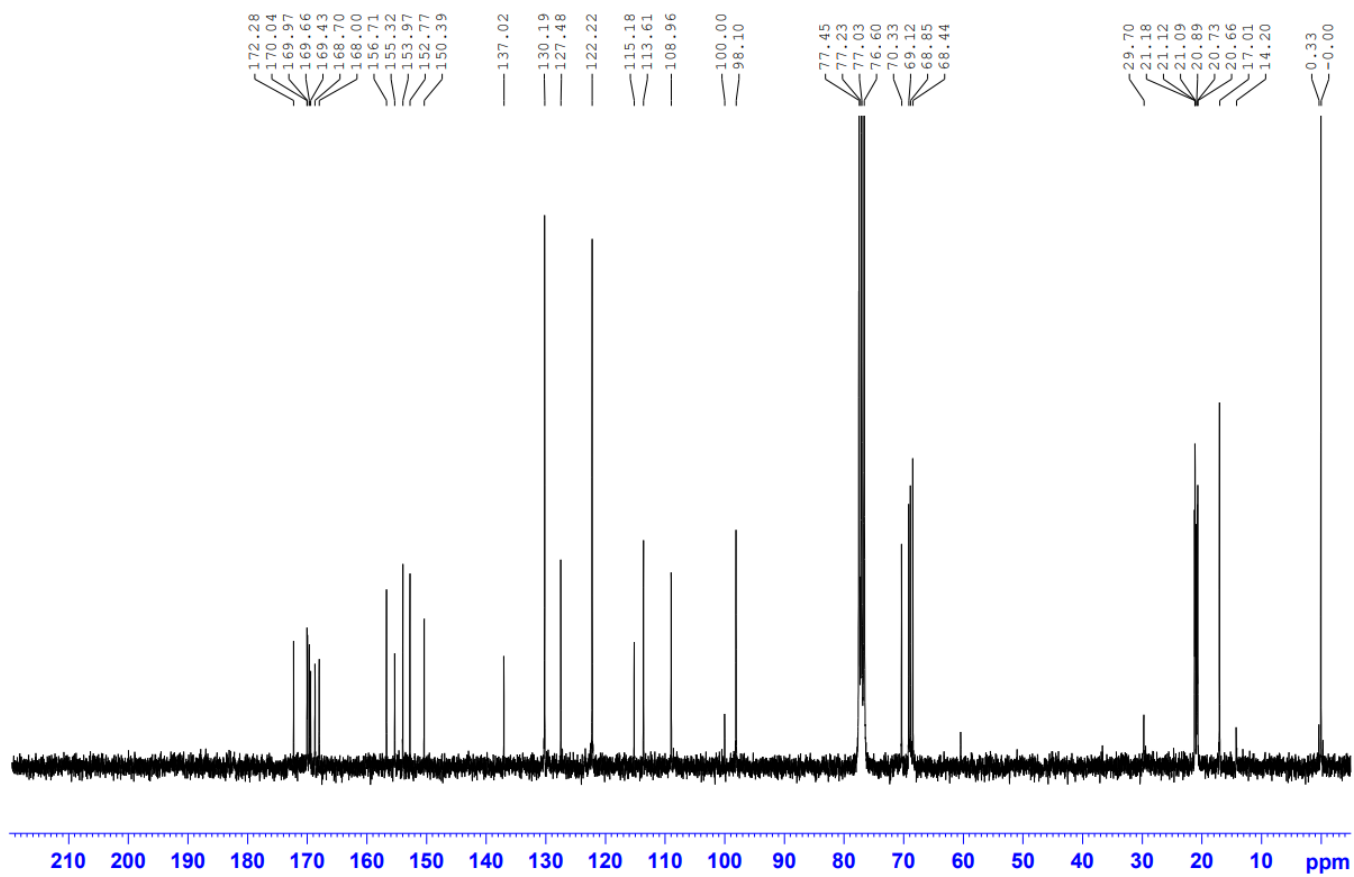
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR NMR ของ  $\beta$ -sitosterol glucoside acetate (EL-14Ac)



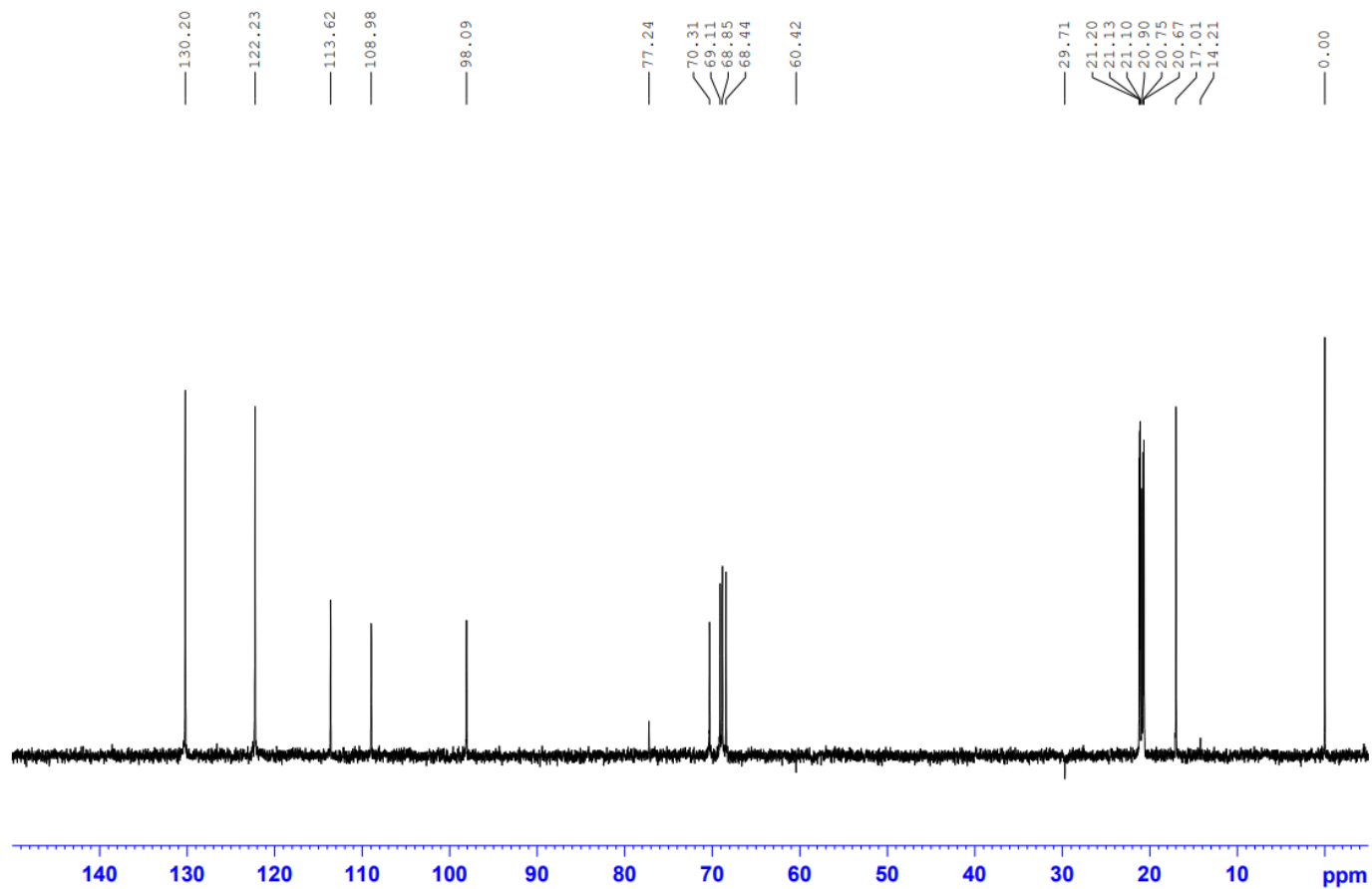
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)



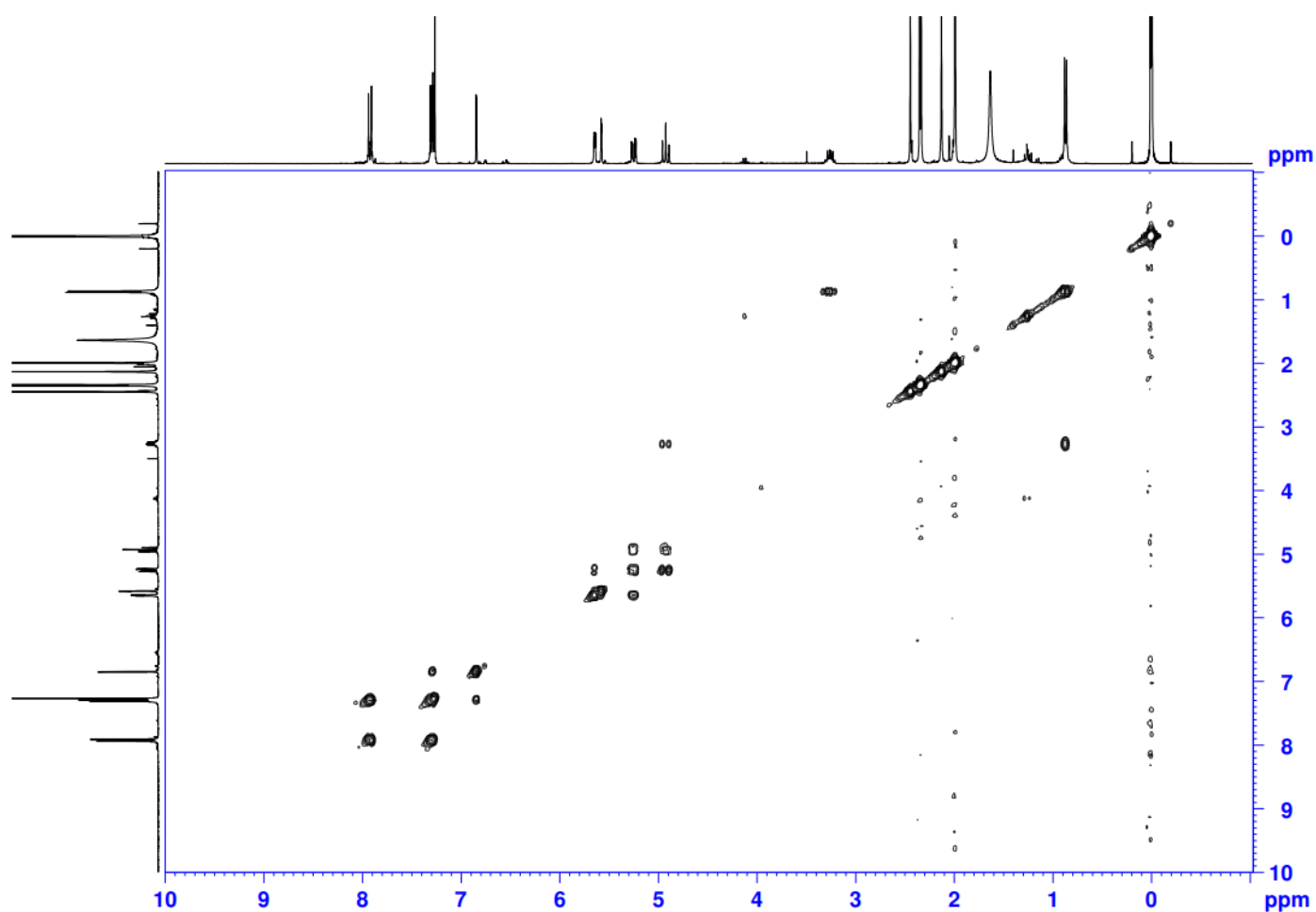
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)

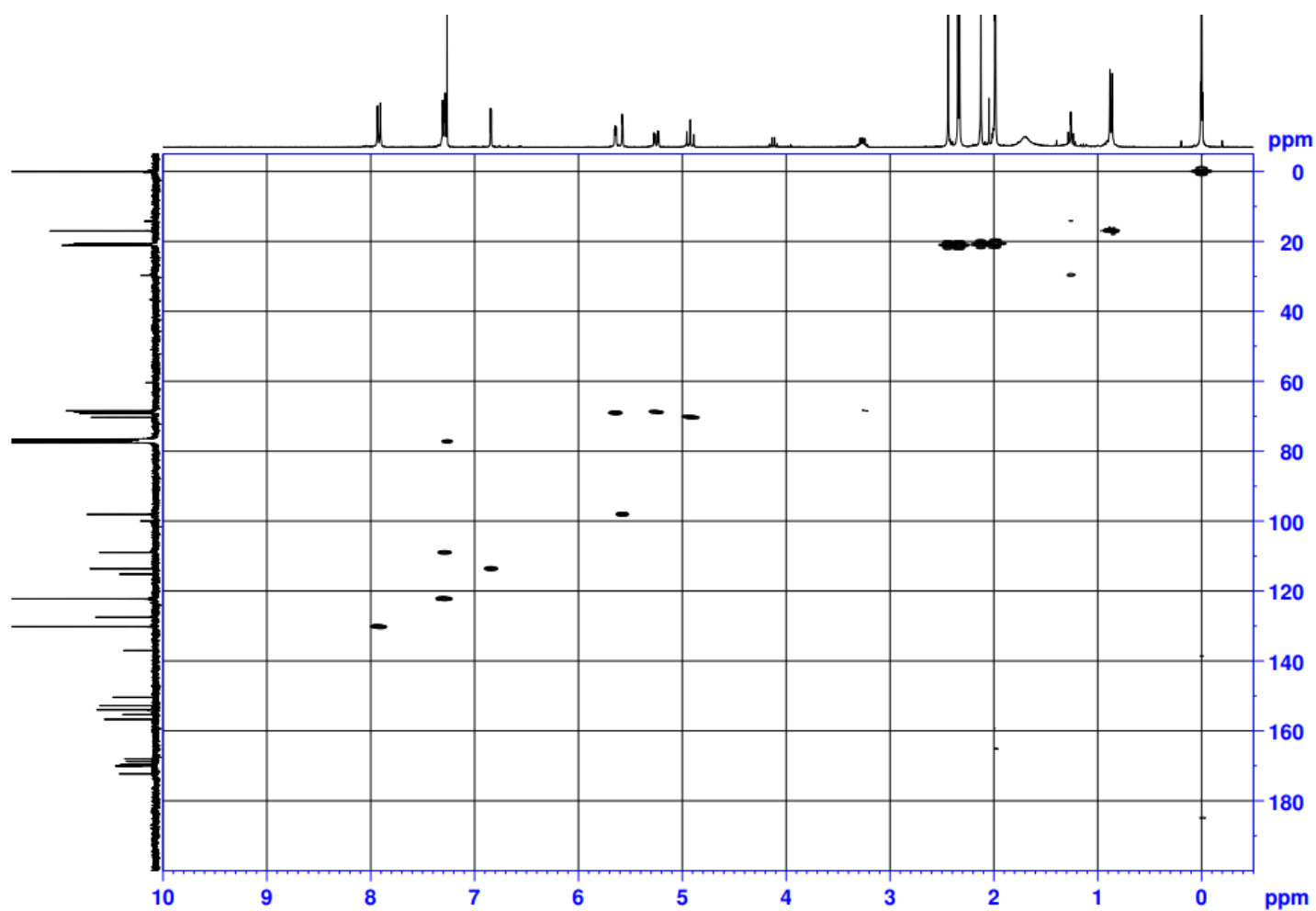


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)



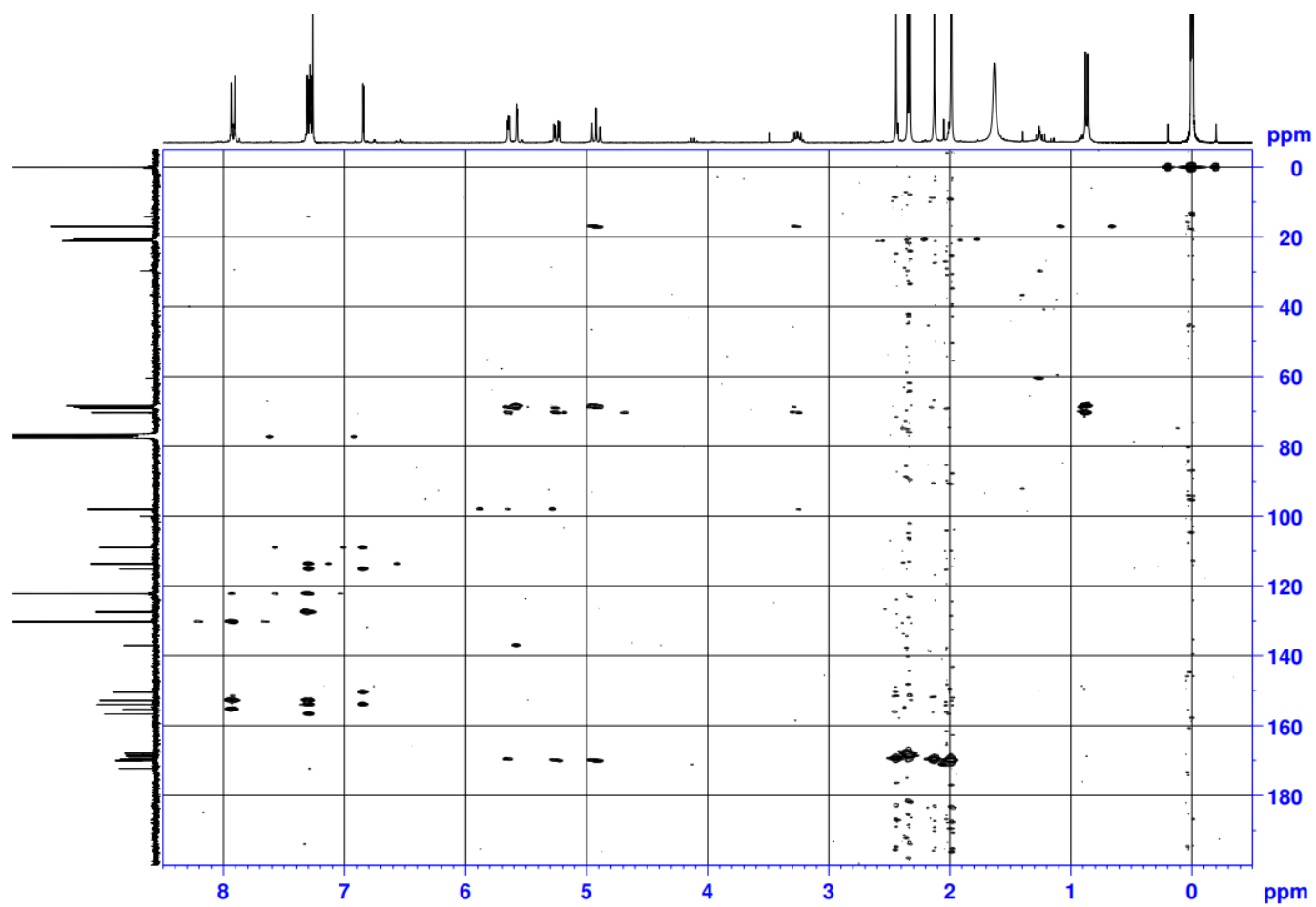


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)



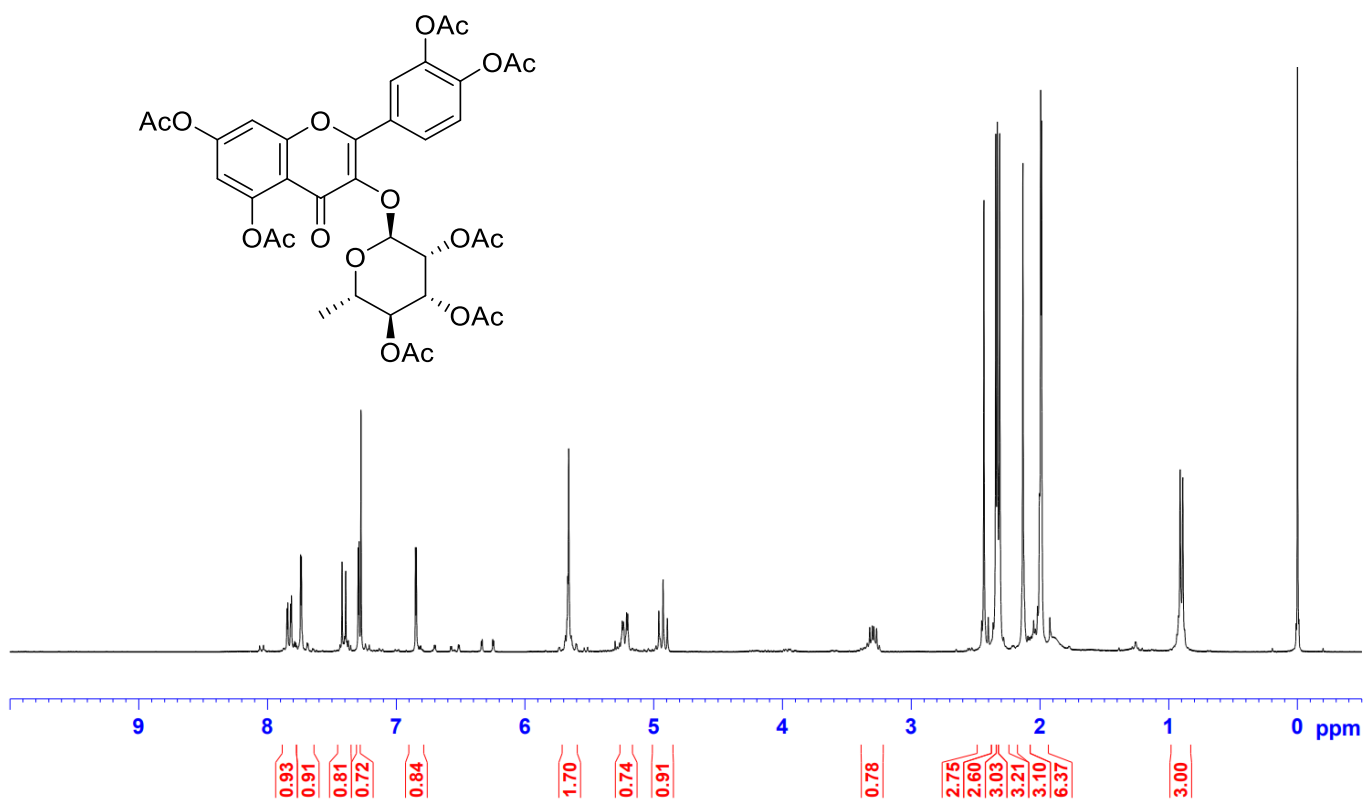
มหาวิทยาลัยศิลปากร

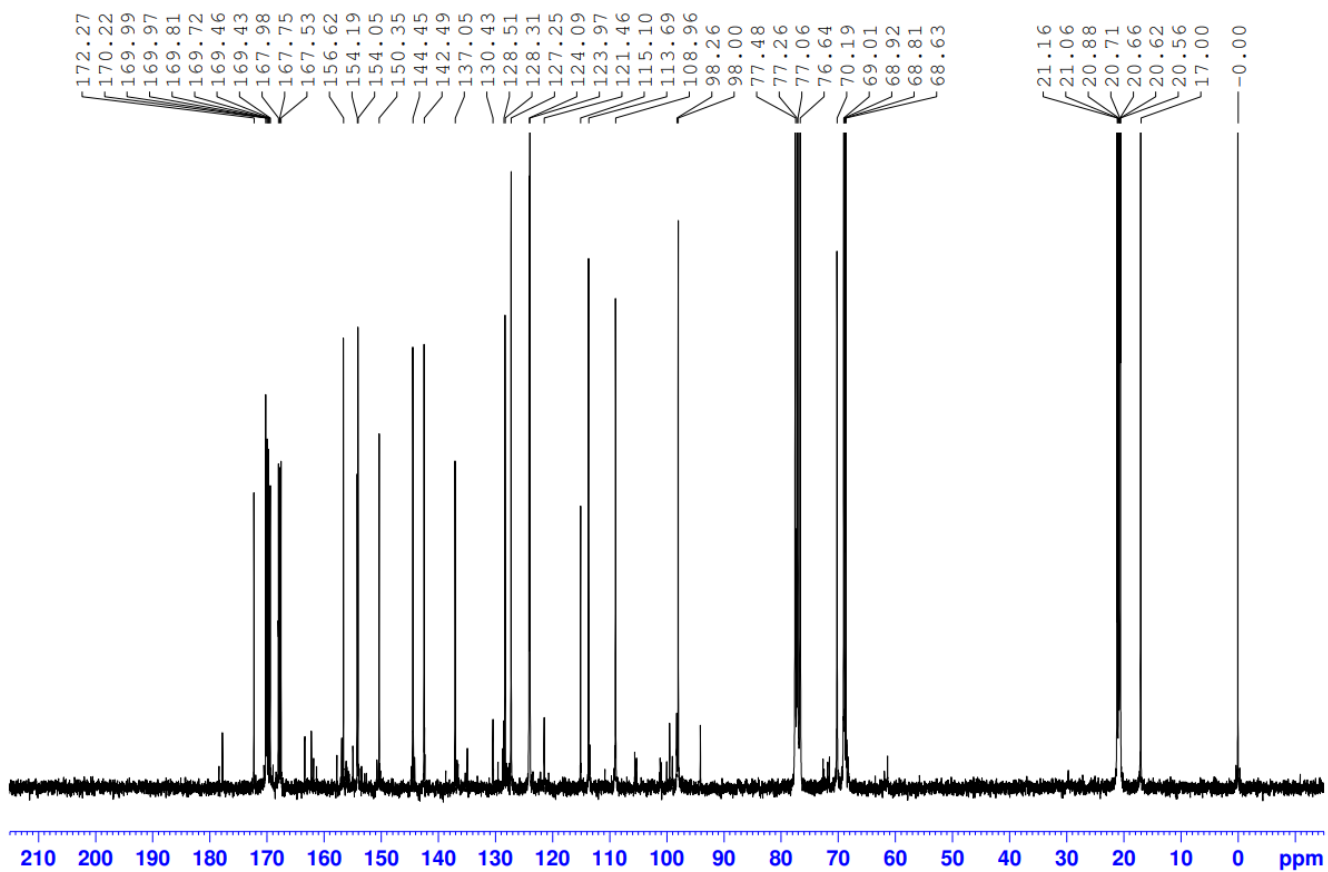
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ Afzelin acetate (EL-15Ac)



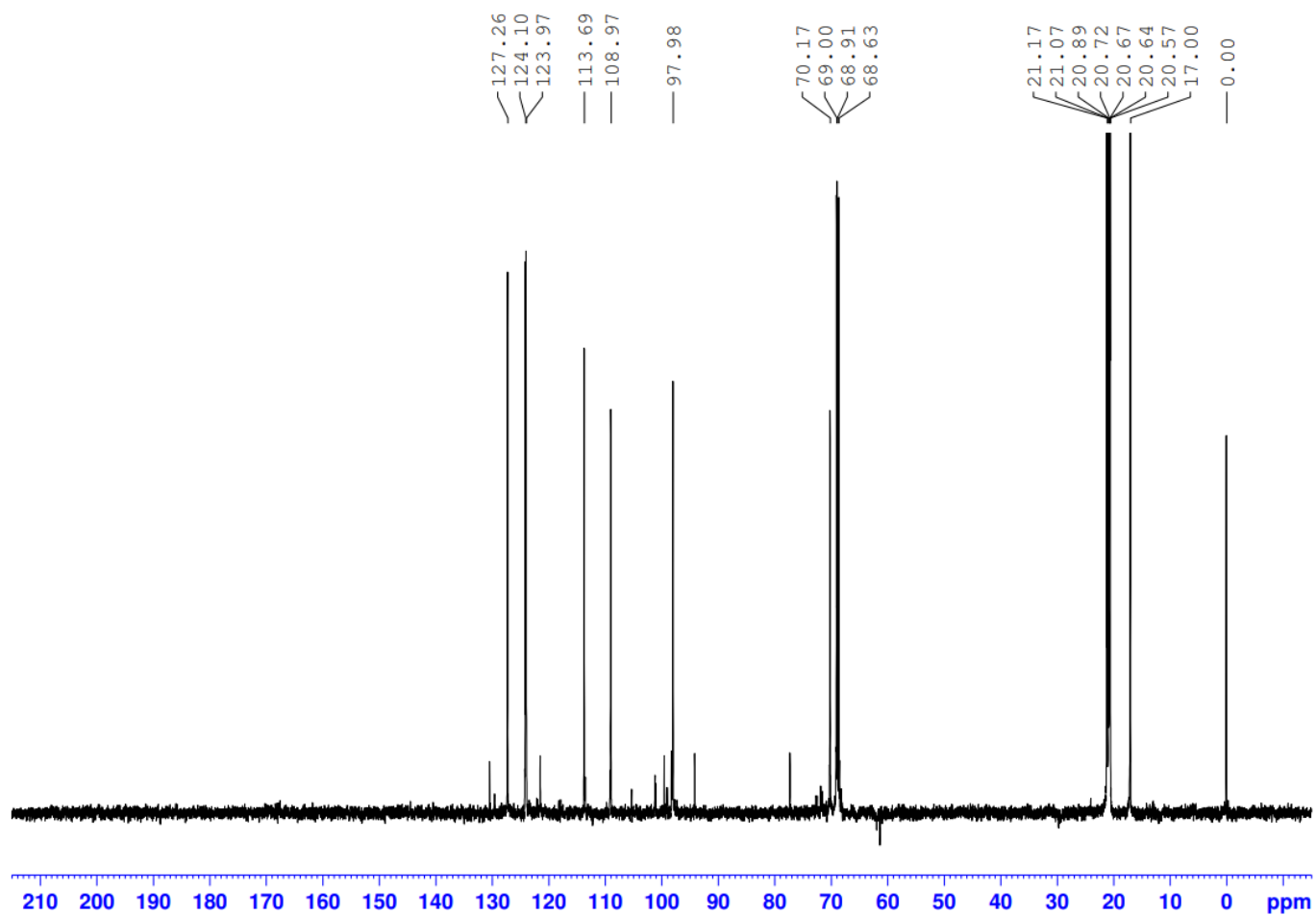
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)



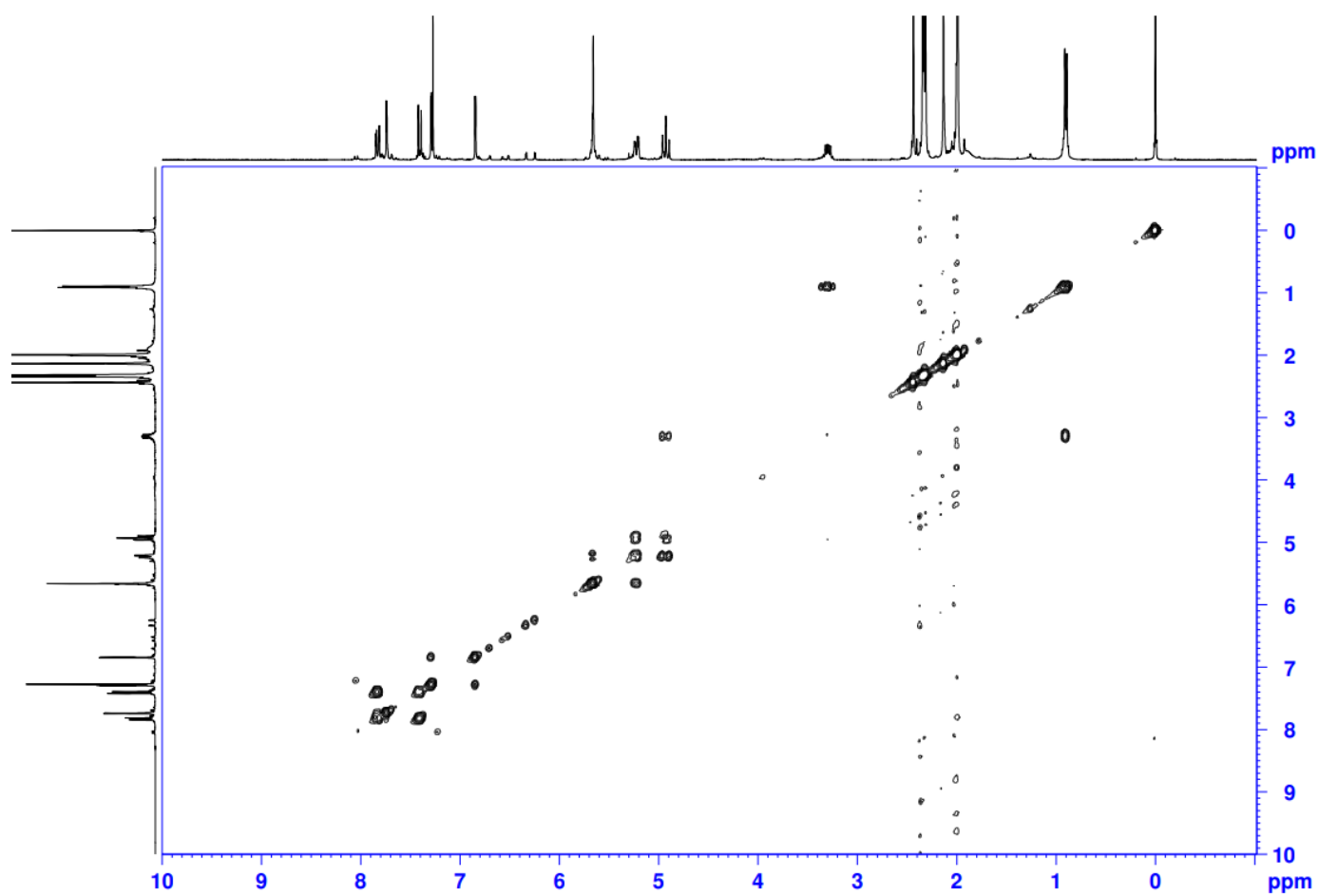
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)

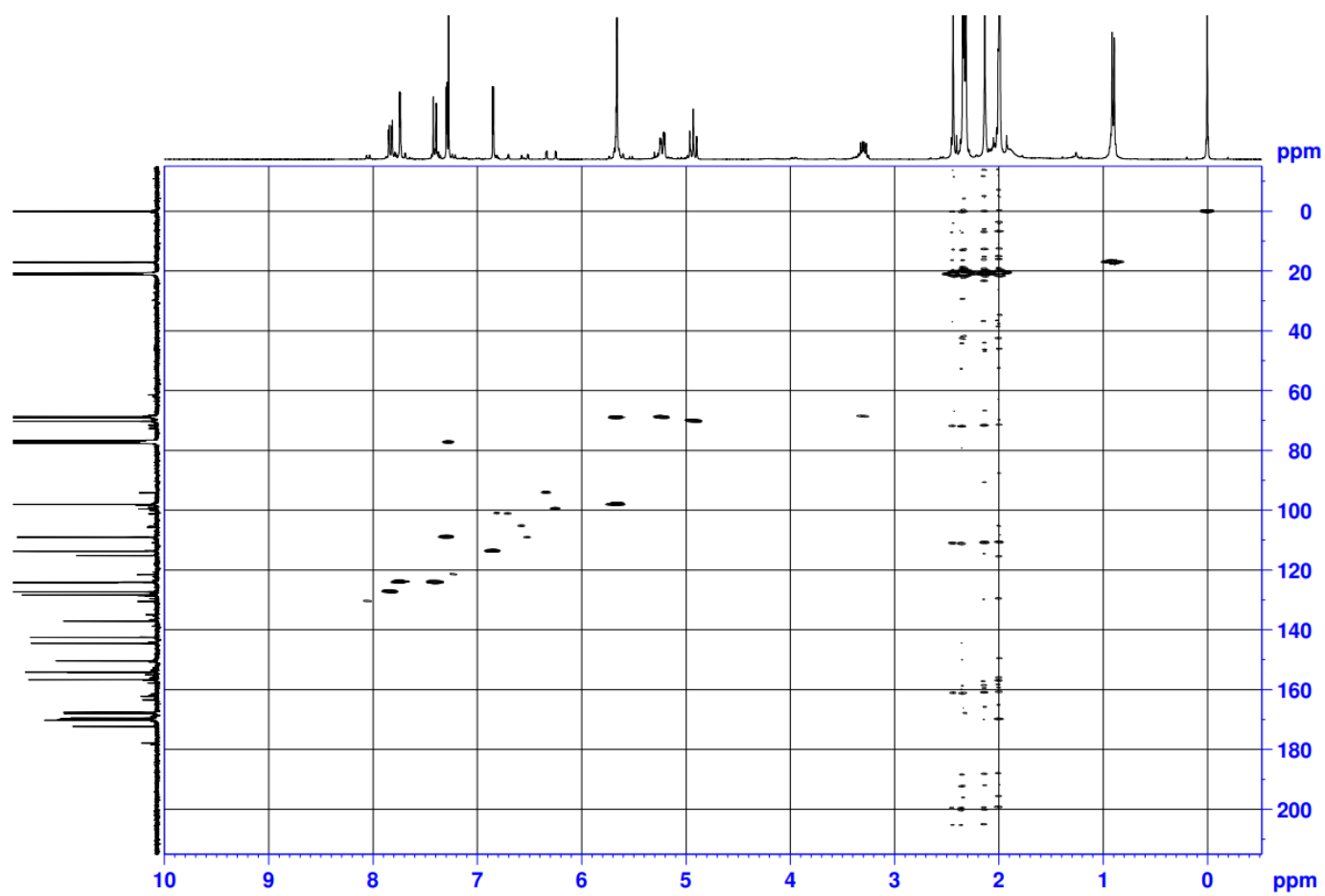


มหาวิทยาลัยศิลปากร

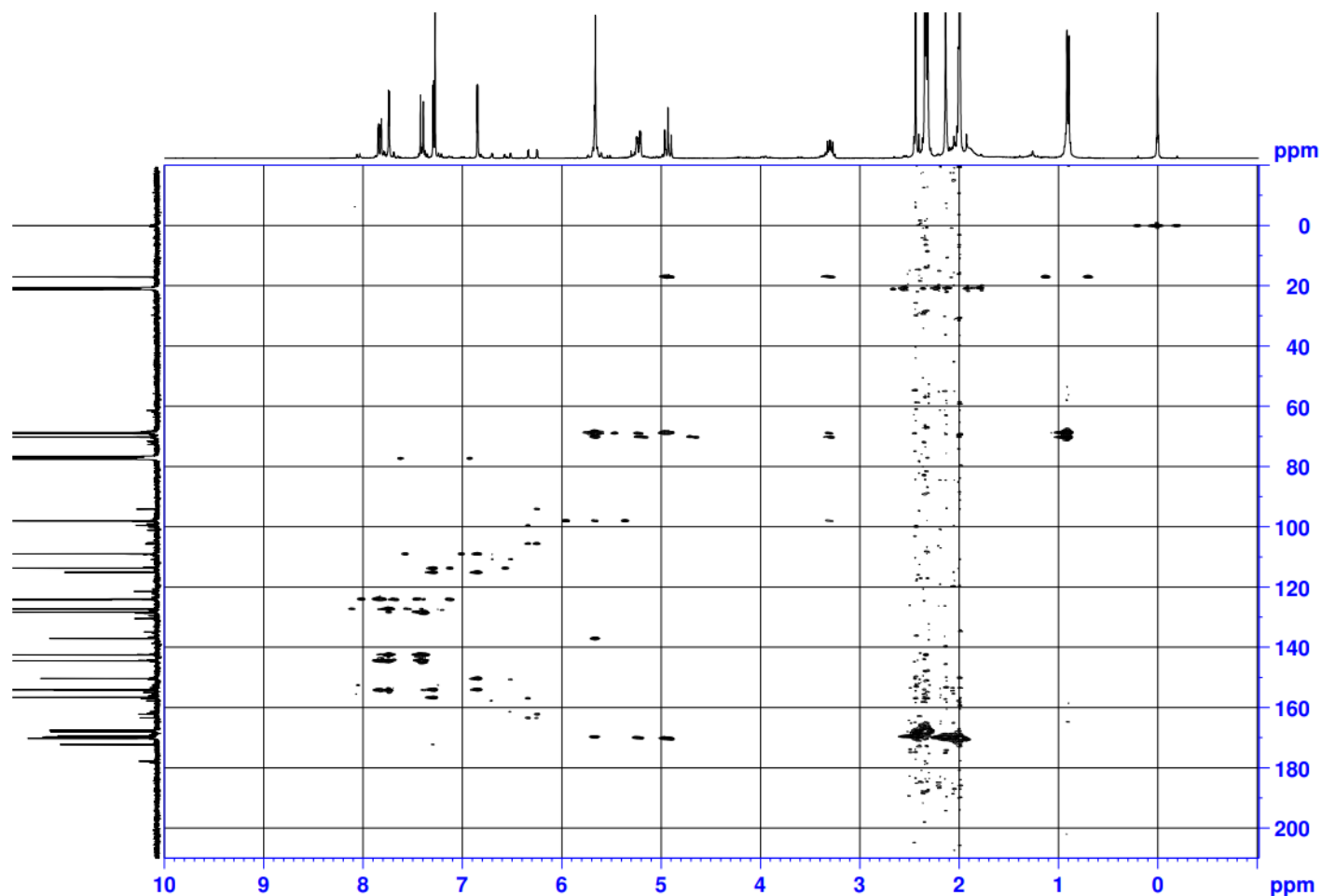
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)



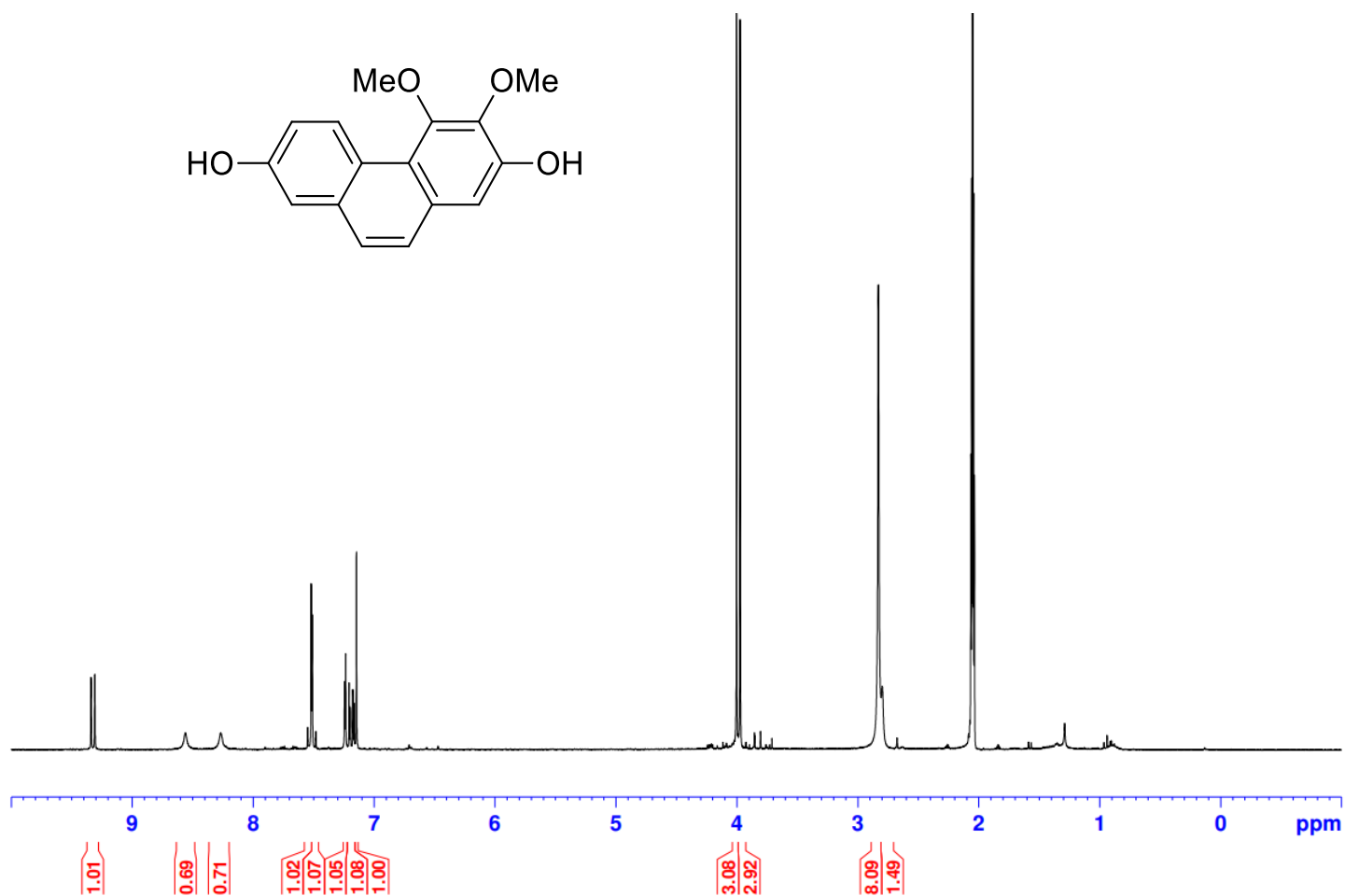
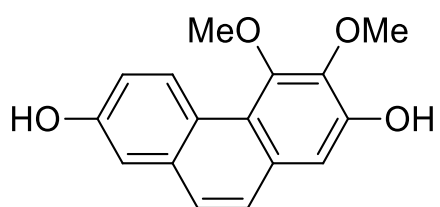
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ Quercitrin acetate (EL-16Ac)



มหาวิทยาลัยศิลปากร

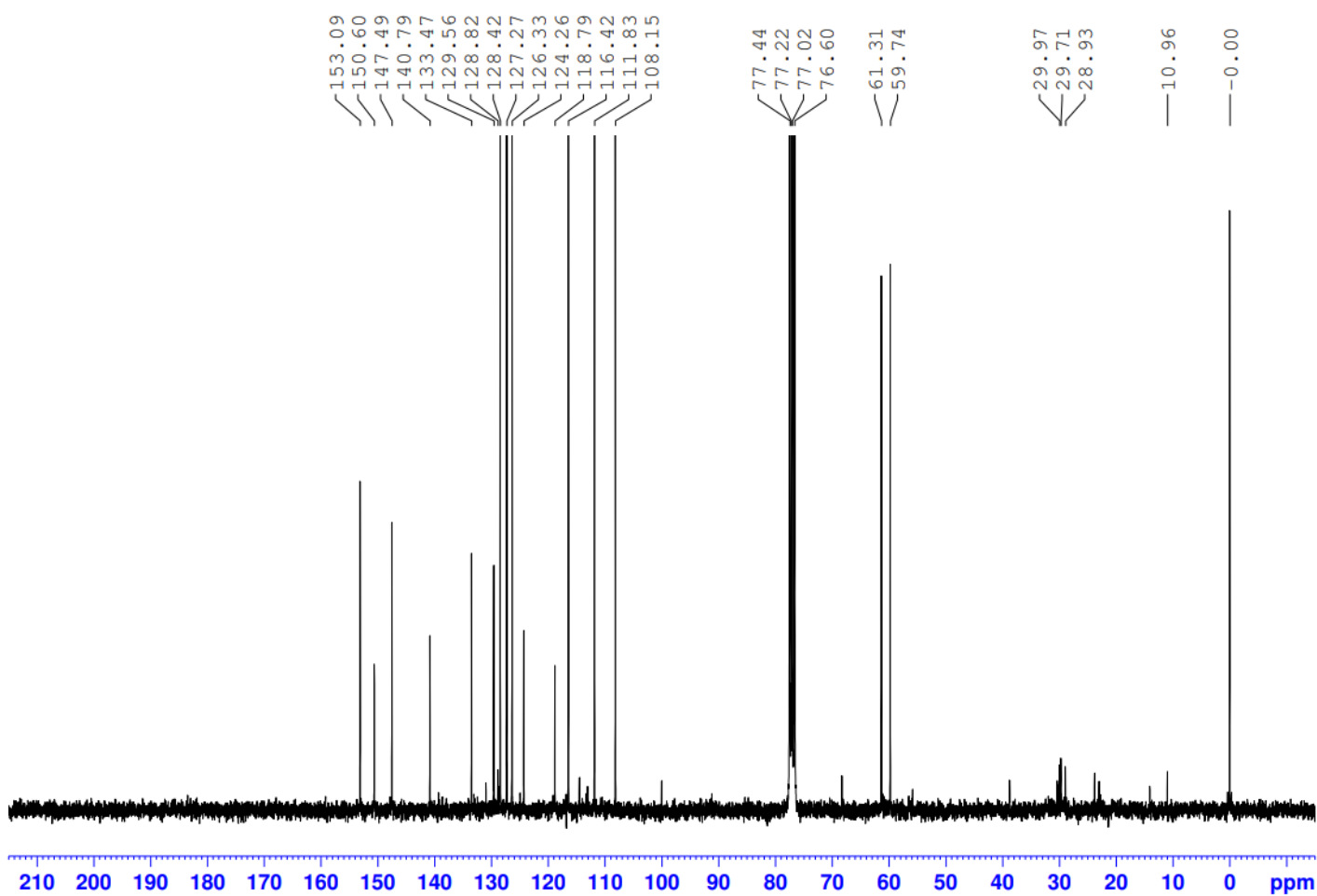


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ nudol (DS-1)

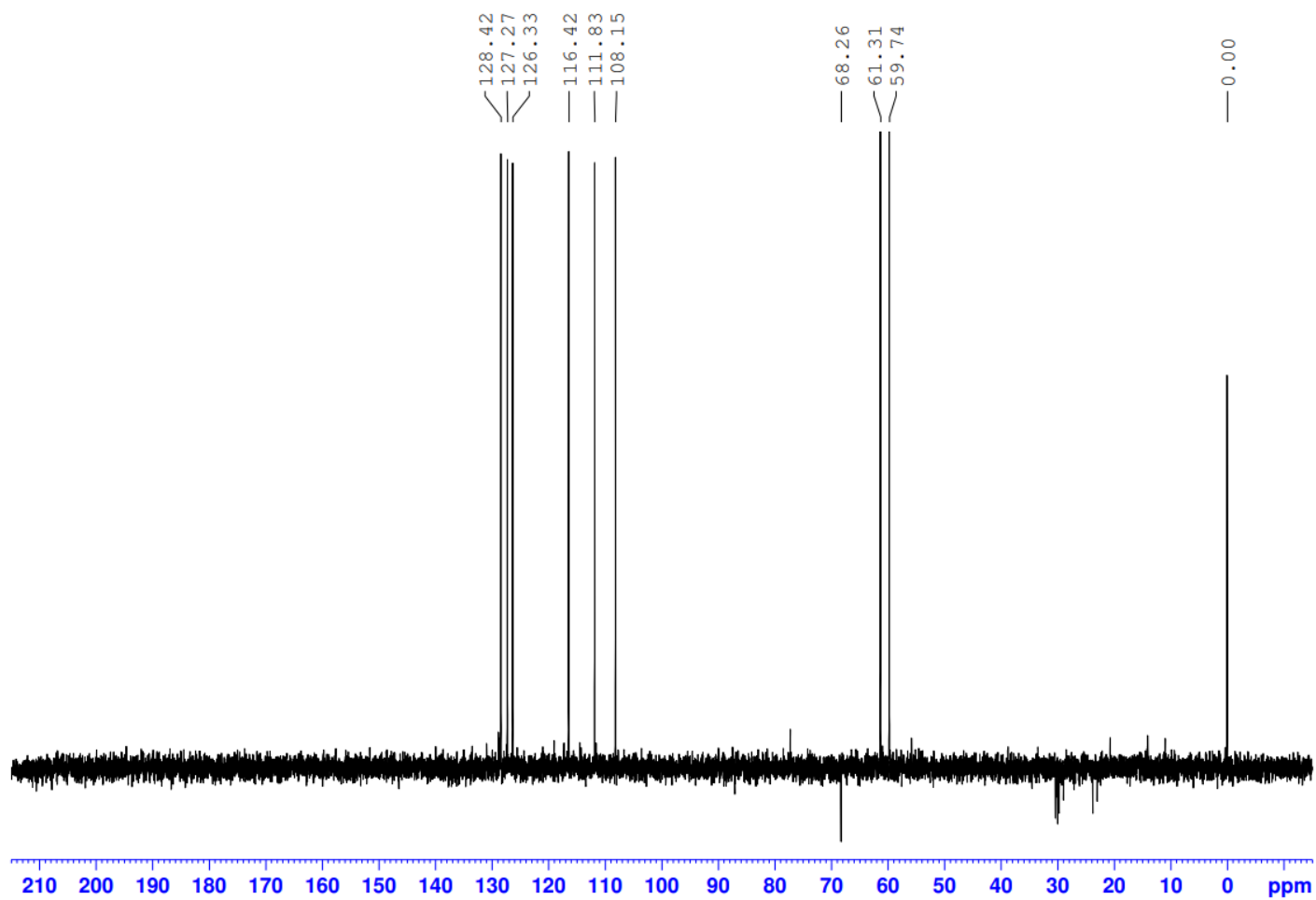


มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ nudol (DS-1)

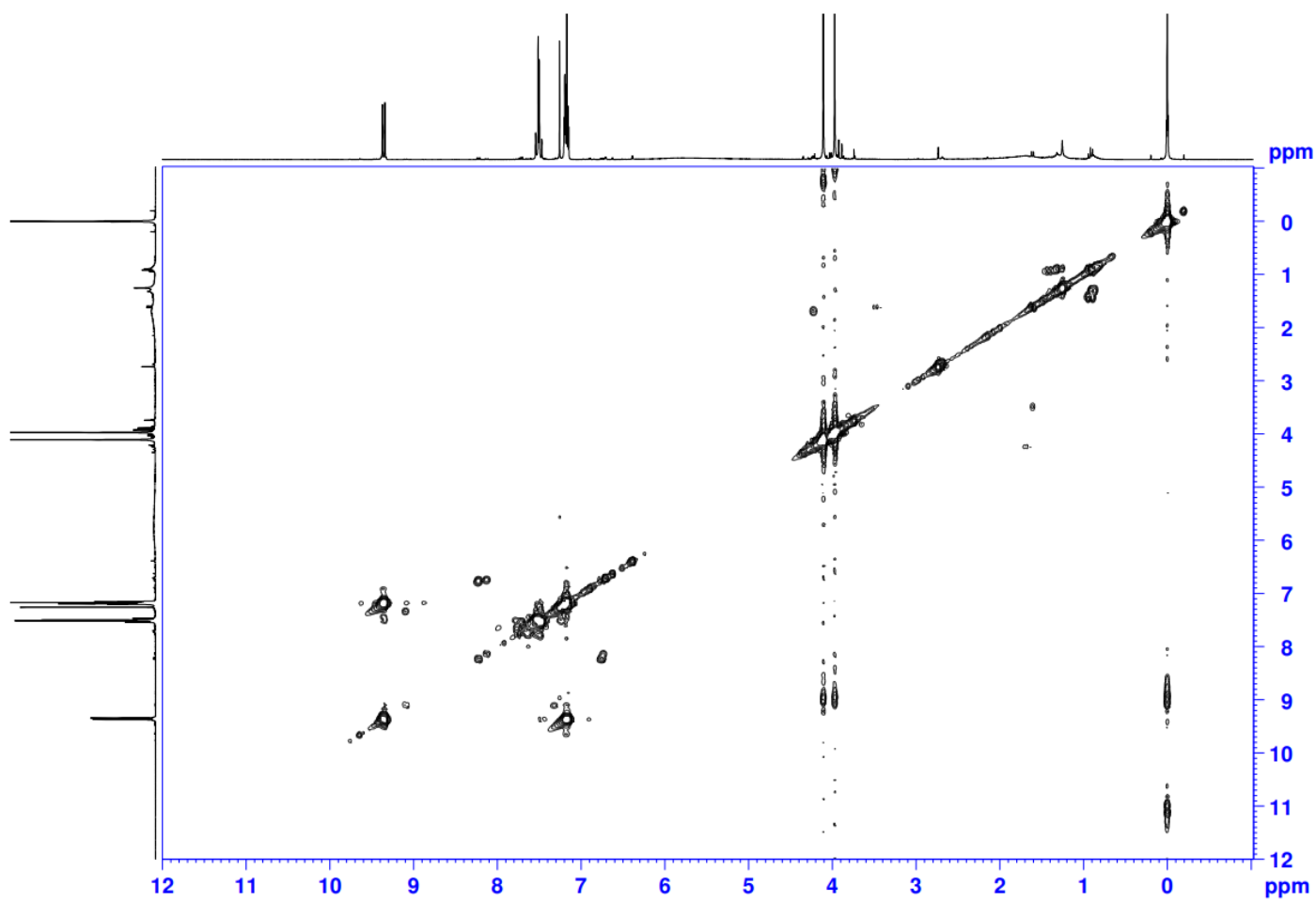


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ nudol (DS-1)

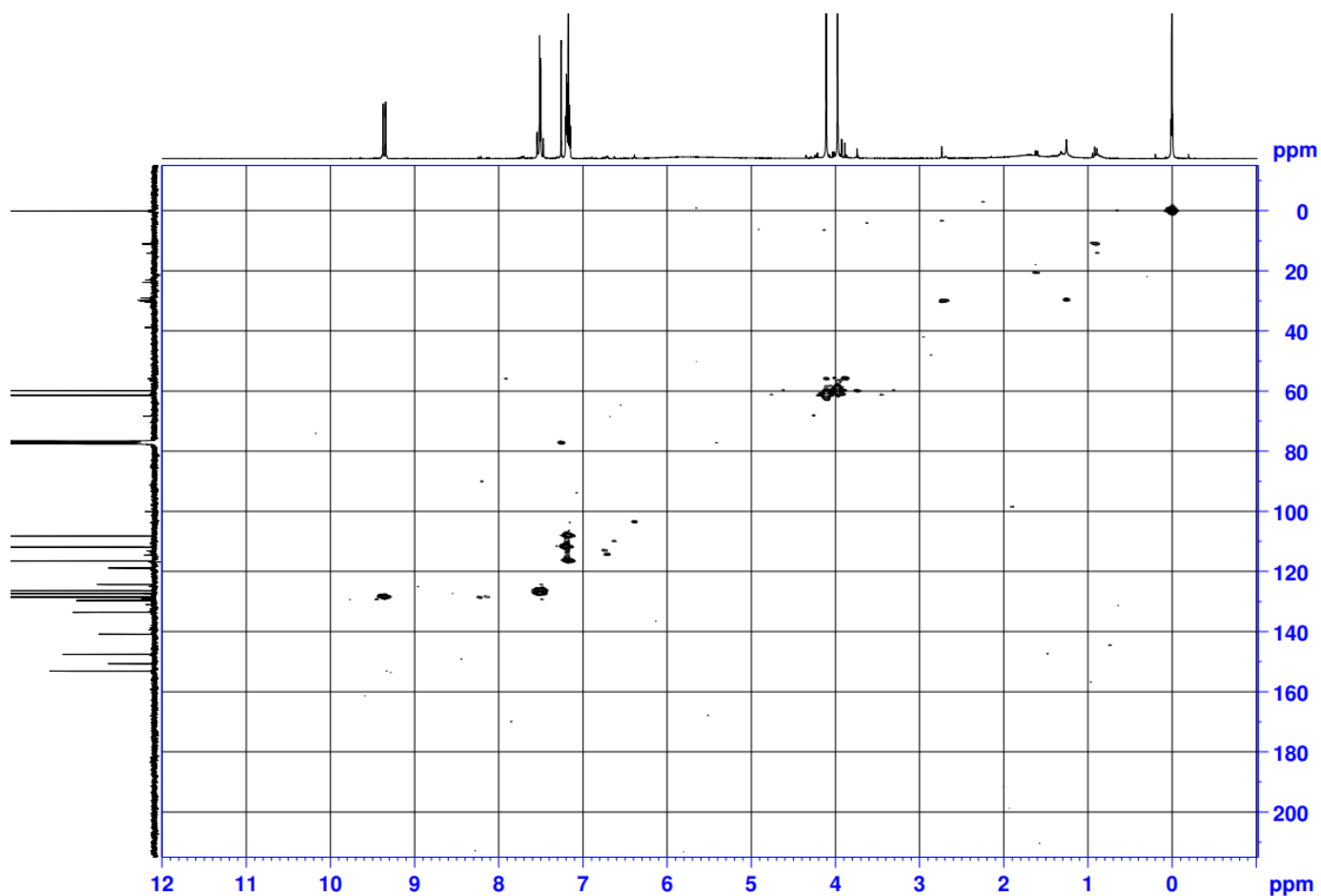


มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ nudol (DS-1)

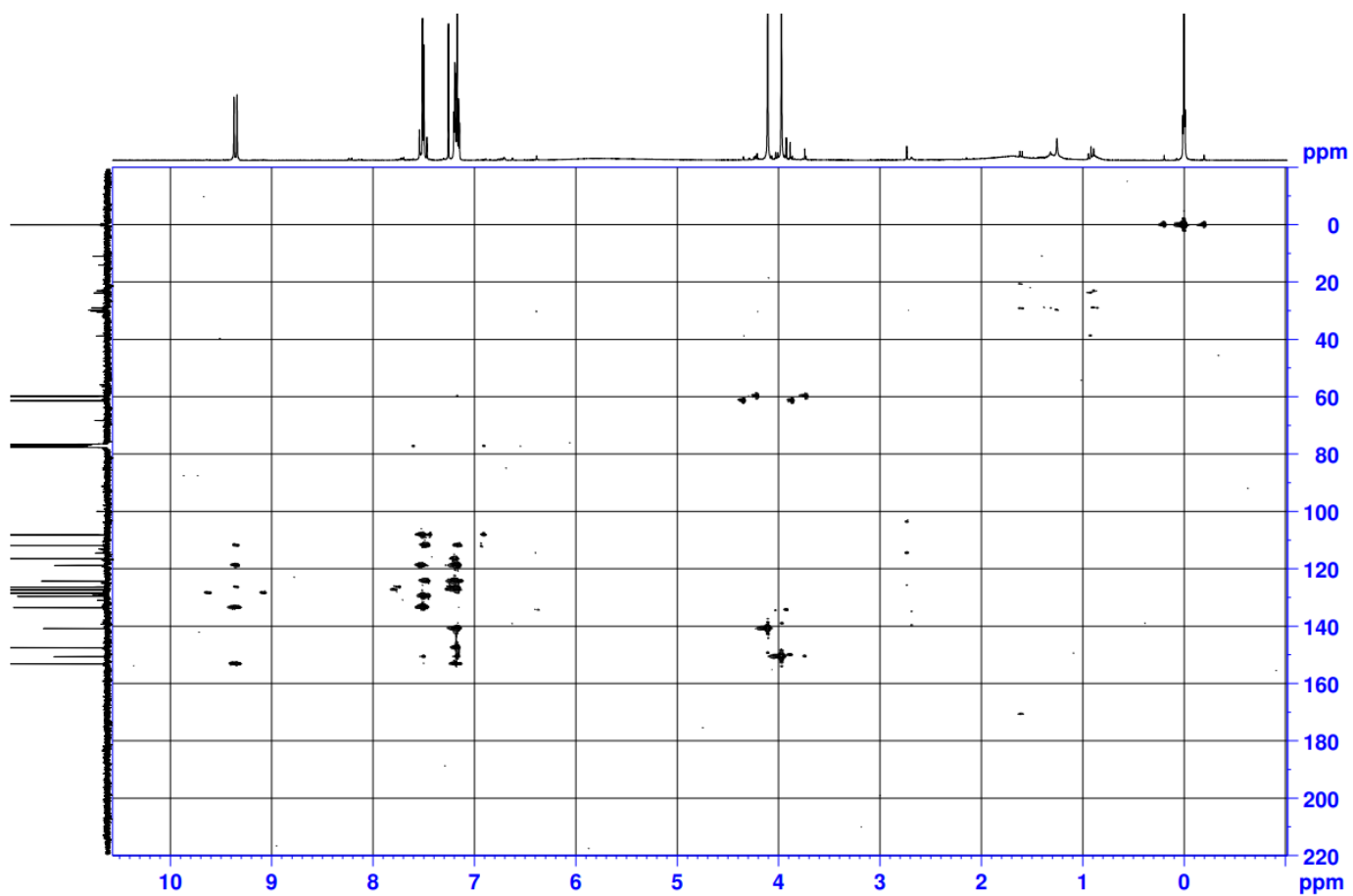


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ nudol (DS-1)

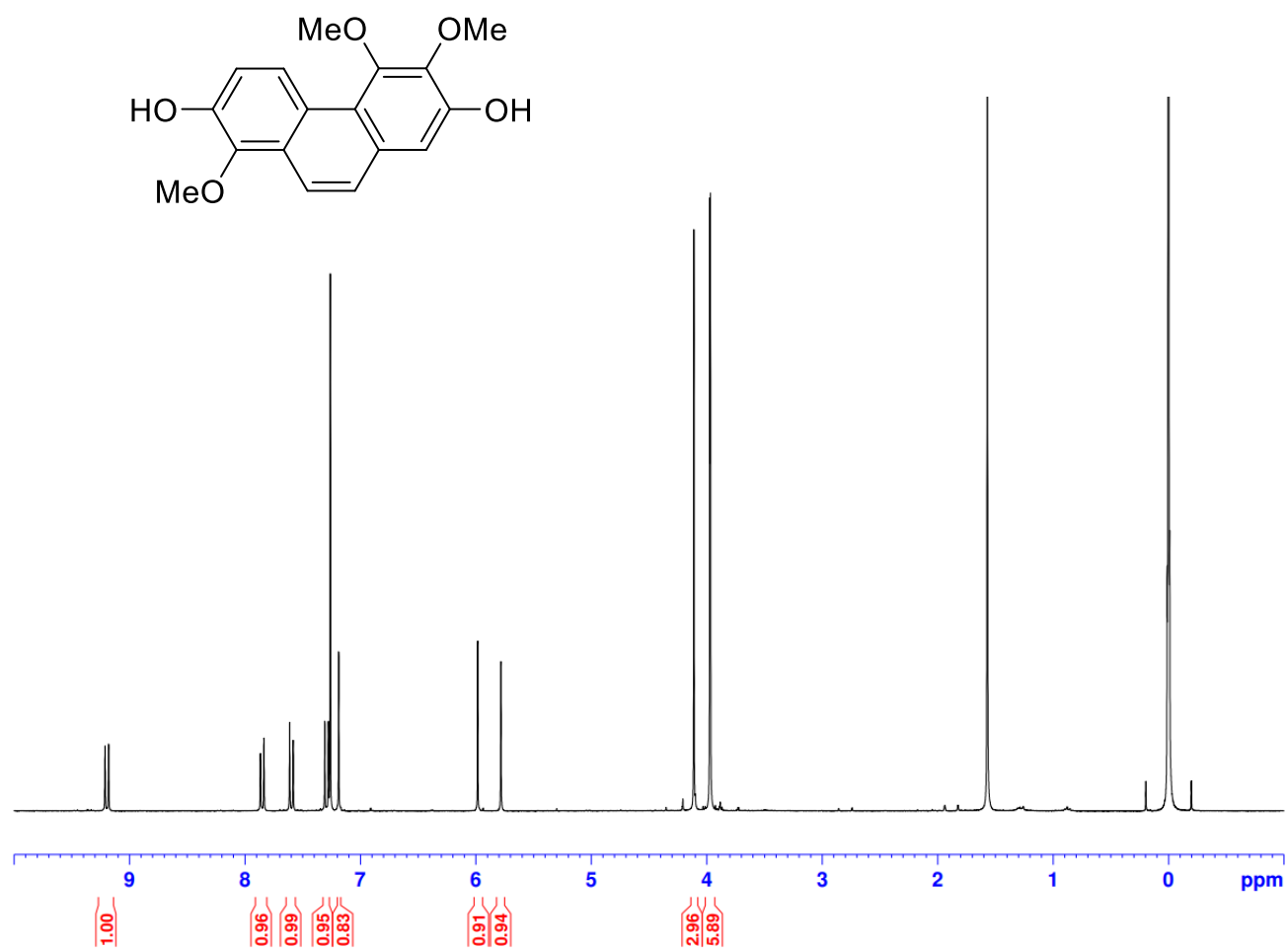


มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ nudol (DS-1)

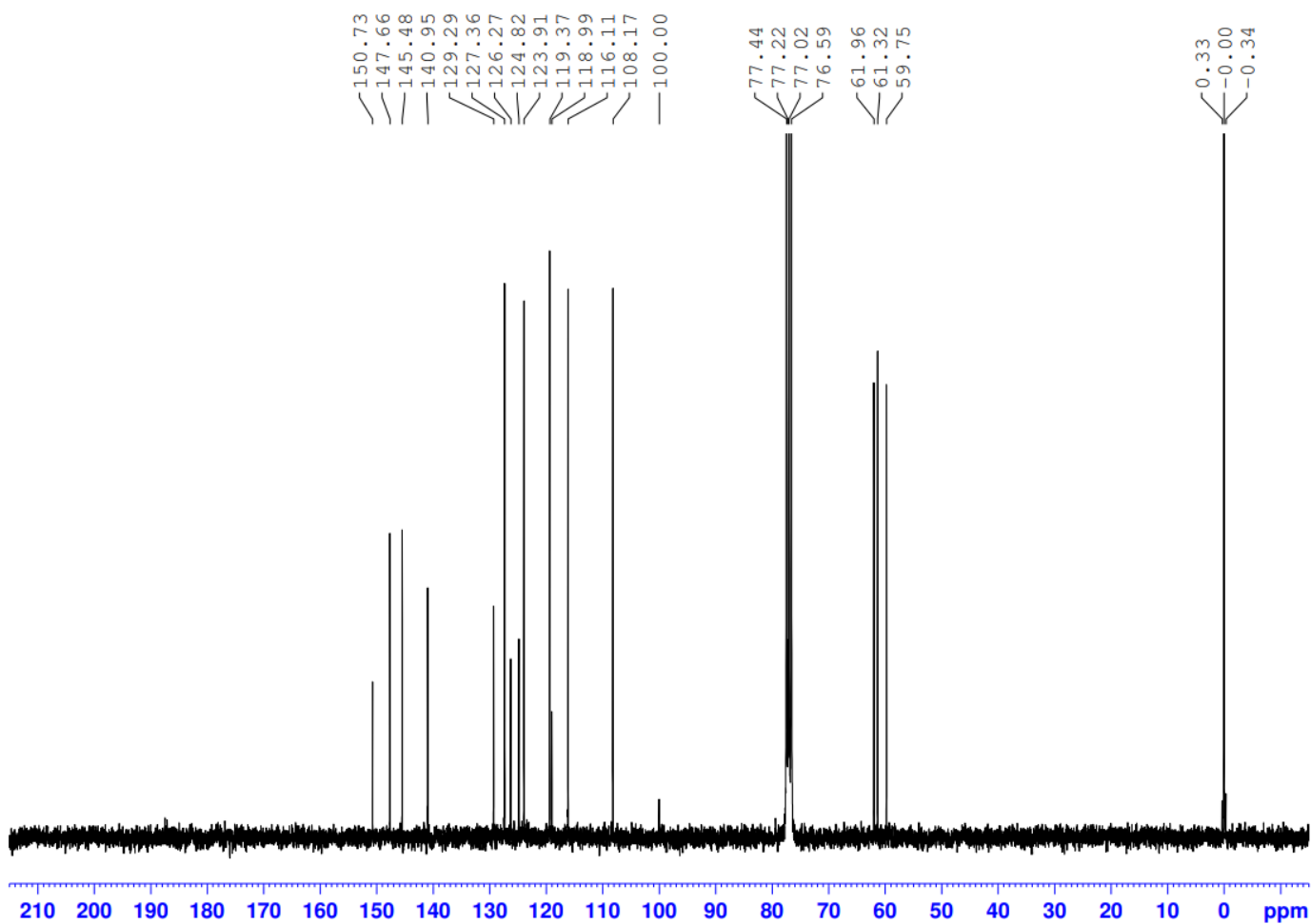


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ confurasin (DS-2)



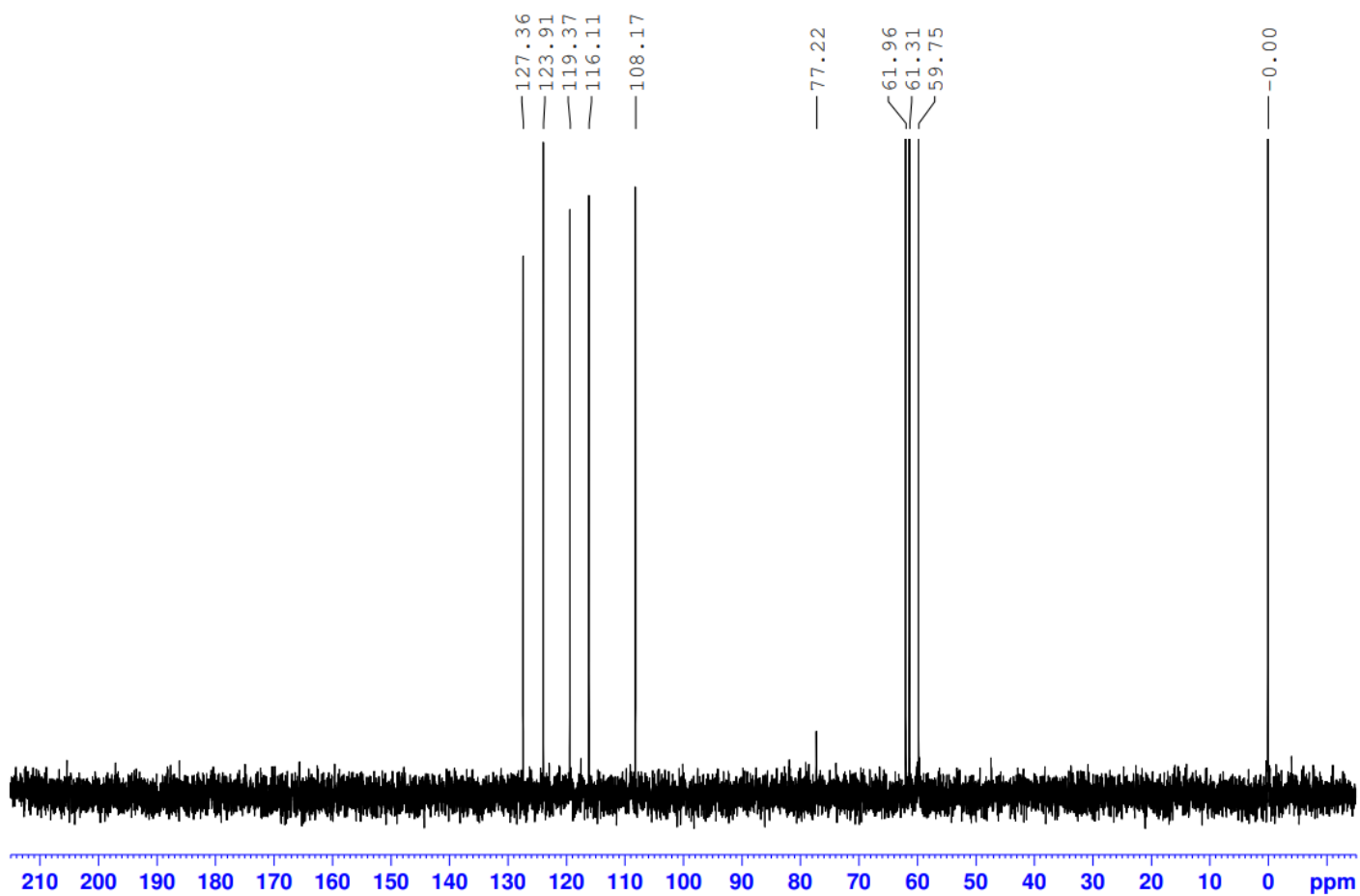
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ confurasin (DS-2)

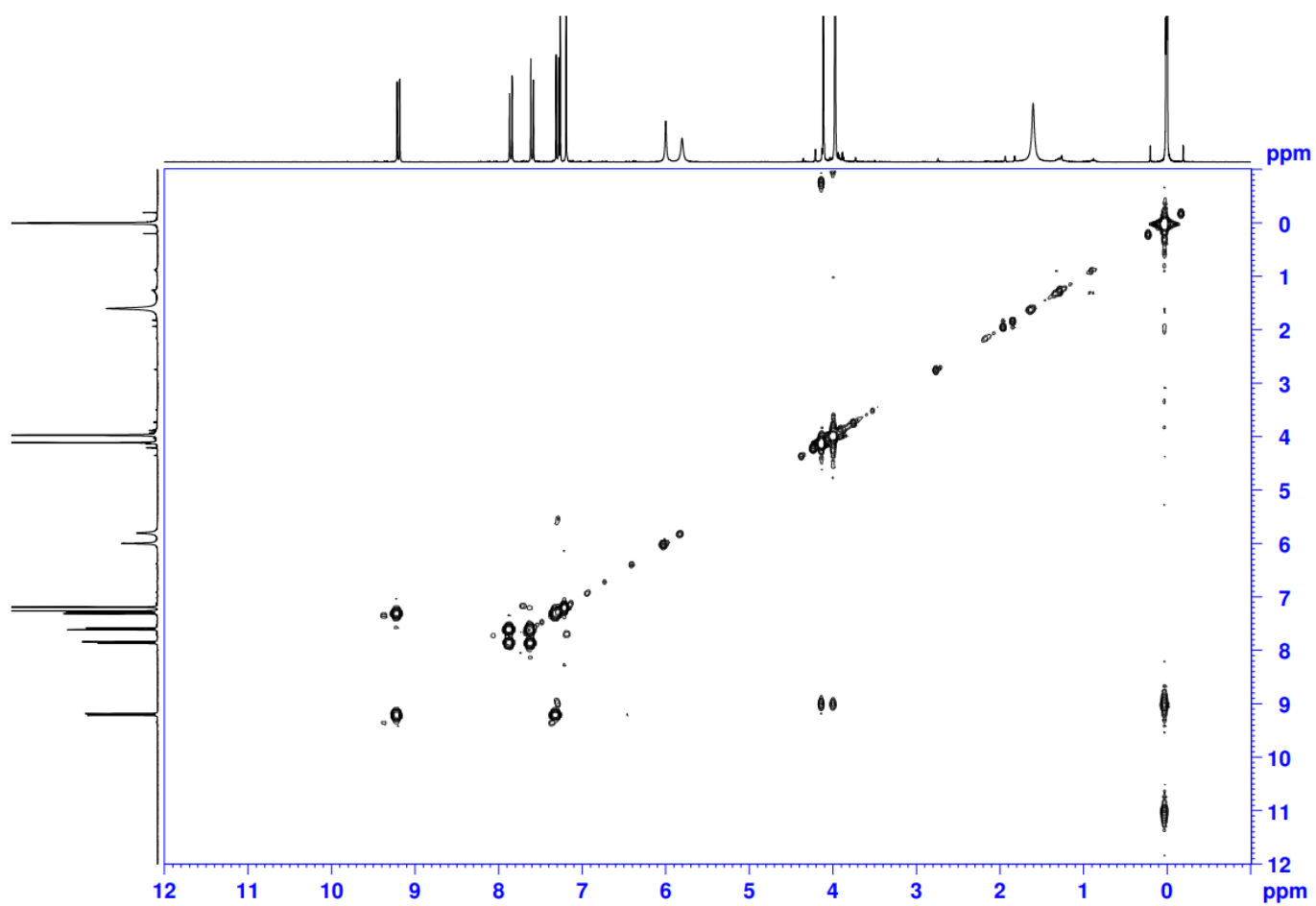




ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ confurasin (DS-2)

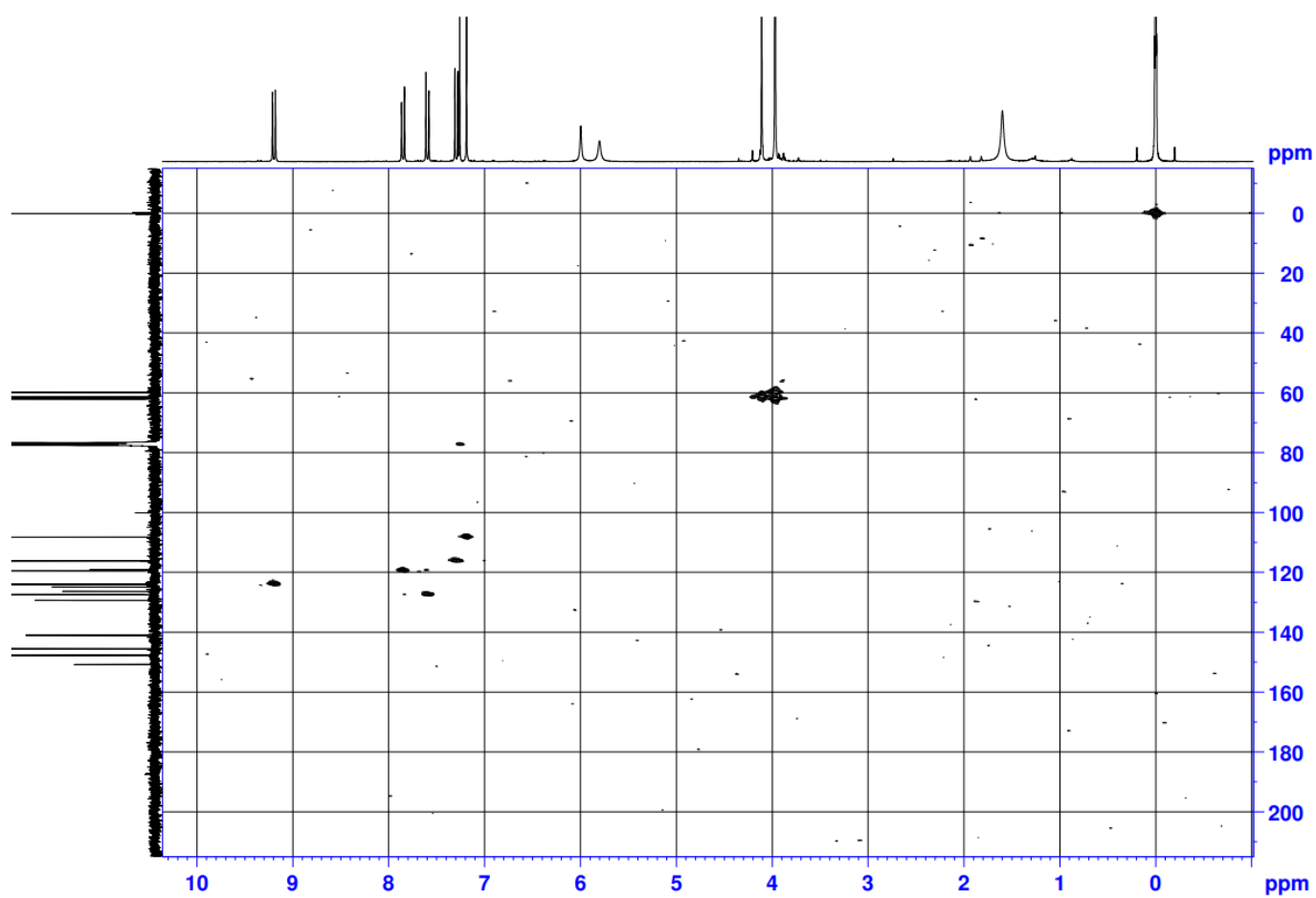


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ confurasin (DS-2)

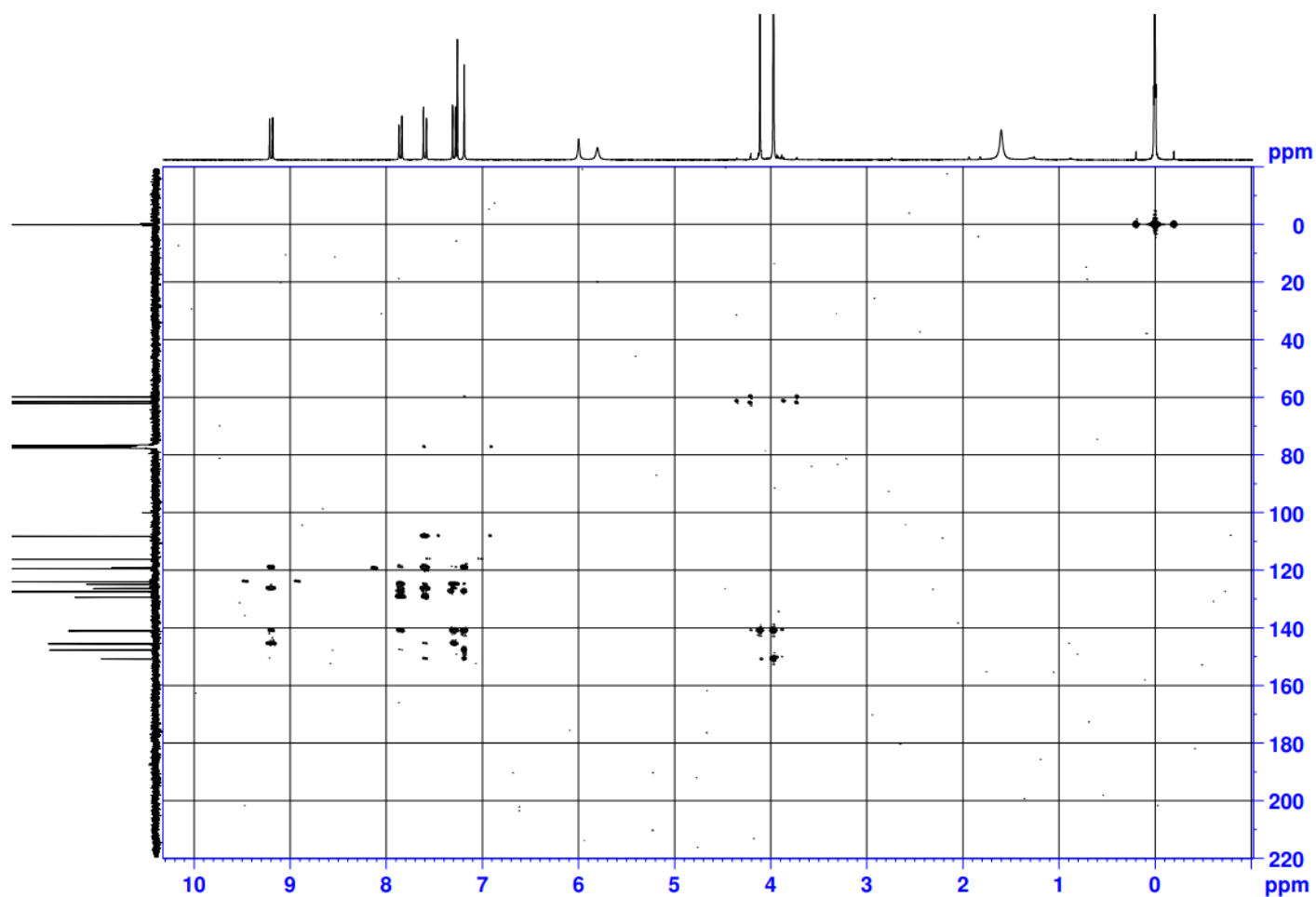


มหาวิทยาลัยศิลปากร

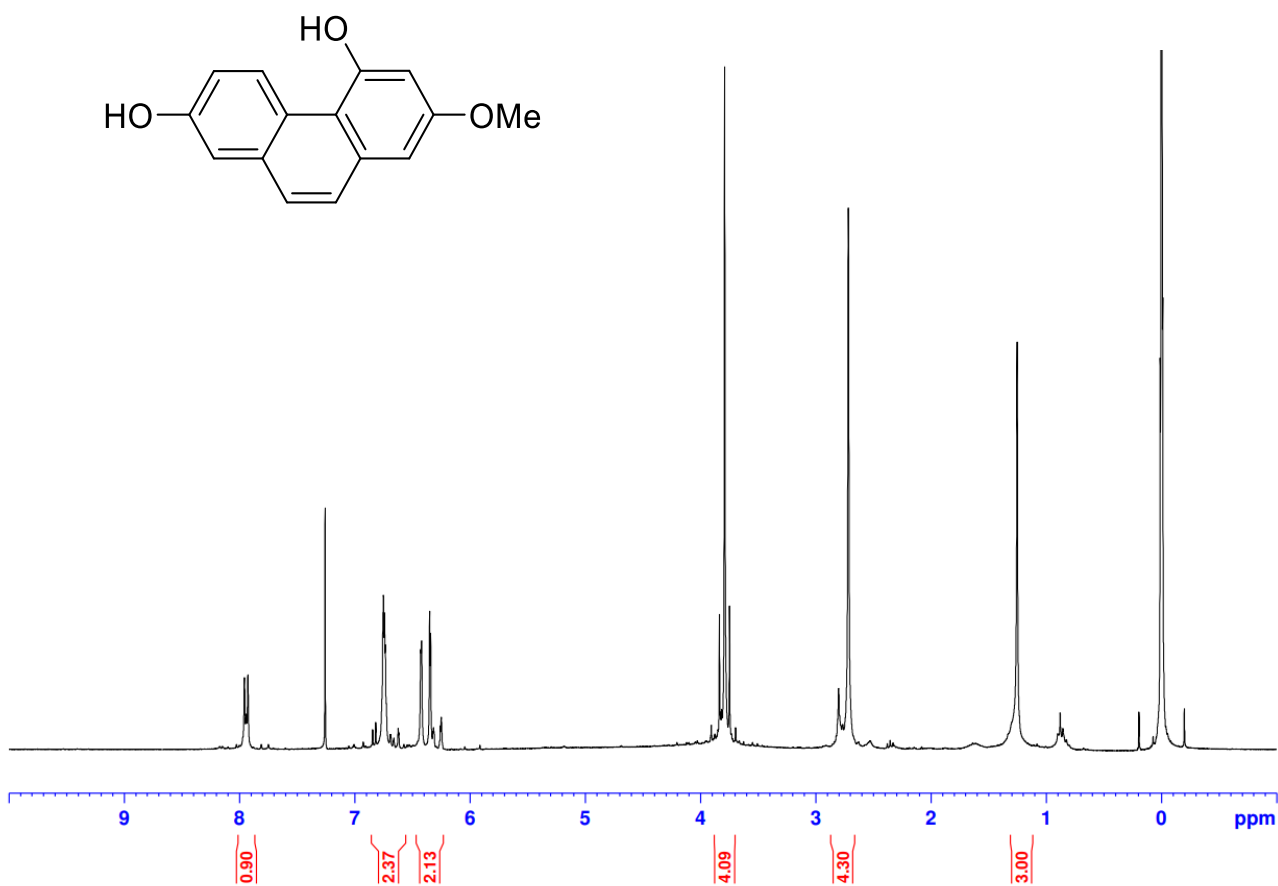
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ confurasin (DS-2)



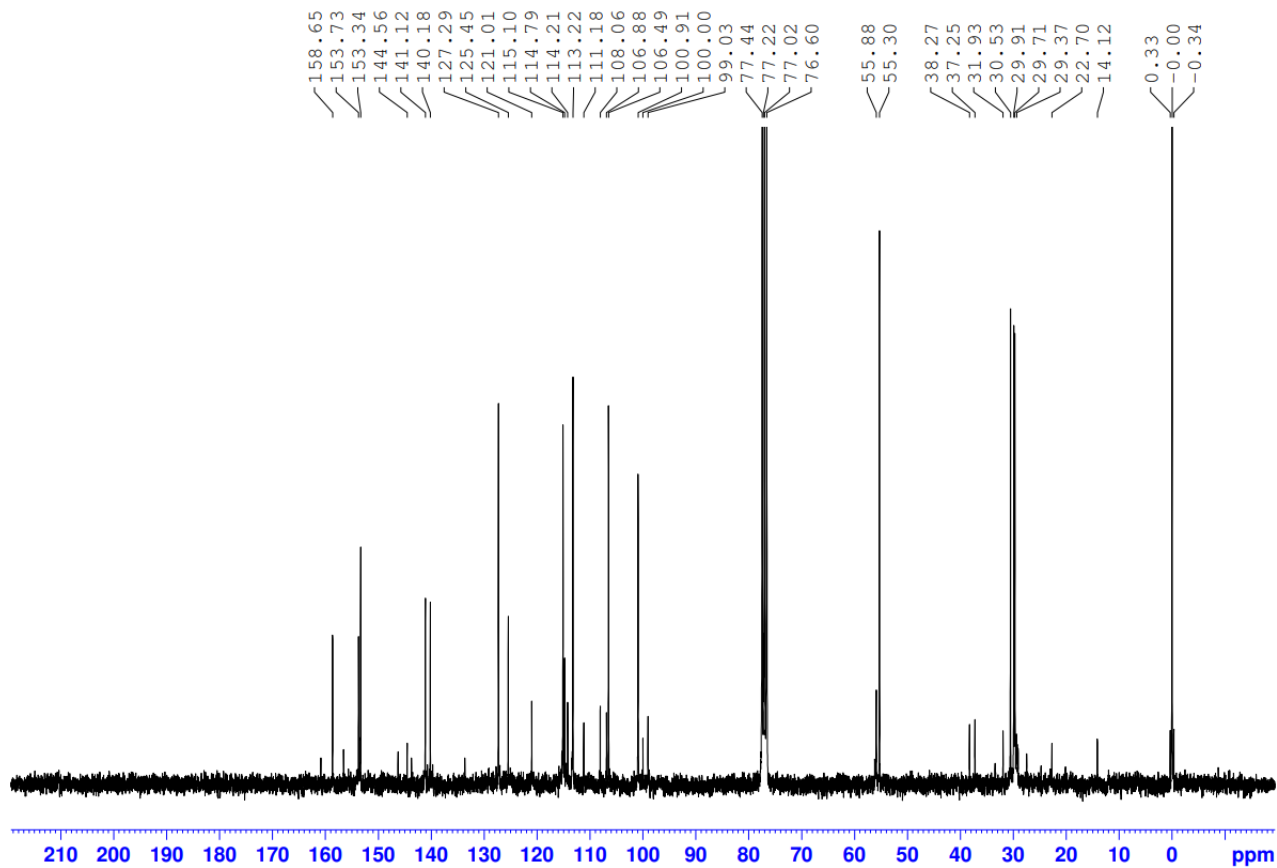
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ confurasin (DS-2)



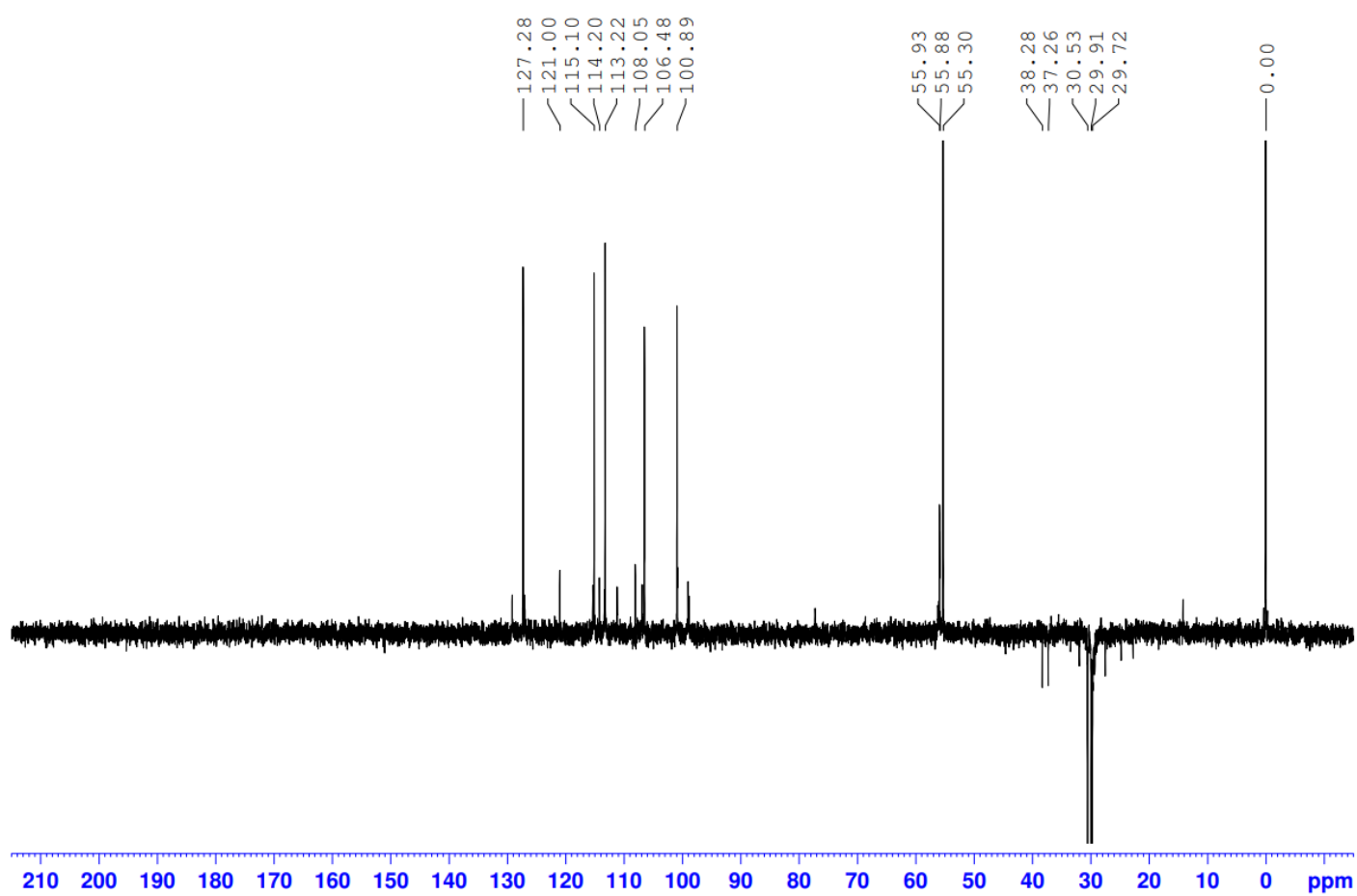
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ lusianthidin (DS-3)



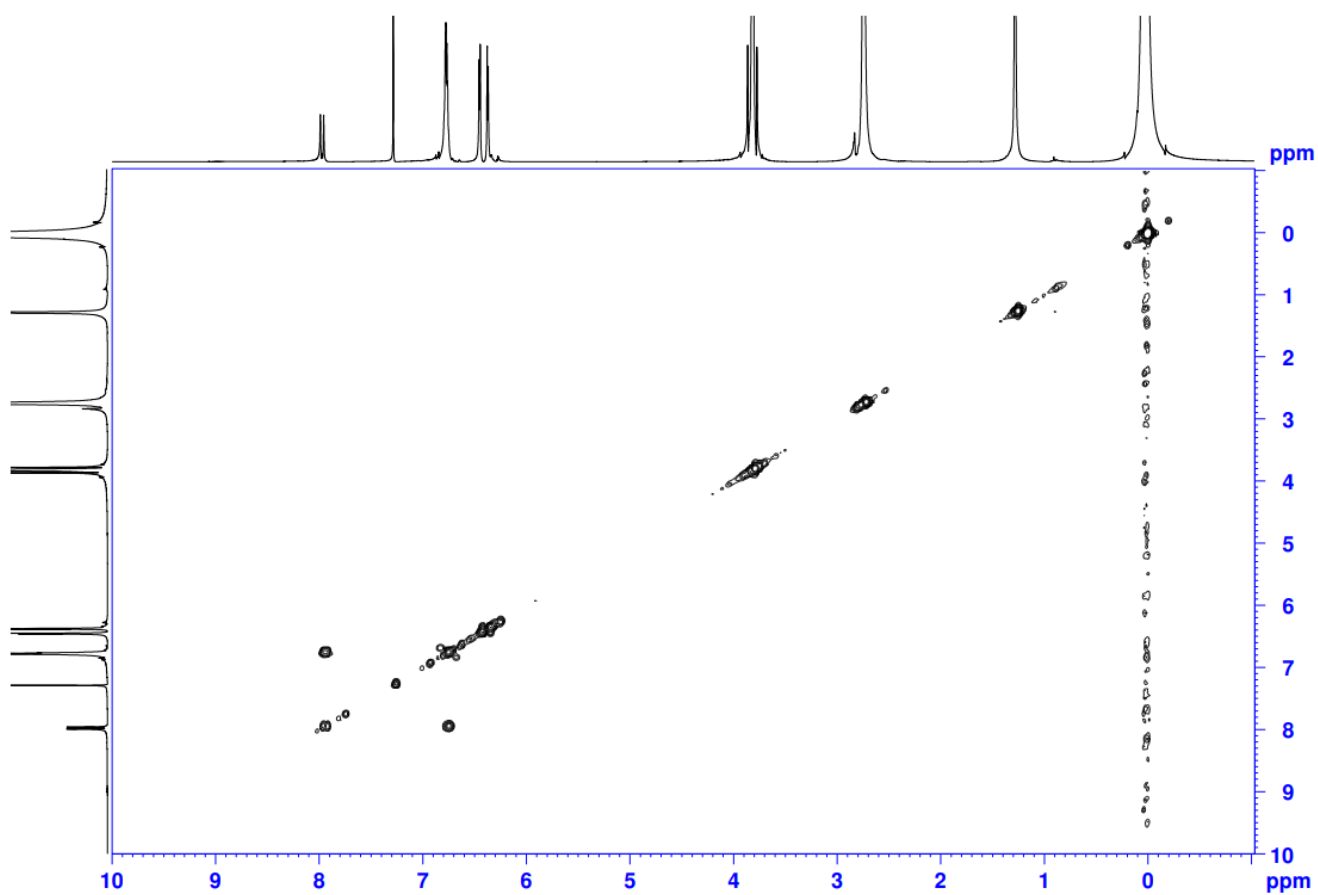
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ lusianthidin (DS-3)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ lusianthidin (DS-3)

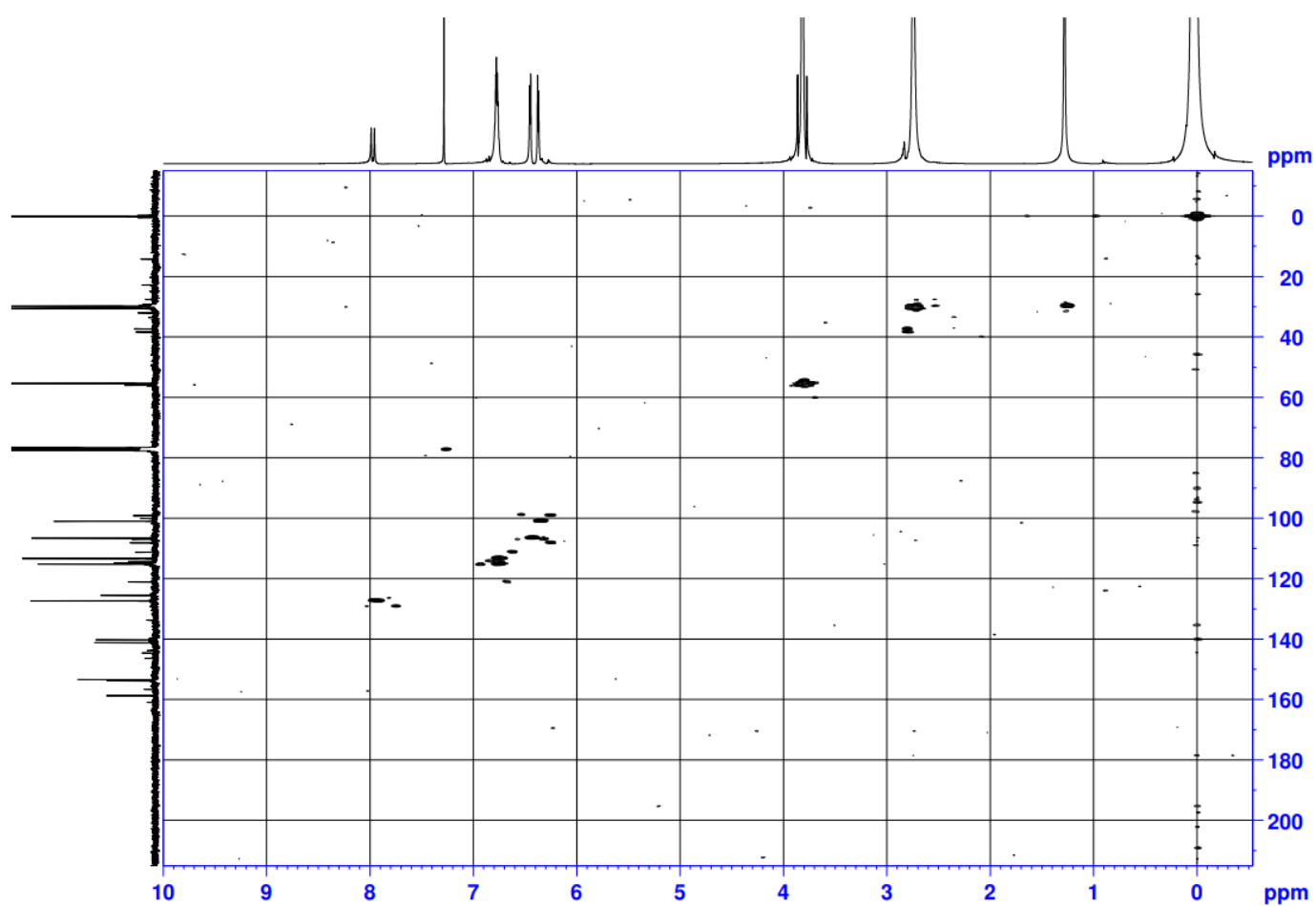


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY 135 NMR ของ lusianthidin (DS-3)



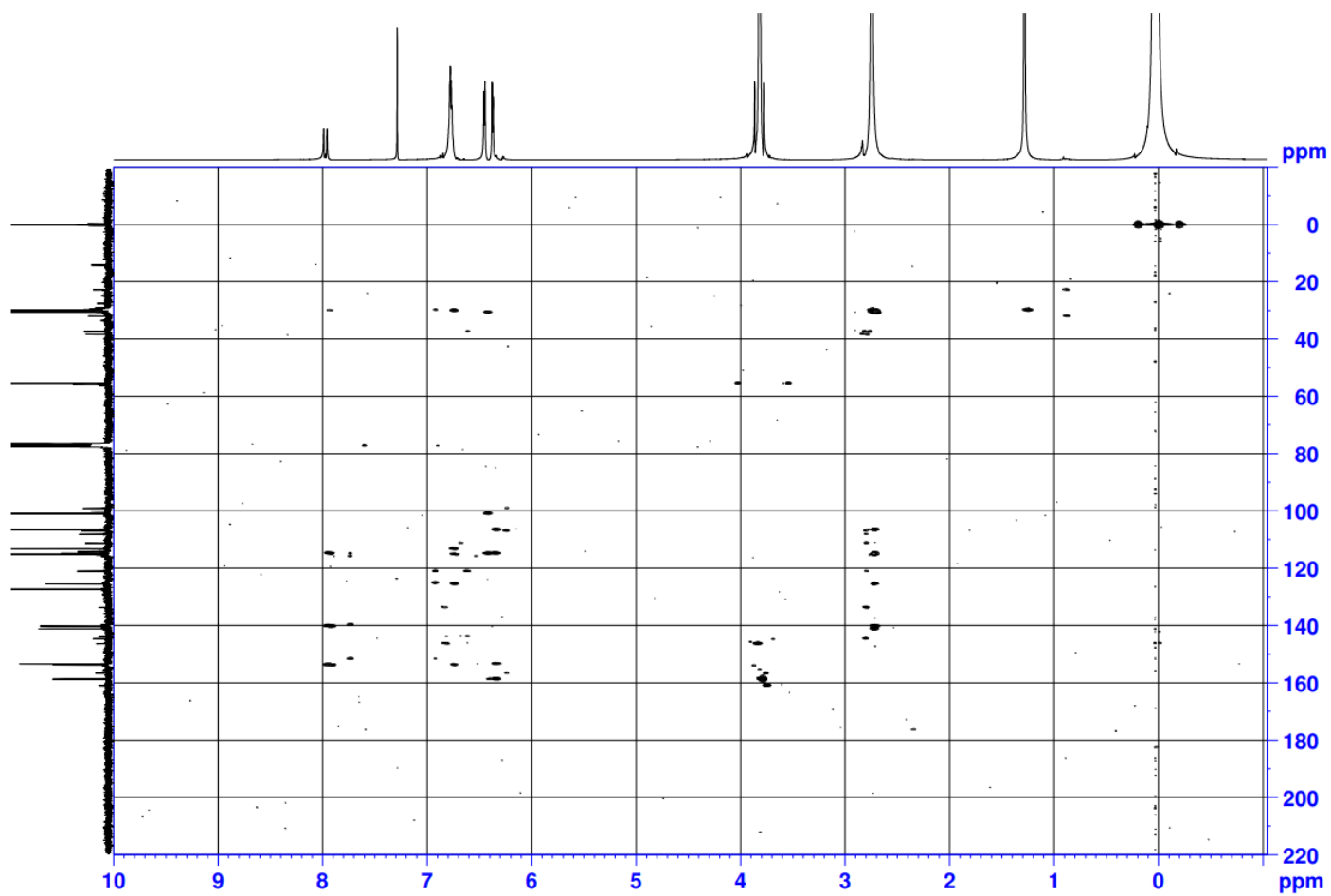


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ lusianthidin (DS-3)



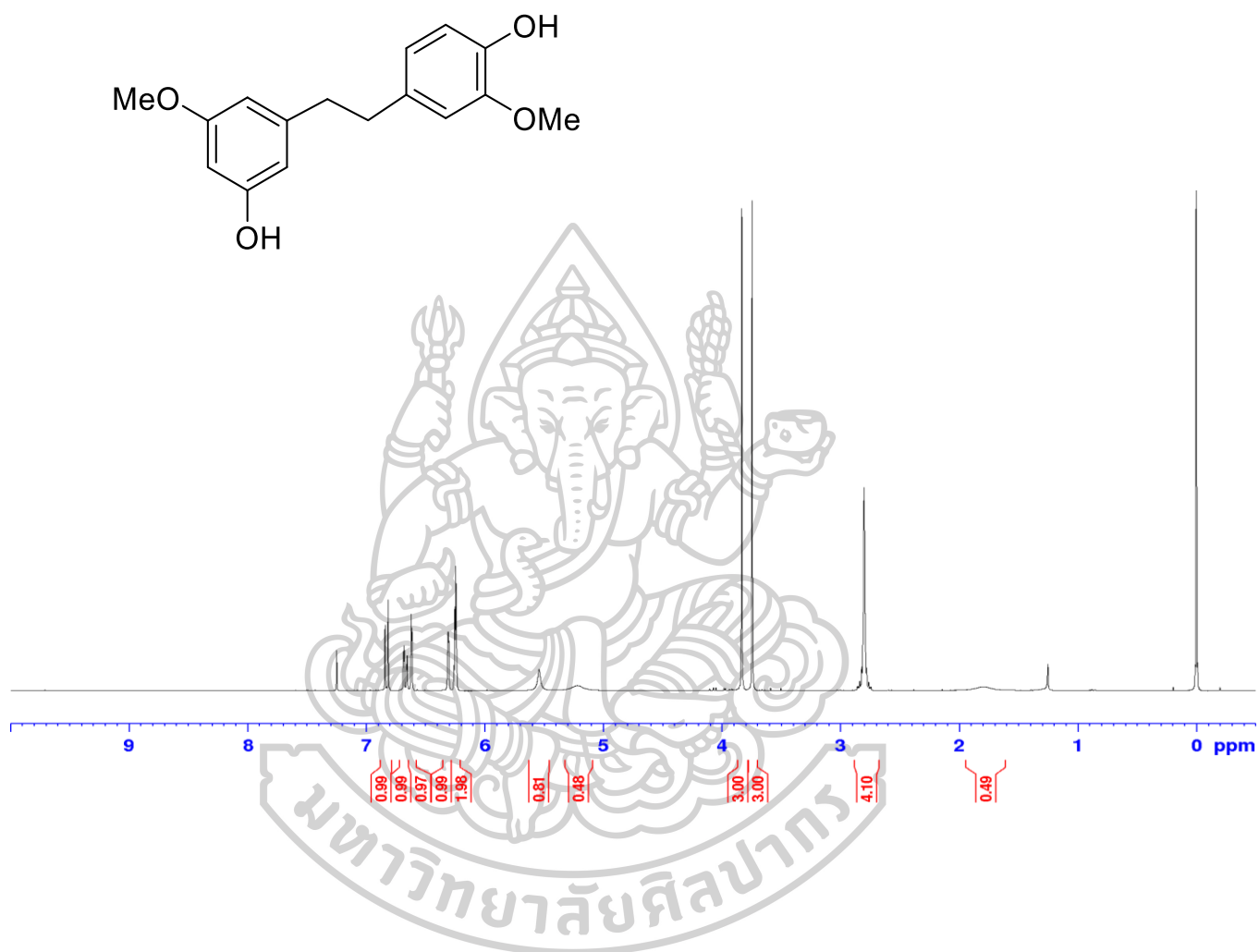
วิทยาลัยศิลป

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ lusianthidin (DS-3)

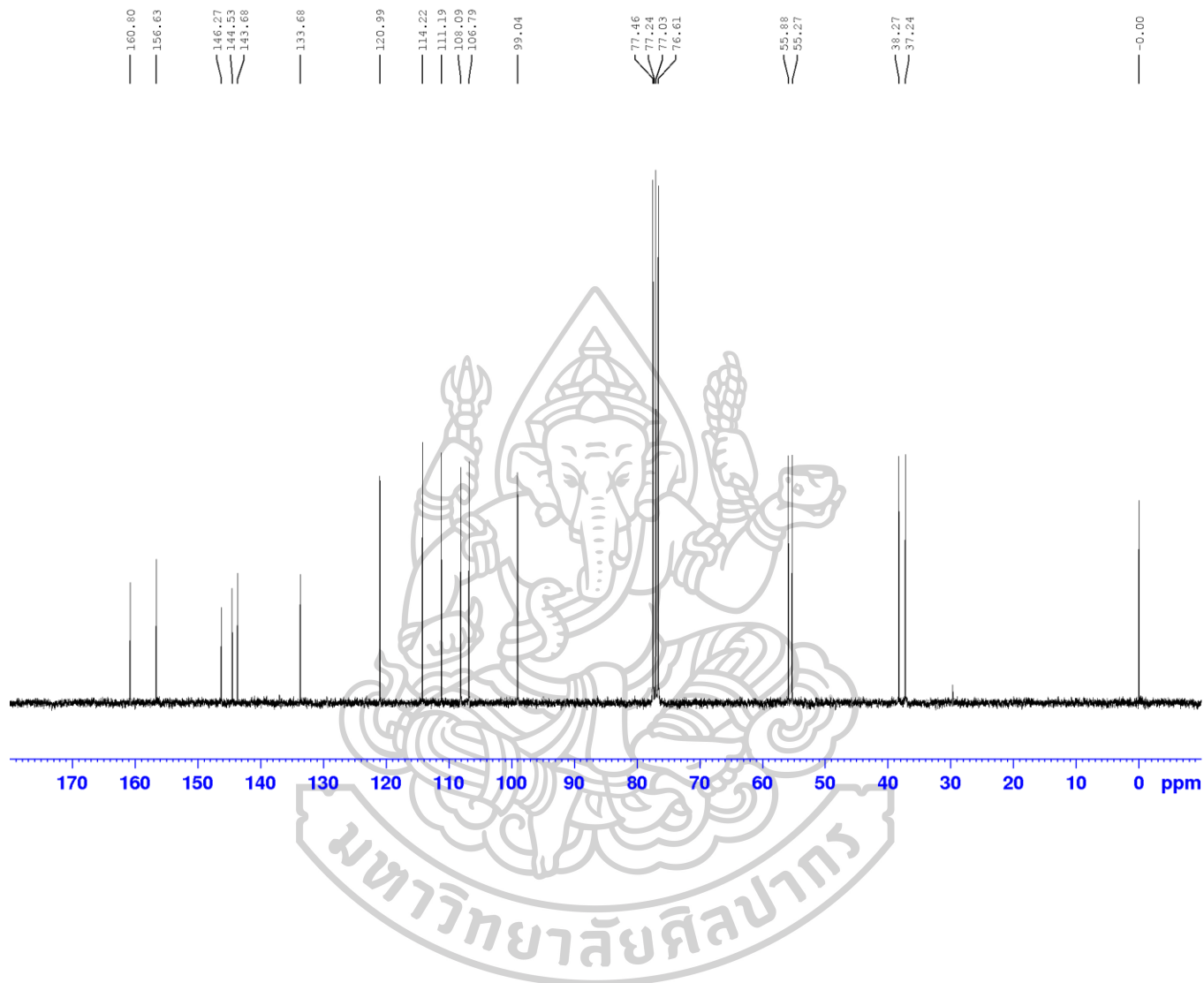


มหาวิทยาลัยศิลปากร

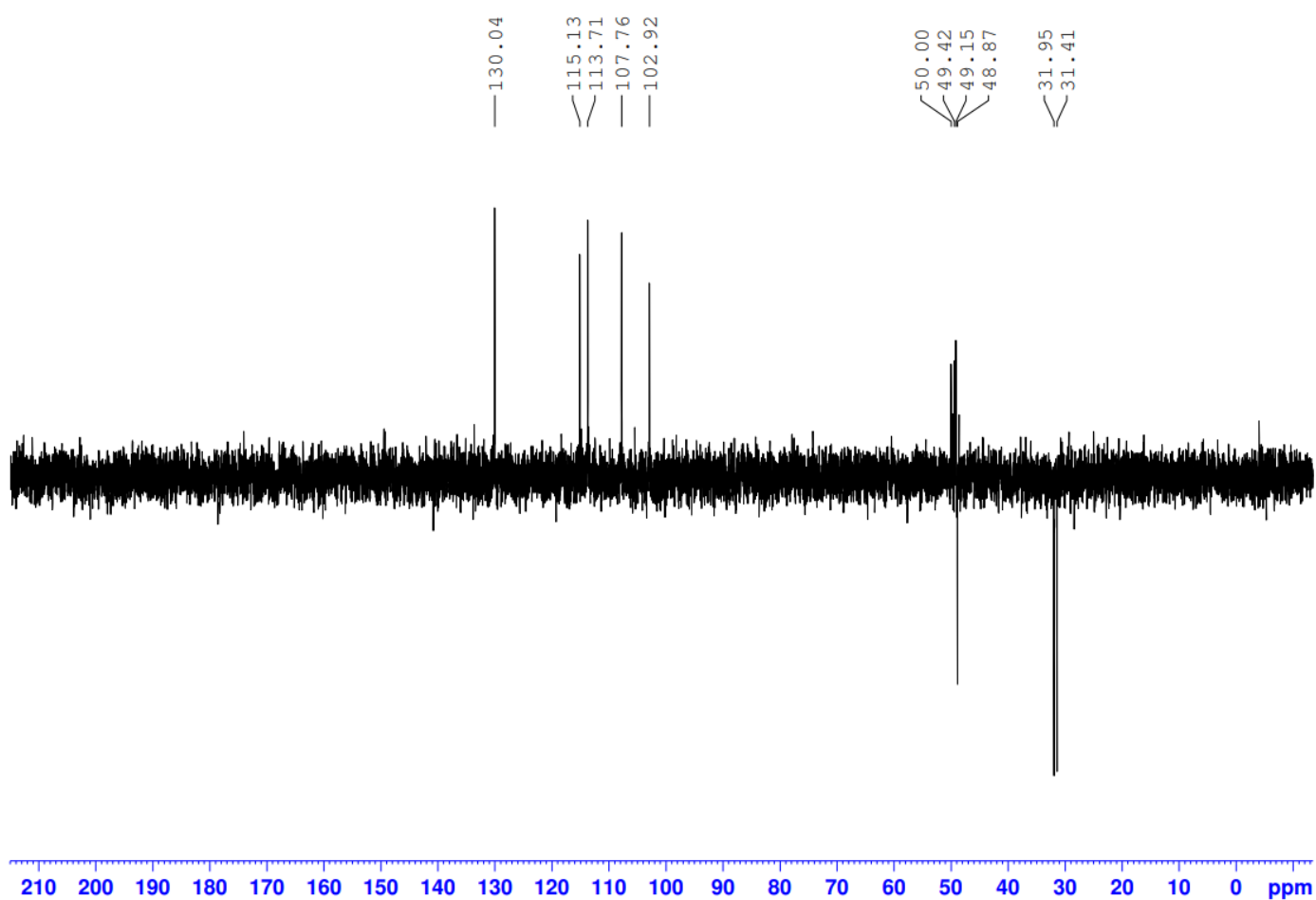
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ gigantol (DS-4)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ gigantol (DS-4)

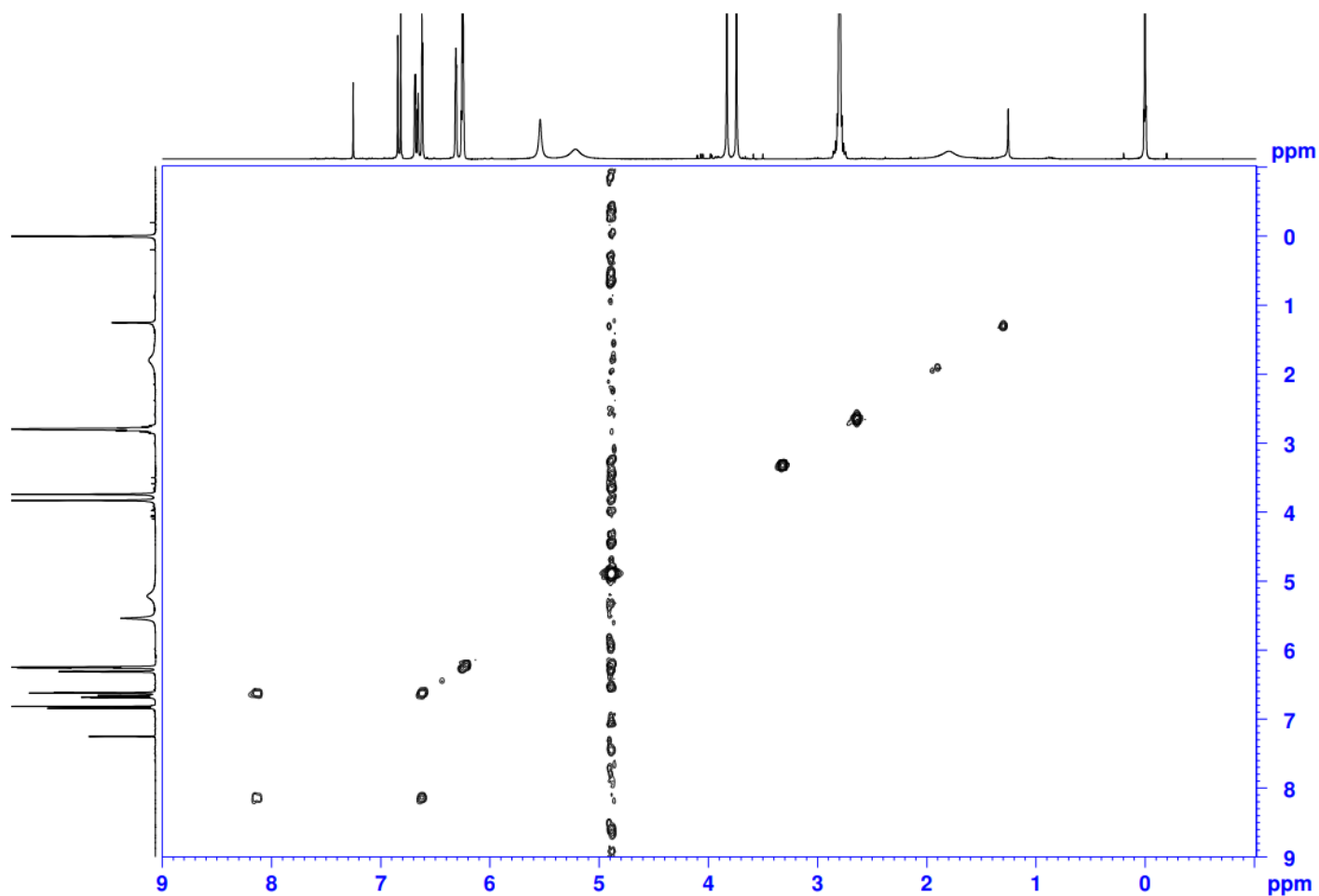


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ gigantol (DS-4)

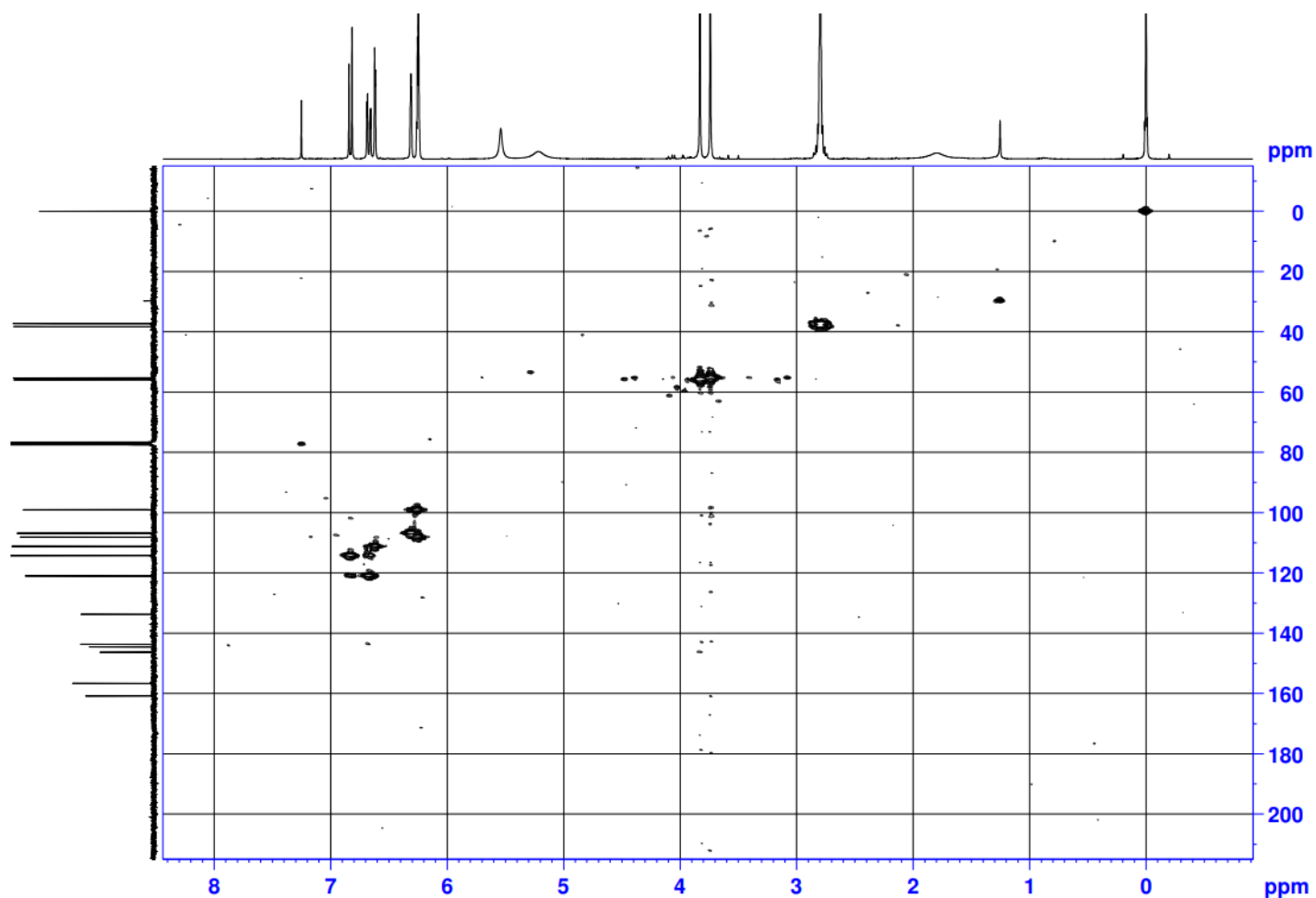


วิทยาลัยศิลป

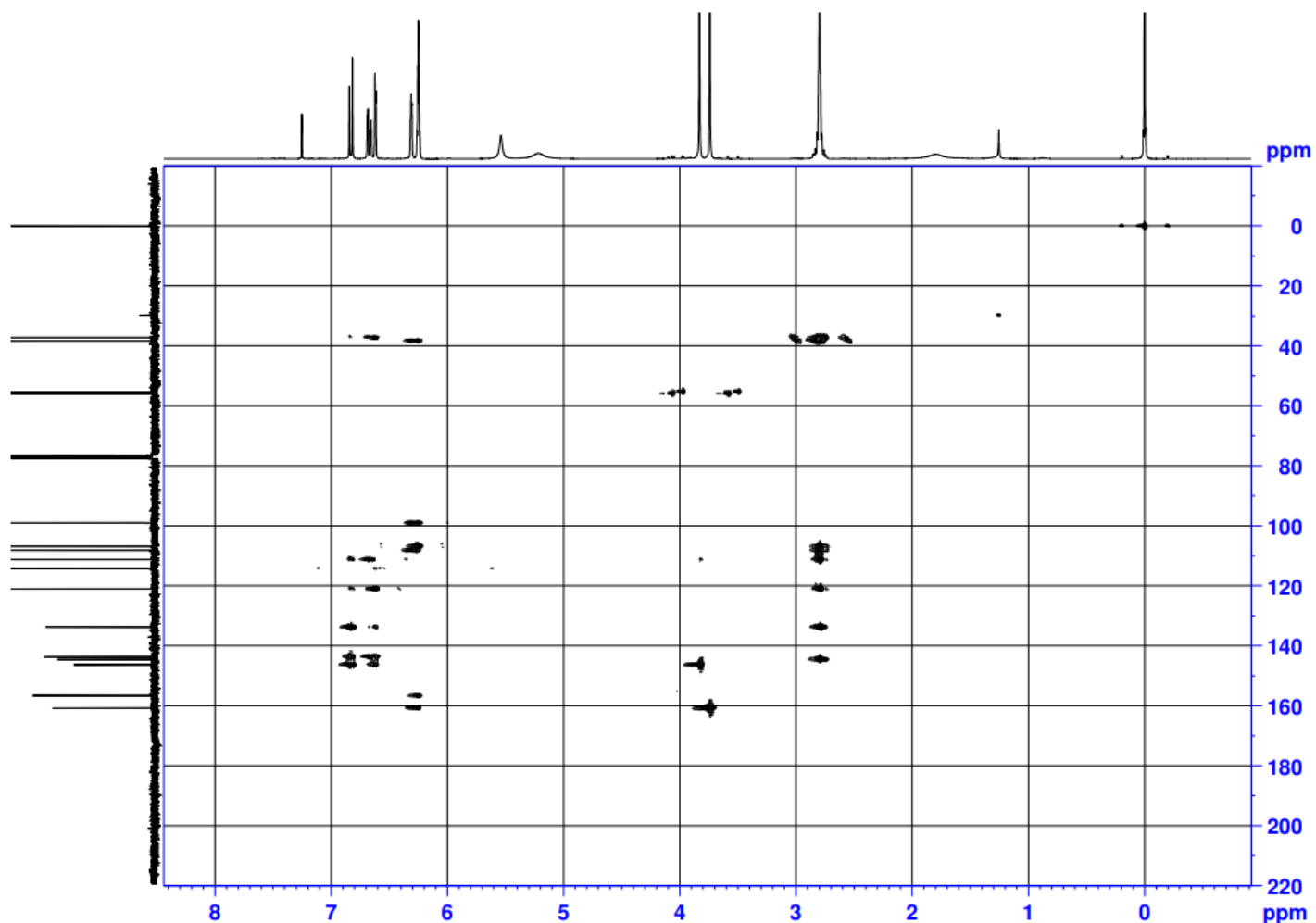
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ gigantol (DS-4)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ gigantol (DS-4)



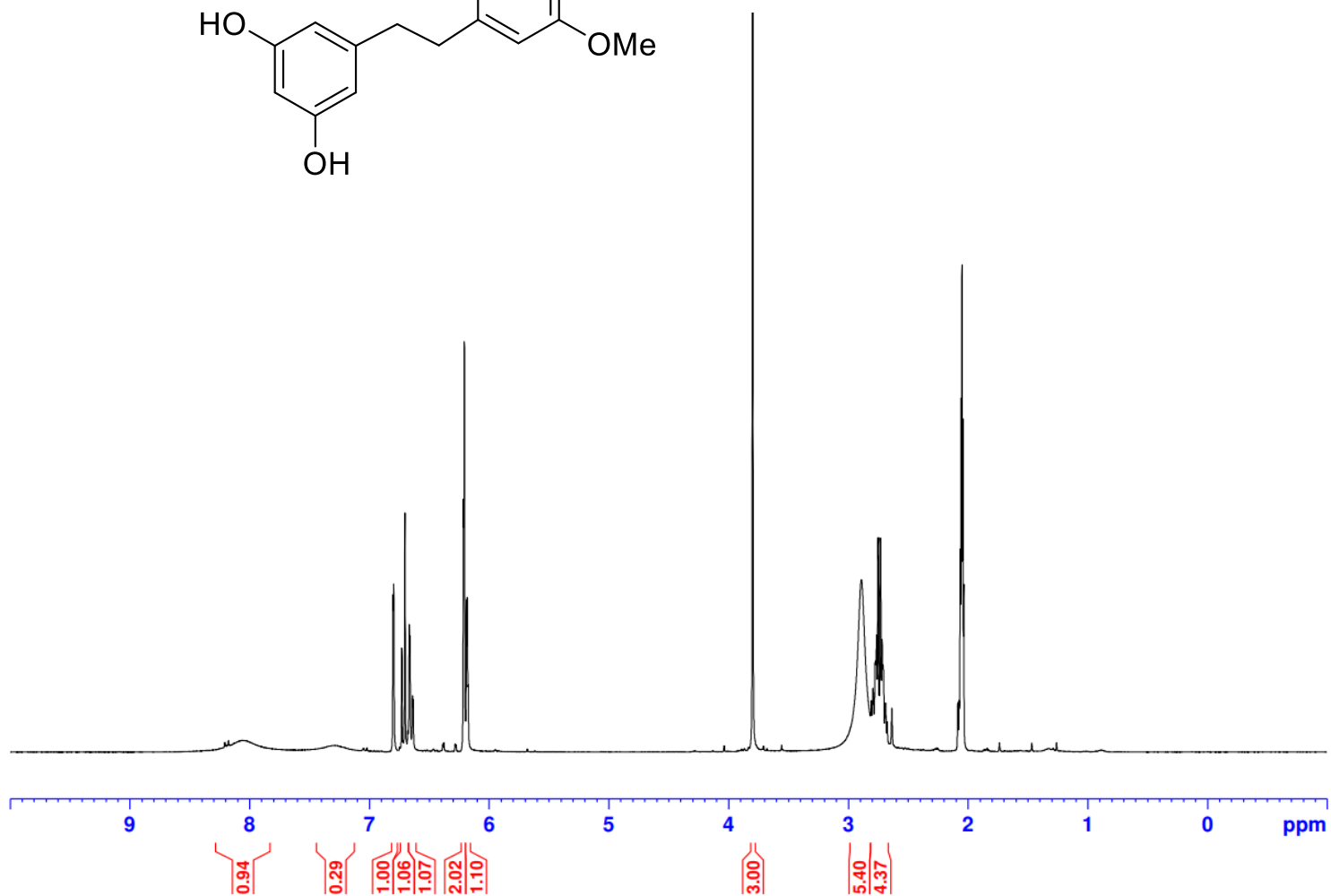
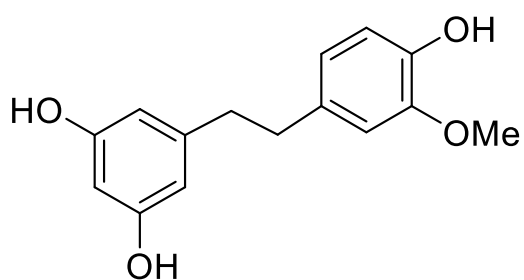
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ gigantol (DS-4)



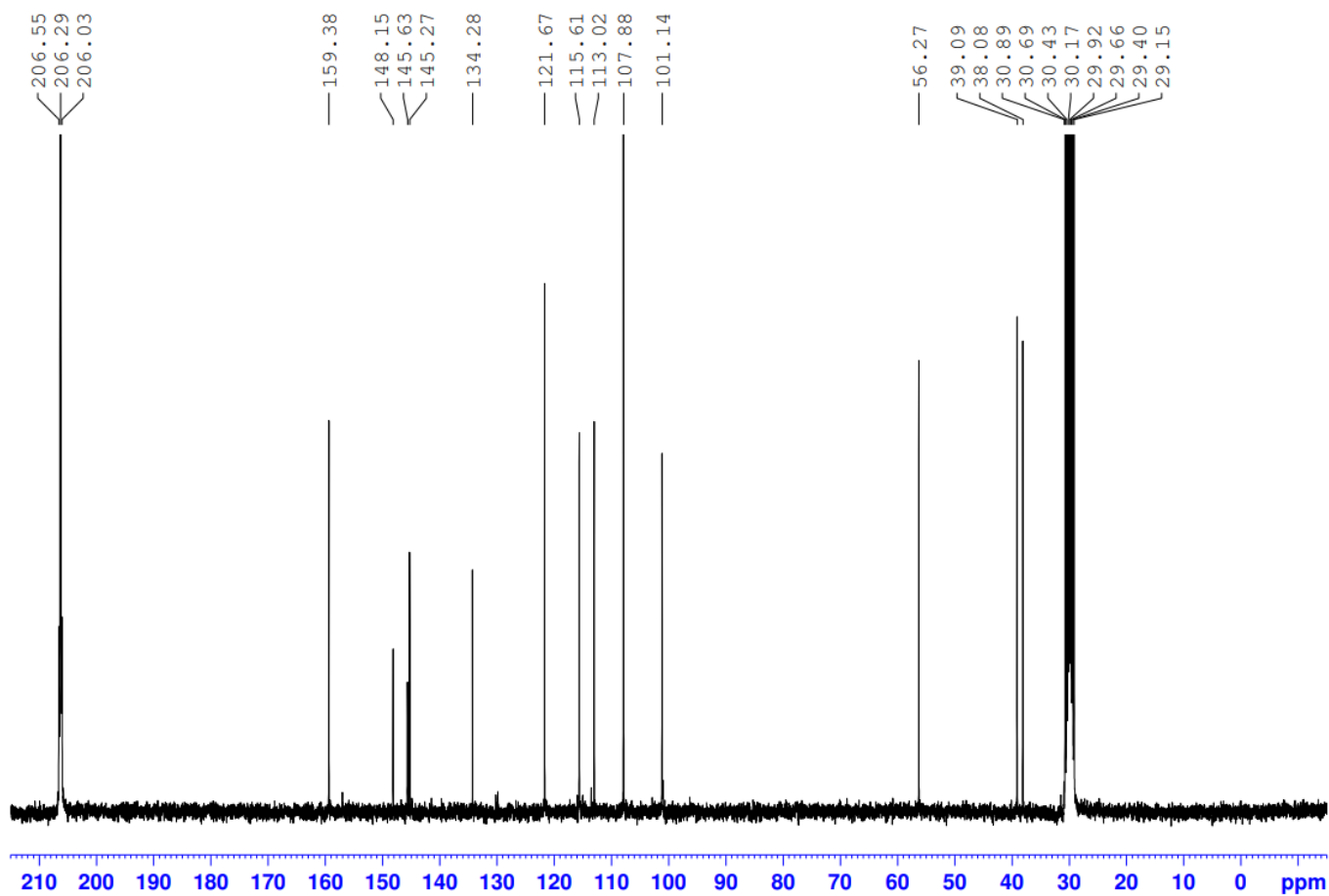
มหาวิทยาลัยศิลป



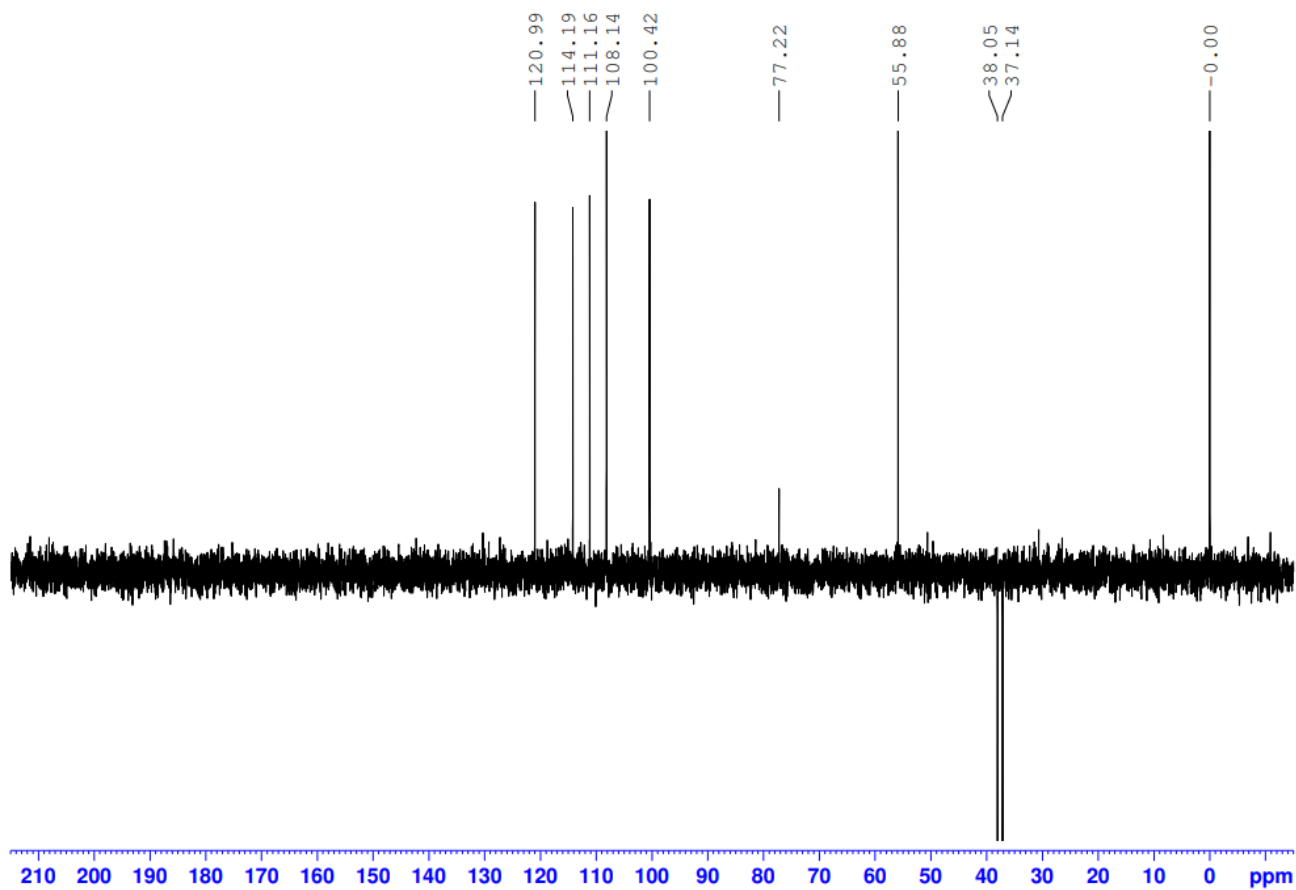
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ ของ tristin (DS-5)



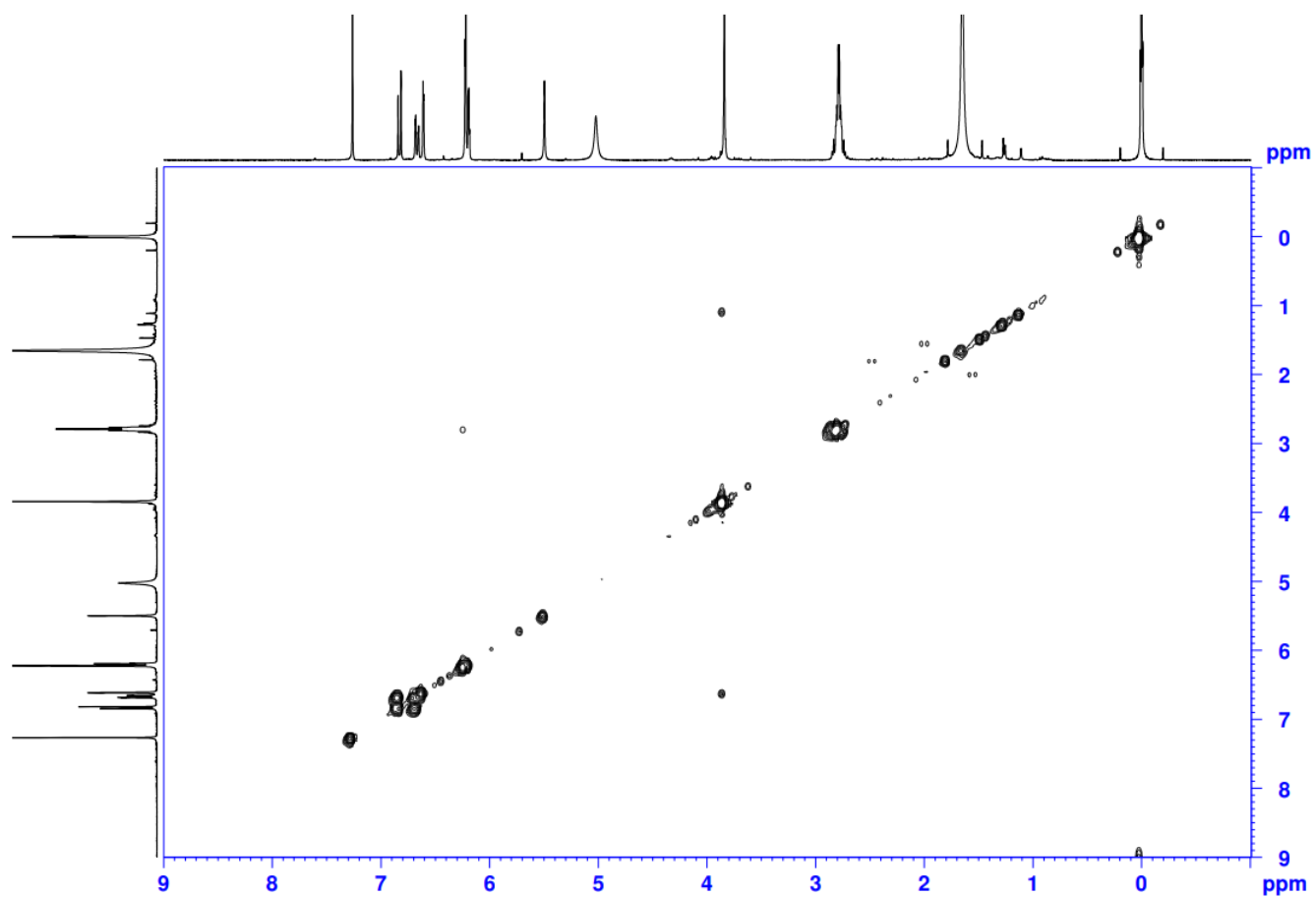
ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ tristin (DS-5)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม DEPT 135 NMR ของ tristin (DS-5)

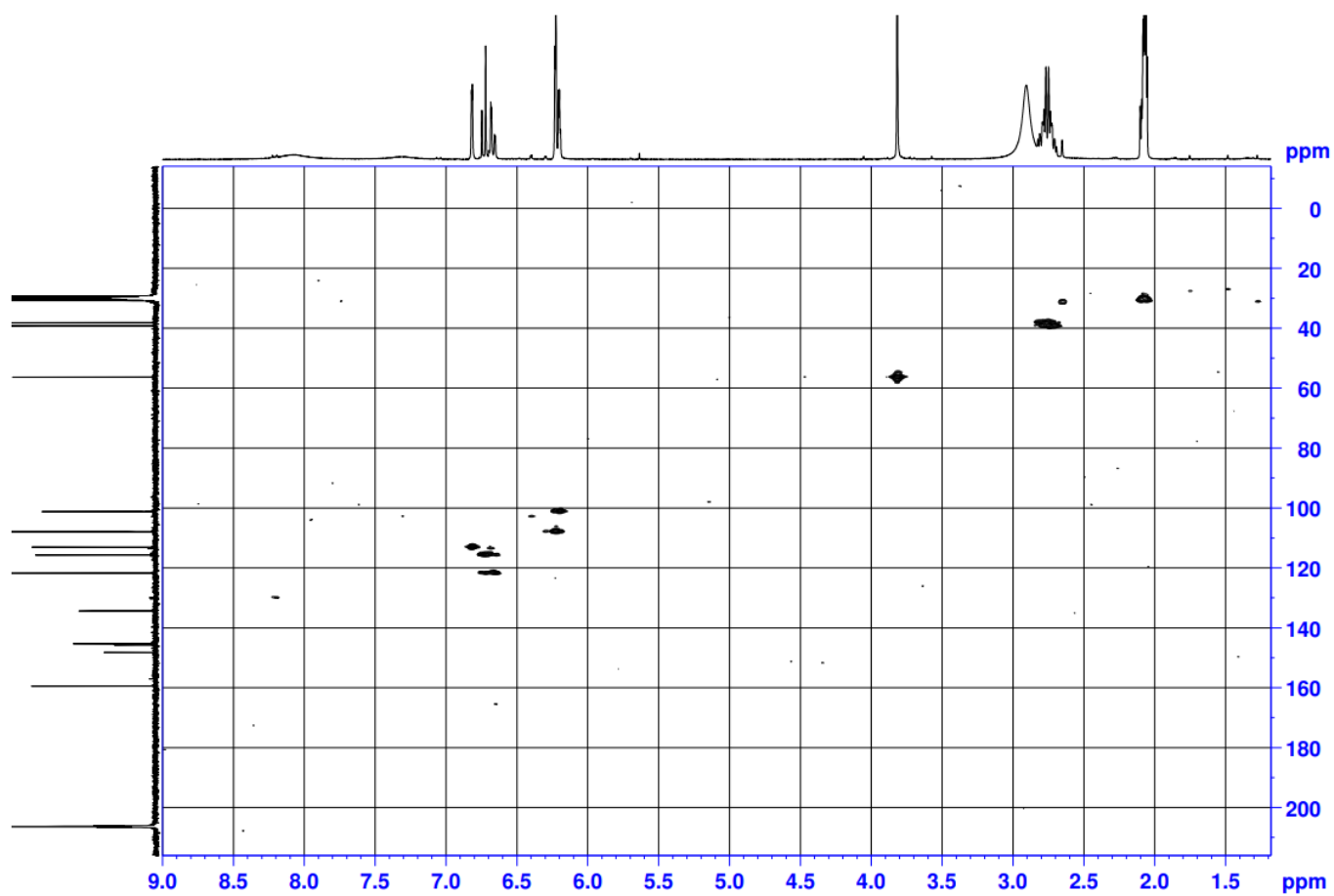


ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของ tristin (DS-5)

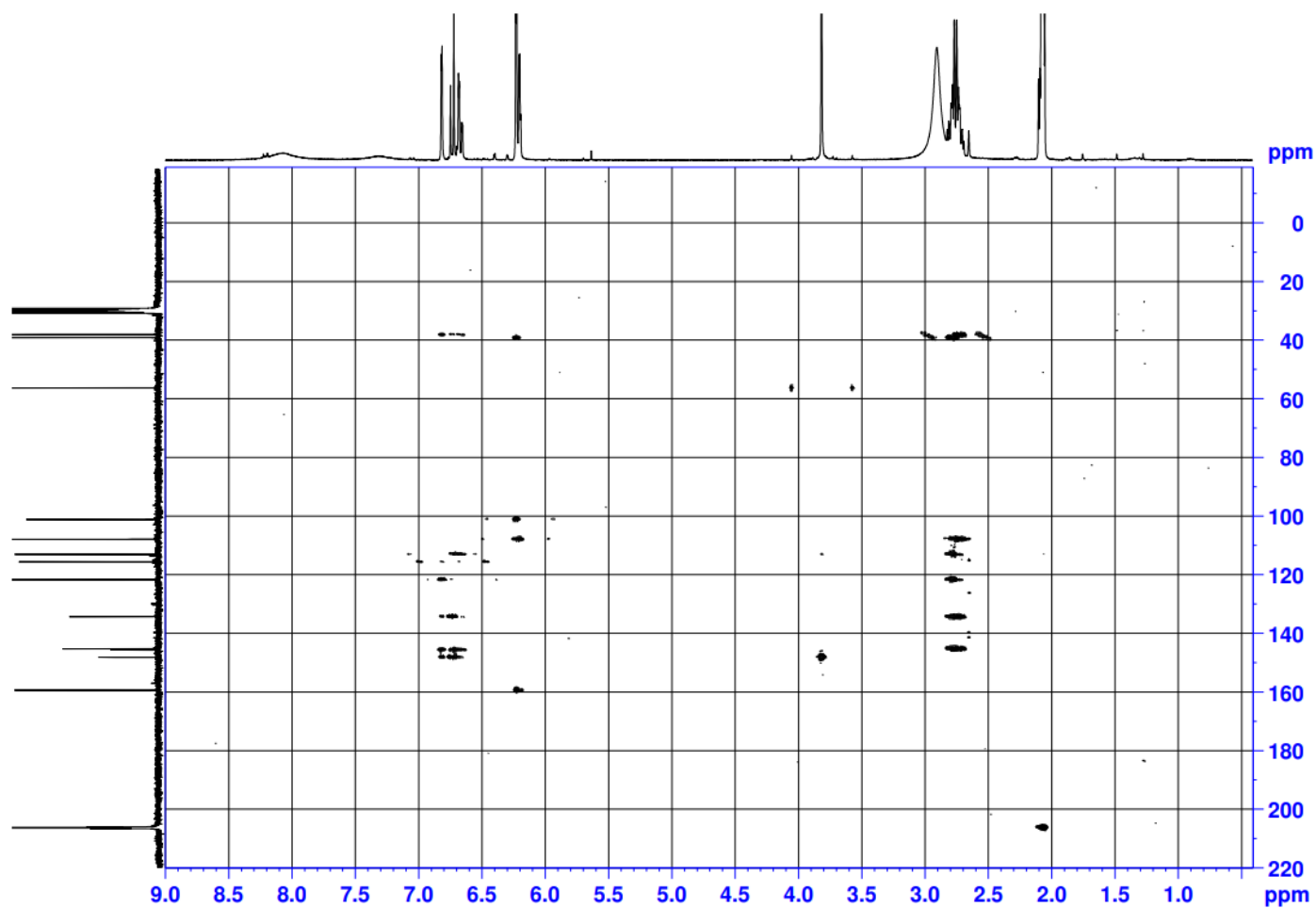


มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMQC NMR ของ tristin (DS-5)



ภาคผนวก ข แสดงสเปกตรัม HMBC NMR ของ tristin (DS-5)



มหาวิทยาลัยศิลปากร



## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-1

## Mass Spectrum SmartFormula Report

## Analysis Info

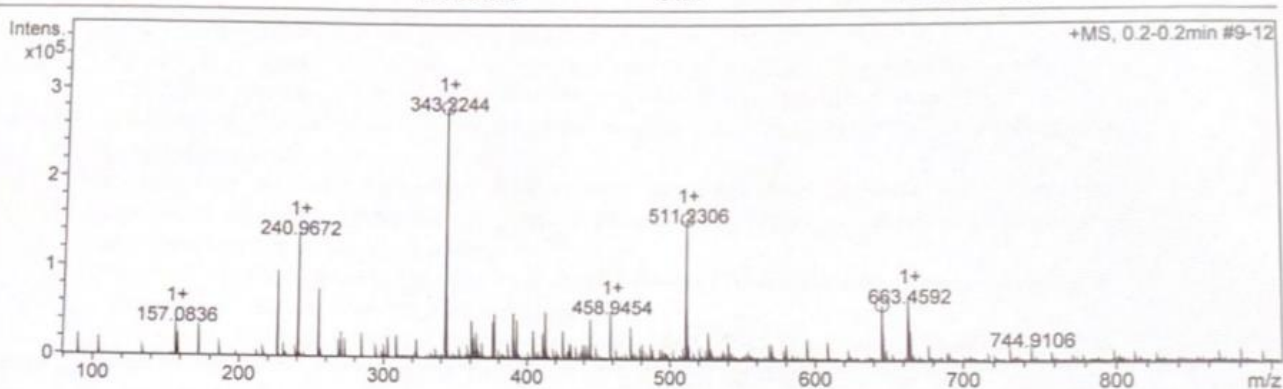
Analysis Name D:\Data\CRI\QSLP7282 Kanok-on EL-9 E+.d  
 Method Nitirat esi pos low may2019-2.m  
 Sample Name ESIPos  
 Comment

Acquisition Date 10/16/2020 4:17:35 PM

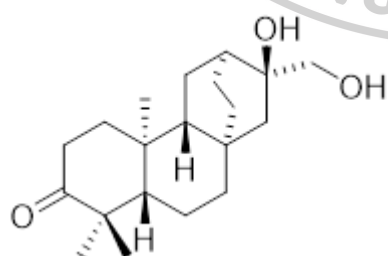
Operator BDAL@DE  
 Instrument compact 8255754.20094

## Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.6 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	3000 V	Set Dry Heater	140 °C
Scan Begin	85 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	5.3 l/min
Scan End	900 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Source
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C

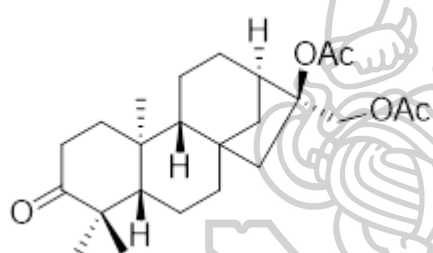
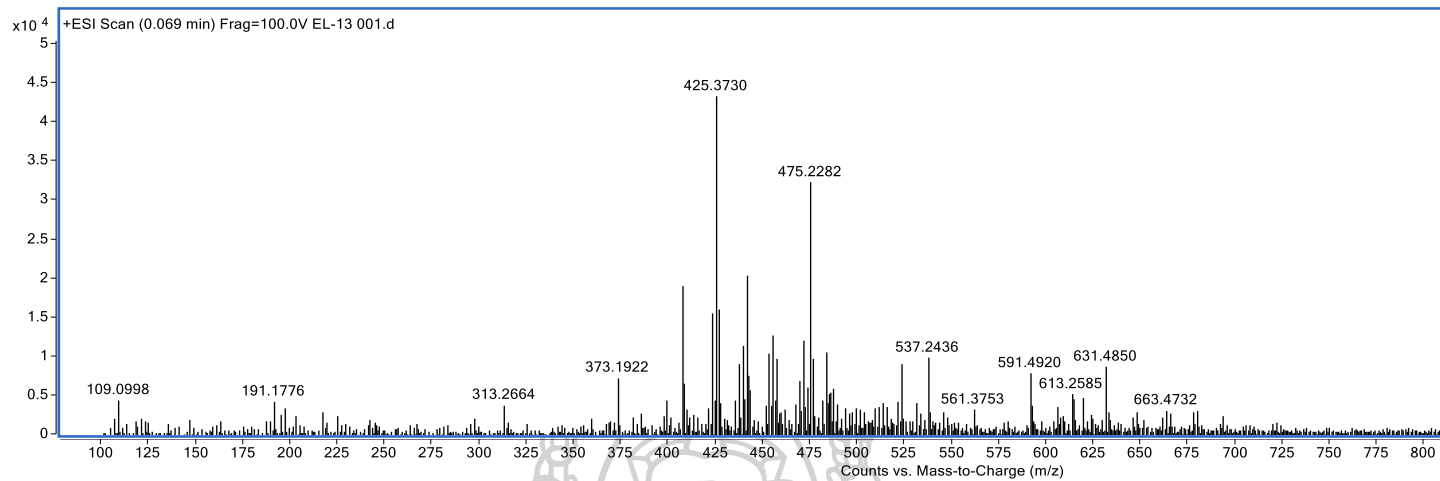


Meas. m/z #	Ion Formula	m/z	err [ppm]	Mean err [ppm]	rdB	N-Rule	e <sup>-</sup> Conf	mSigma	Std I a	Std Mean m/z	Std Var	Std I Nor	Std m/z Diff	Std Comb Dev
343.224434	1 C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> NaO <sub>3</sub>	343.224366	-0.2	0.0	4.5	ok	even	4.1	7.6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
511.230628	1 C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> NaO <sub>8</sub>	511.230239	-0.8	964.1	9.5	ok	even	7.3	10.9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C <sub>29</sub> H <sub>35</sub> O <sub>8</sub>	511.232644	3.9	963.5	12.5	ok	even	15.0	25.1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
645.448261	1 C <sub>42</sub> H <sub>61</sub> O <sub>5</sub>	645.451351	4.8	739.4	12.5	ok	even	15.2	19.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C <sub>40</sub> H <sub>62</sub> NaO <sub>5</sub>	645.448946	1.1	739.9	9.5	ok	even	20.5	26.1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	3 C <sub>49</sub> H <sub>57</sub>	645.445478	-4.3	717.4	21.5	ok	even	40.3	49.4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

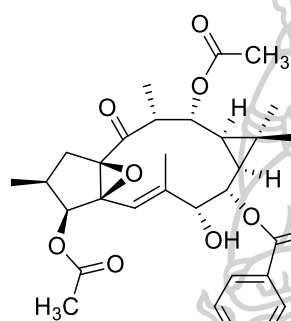
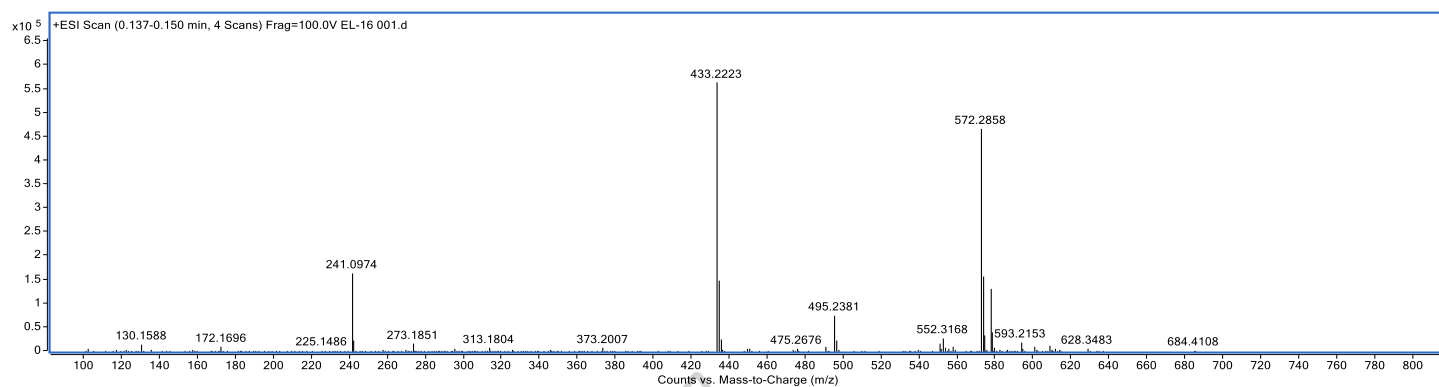
EL-1 (*ent*-16a,17-dihydroxyatisan-3-one)ESI-TOF-MS m/z 343.2244 [M+Na]<sup>+</sup>(calcd. C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>ONa, 343.2249)



## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-2

EL-2Ac (*ent*-16*S*,17-diacetylkuaran-3-one)ESI-TOF-MS  $m/z$  427.2457  $[M+Na]^+$ (calcd.  $C_{24}H_{36}O_5Na$ , 427.2460)

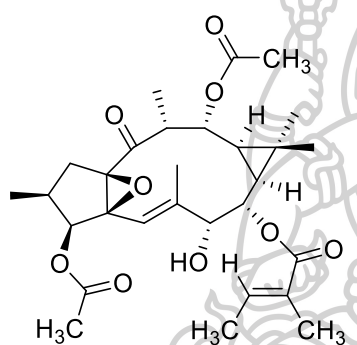
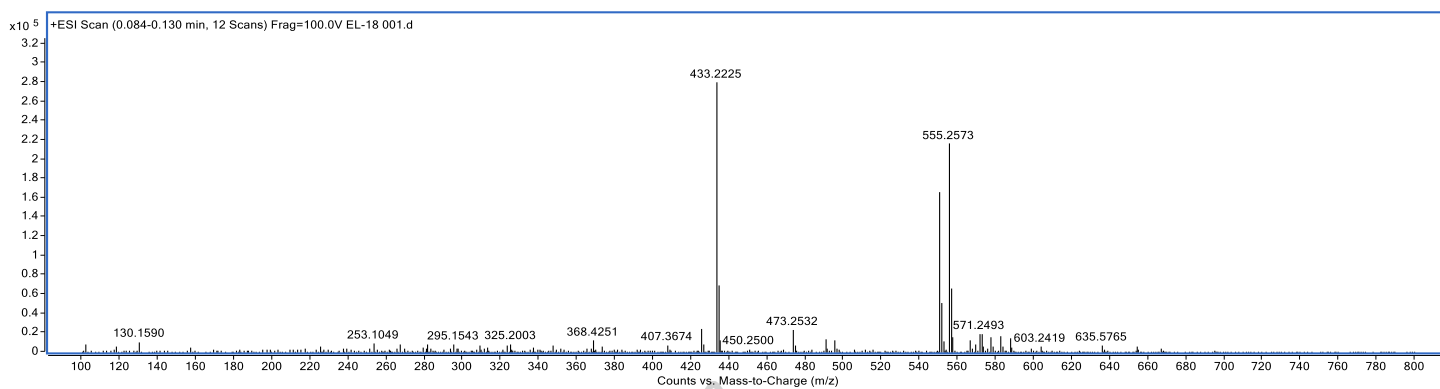
## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-3



EL-3 (3,12-diacetyl-8-benzoylingol)

ESI-TOF-MS m/z 572.2858 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>(calcd. C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>O<sub>9</sub>NH<sub>4</sub>, 572.2860)

## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-4



EL-4 (3,12-di-O-acetyl-8-O-tigloylingol)

ESI-TOF-MS  $m/z$  555.2570  $[M+Na]^+$ (calcd.  $C_{29}H_{40}O_9Na$ , 555.2573)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-5

## Mass Spectrum List Report

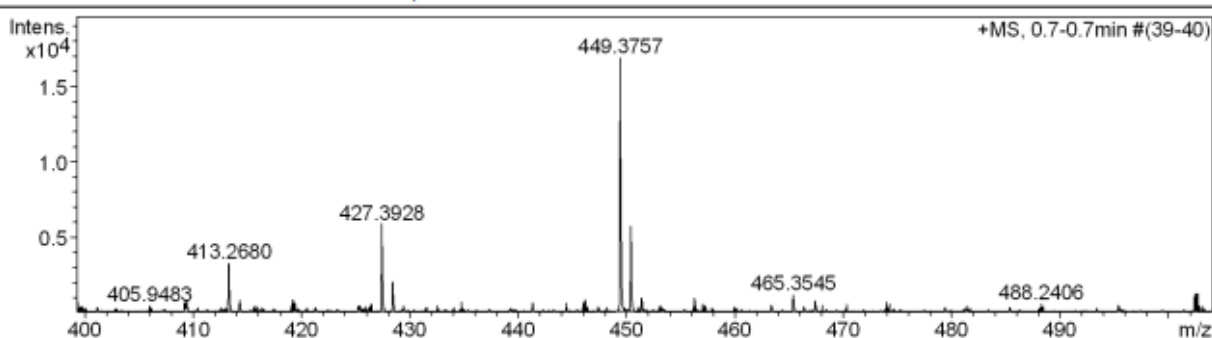
### Analysis Info

Analysis Name OSSSUJJ12112019001\_1.d  
 Method Tune\_low\_1\_POS\_2019.m  
 Sample Name EL-1  
 EL-1

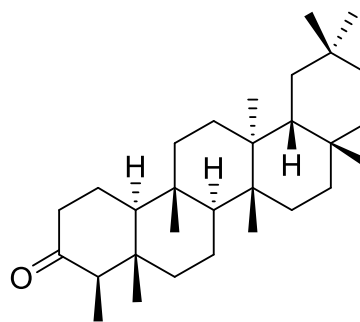
Acquisition Date 11/12/2019 9:13:26 AM  
 Operator Administrator  
 Instrument micrOTOF 72

### Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Corrector Fill	50 V
Scan Range	n/a	Capillary Exit	150.0 V	Set Pulsar Pull	337 V
Scan Begin	50 m/z	Hexapole RF	150.0 V	Set Pulsar Push	337 V
Scan End	3000 m/z	Skimmer 1	45.0 V	Set Reflector	1300 V
		Hexapole 1	24.3 V	Set Flight Tube	9000 V
				Set Detector TOF	2295 V



#	m/z	I	I %	S/N	Res.
1	401.1250	395	2.3	3.6	4786
2	405.9483	443	2.6	4.6	25242
3	410.3854	318	1.9	3.3	7094
4	413.2680	3221	19.1	33.5	4788
5	414.2696	799	4.7	8.3	4350
6	415.6565	422	2.5	4.4	23762
7	421.2443	318	1.9	3.3	3642
8	425.3613	449	2.7	4.7	4542
9	426.3521	528	3.1	5.5	21620
10	427.3928	5857	34.8	61.5	4973
11	428.3989	2034	12.1	21.4	4718
12	434.7231	677	4.0	7.1	33654
13	441.3040	638	3.8	6.8	3960
14	444.4214	613	3.6	6.5	5726
15	447.3517	329	2.0	3.5	4361
16	448.1120	327	1.9	3.5	30983
17	449.3757	16824	100.0	178.9	4915
18	450.3776	5712	34.0	60.8	4886
19	451.3809	964	5.7	10.3	3828
20	453.0642	452	2.7	4.8	17765
21	456.2318	951	5.7	10.2	27841
22	456.9782	538	3.2	5.8	33078
23	459.9102	370	2.2	4.0	32464
24	463.3489	469	2.8	5.0	4639
25	465.3545	1161	6.9	12.5	4265
26	467.3793	709	4.2	7.6	3547
27	473.9528	676	4.0	7.3	30333
28	479.3758	310	1.8	3.4	4332
29	488.2406	556	3.3	6.0	19943
30	502.4428	1247	7.4	13.7	22397



EL-5 (Friedelin)

ESI-TOF-MS m/z 449.3757 [M+Na]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O Na, 449.3759)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-6

## Mass Spectrum List Report

### Analysis Info

Analysis Name OSSSUJJ12112019004.d  
 Method Tune\_low\_1\_POS\_2019.m  
 Sample Name EL-4  
 EL-4

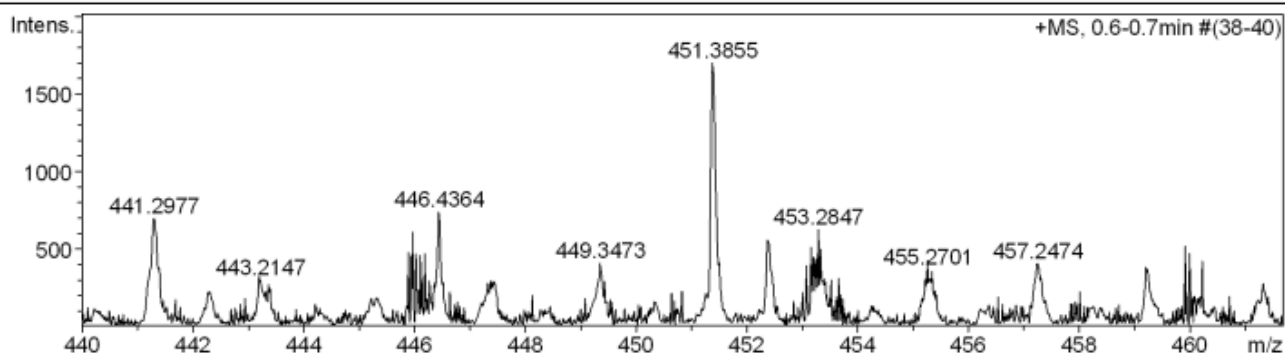
Acquisition Date 11/12/2019 9:25:04 AM  
 Operator Administrator  
 Instrument micrOTOF 72

### Acquisition Parameter

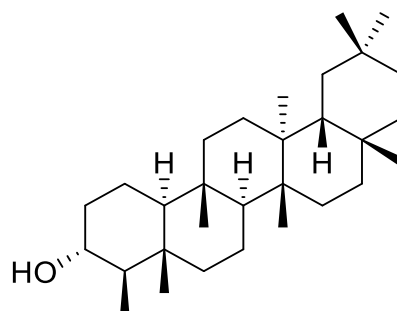
Source Type ESI  
 Scan Range n/a  
 Scan Begin 50 m/z  
 Scan End 3000 m/z

Ion Polarity Positive  
 Capillary Exit 130.0 V  
 Hexapole RF 150.0 V  
 Skimmer 1 45.0 V  
 Hexapole 1 24.3 V

Set Corrector Fill 50 V  
 Set Pulsar Pull 337 V  
 Set Pulsar Push 337 V  
 Set Reflector 1300 V  
 Set Flight Tube 9000 V  
 Set Detector TOF 2295 V



#	m/z	I	I %	S/N	Res.
1	441.2977	642	39.1	7.1	3364
2	443.2147	303	18.5	2.7	2844
3	444.2293	44	2.7	0.5	7009
4	445.3143	131	8.0	1.5	2930
5	445.9672	555	33.8	6.2	22423
6	446.4364	682	41.5	7.6	6072
7	447.4099	234	14.2	2.6	2705
8	448.0383	44	2.7	0.5	37624
9	449.0834	126	7.7	1.4	35258
10	449.3473	353	21.5	3.9	3827
11	450.6421	160	9.8	1.8	36784
12	450.8126	172	10.5	1.9	26983
13	451.3855	1642	100.0	18.3	4614
14	452.3893	486	29.6	5.4	4237
15	453.2847	570	34.7	6.4	18004
16	454.2729	76	4.6	0.9	3378
17	455.2701	370	22.5	4.1	4450
18	456.3456	75	4.6	0.8	6192
19	456.6478	12	0.7	0.1	58469
20	457.2474	349	21.2	3.9	2925
21	457.9578	78	4.8	0.9	29443
22	460.2006	98	6.0	1.1	3015
23	460.6933	140	8.6	1.6	41814
24	461.3236	221	13.4	2.5	4791



EL-6 (Friedelan-3 $\alpha$ -ol)

ESI-TOF-MS m/z 451.3855 [M+Na]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>ONa, 451.3916)

## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-7

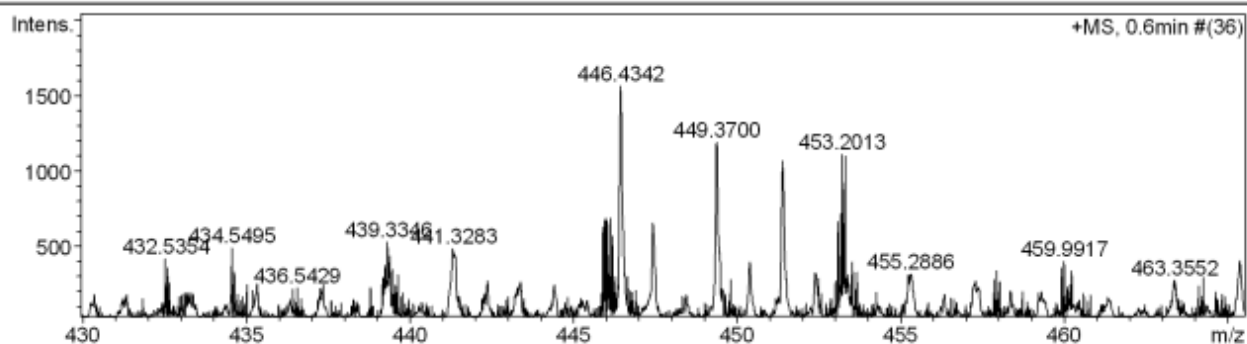
## Mass Spectrum List Report

## Analysis Info

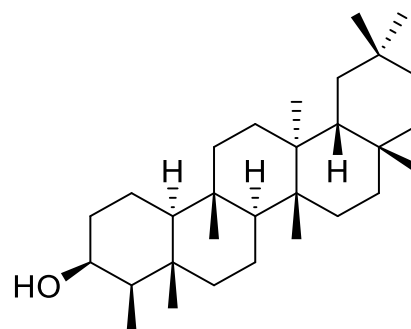
Analysis Name	OSSSUJJ12112019002.d	Acquisition Date	11/12/2019 9:16:21 AM
Method	Tune_low_1_POS_2019.m	Operator	Administrator
Sample Name	EL-2	Instrument	micrOTOF 72
	EL-2		

## Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Corrector Fill	50 V
Scan Range	n/a	Capillary Exit	180.0 V	Set Pulsar Pull	337 V
Scan Begin	50 m/z	Hexapole RF	150.0 V	Set Pulsar Push	337 V
Scan End	3000 m/z	Skimmer 1	45.0 V	Set Reflector	1300 V
		Hexapole 1	24.3 V	Set Flight Tube	9000 V
				Set Detector TOF	2295 V



#	m/z	I	I %	S/N	Res.
1	431.3152	124	8.2	1.3	6563
2	432.5354	178	11.8	1.9	23030
3	433.2503	109	7.2	1.2	4903
4	434.3637	101	6.7	0.5	5513
5	434.5495	438	29.0	4.7	28043
6	436.5429	174	11.5	1.9	35069
7	437.3111	161	10.7	1.7	3289
8	438.2535	98	6.5	1.1	26400
9	439.3346	229	15.2	2.5	5652
10	441.3283	390	25.8	4.2	33165
11	442.3512	218	14.5	2.4	5978
12	443.3407	191	12.7	2.1	3187
13	444.4053	190	12.6	2.1	4021
14	446.4342	1507	100.0	16.4	5103
15	447.4270	574	38.1	6.2	4108
16	448.3323	118	7.9	1.3	24830
17	449.3700	1137	75.4	12.4	5551
18	450.3782	343	22.8	3.7	5655
19	451.3859	1014	67.3	11.0	4582
20	452.3890	264	17.5	2.9	3834
21	453.2013	1055	70.0	11.5	24459
22	455.2886	263	17.5	2.9	3520
23	456.3153	130	8.6	1.4	5638
24	457.2503	196	13.0	2.1	2143
25	457.9343	285	18.9	3.1	33666
26	458.3546	151	10.0	1.7	7205
27	459.2838	147	9.8	1.6	3506
28	459.9917	348	23.1	3.8	24166
29	460.2056	285	18.9	3.1	20133
30	463.3552	223	14.8	2.4	3804



EL-7 (Friedelan-3β-ol)

ESI-TOF-MS m/z 446.4356 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>ONH<sub>4</sub>, 446.4362)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-8

## Mass Spectrum List Report

### Analysis Info

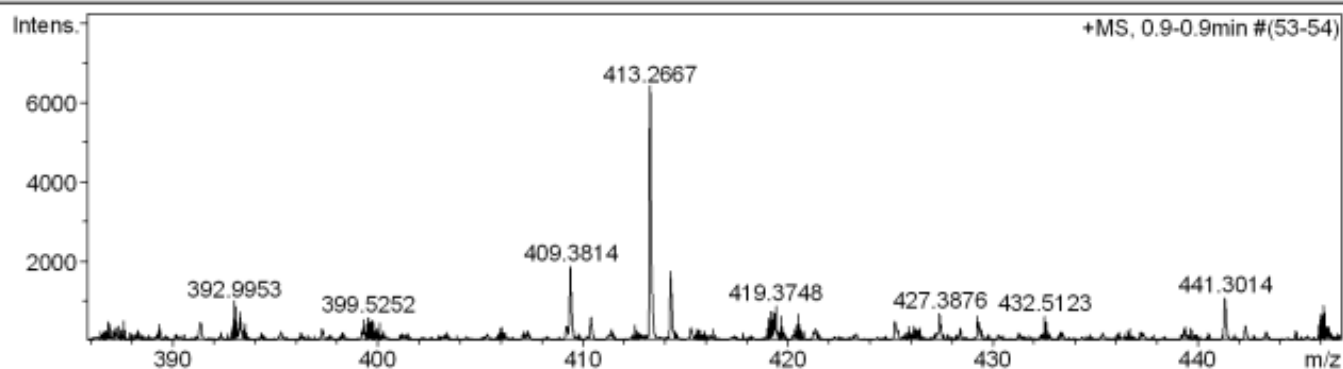
Analysis Name OSSSUJJ12112019003.d  
 Method Tune\_low\_1\_POS\_2019.m  
 Sample Name EL-3  
 EL-3

Acquisition Date 11/12/2019 9:19:15 AM  
 Operator Administrator  
 Instrument micrOTOF 72

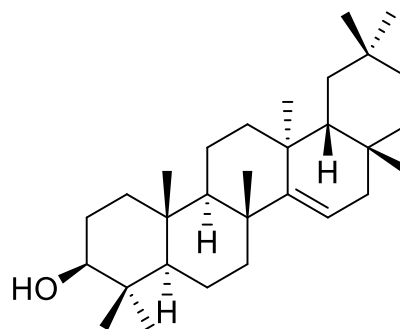
### Acquisition Parameter

Source Type ESI  
 Scan Range n/a  
 Scan Begin 50 m/z  
 Scan End 3000 m/z  
 Ion Polarity Positive  
 Capillary Exit 180.0 V  
 Hexapole RF 150.0 V  
 Skimmer 1 45.0 V  
 Hexapole 1 24.3 V

Set Corrector Fill 50 V  
 Set Pulsar Pull 337 V  
 Set Pulsar Push 337 V  
 Set Reflector 1300 V  
 Set Flight Tube 9000 V  
 Set Detector TOF 2295 V



#	m/z	I	I %	S/N	Res.
1	386.8171	454	7.1	4.9	22997
2	389.3121	372	5.8	4.1	21999
3	391.3375	422	6.6	4.6	2896
4	392.9953	971	15.2	10.6	26910
5	392.9953	971	15.2	10.6	26910
6	395.2708	195	3.1	2.1	3611
7	397.2714	264	4.1	2.9	3995
8	399.5252	548	8.6	6.0	16999
9	406.0297	292	4.6	3.2	23289
10	409.3814	1836	28.8	20.3	4997
11	410.3839	556	8.7	6.1	4403
12	411.3727	242	3.8	2.7	6499
13	413.2667	6376	100.0	70.5	4843
14	414.2714	1708	26.8	18.9	4590
15	415.2683	267	4.2	3.0	3202
16	415.6074	246	3.9	2.7	18658
17	416.3161	249	3.9	2.8	26342
18	419.3748	645	10.1	7.2	4437
19	420.4626	629	9.9	7.0	31720
20	421.2982	265	4.2	3.0	3508
21	425.2215	442	6.9	4.9	3014
22	426.1371	341	5.4	3.8	23801
23	427.3876	655	10.3	7.3	5265
24	429.2468	455	7.1	5.1	4058
25	432.5123	576	9.0	6.4	31290
26	439.3465	196	3.1	2.2	5886
27	441.3014	1041	16.3	11.7	4276
28	442.3024	328	5.1	3.7	3844
29	444.7471	216	3.4	2.4	33086
30	446.0873	848	13.3	9.6	32227



EL-8 (Taraxerol)

ESI-TOF-MS m/z 449.3768 [M+Na]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>ONa, 449.3762)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัม ของ EL-9

## Mass Spectrum SmartFormula Report

### Analysis Info

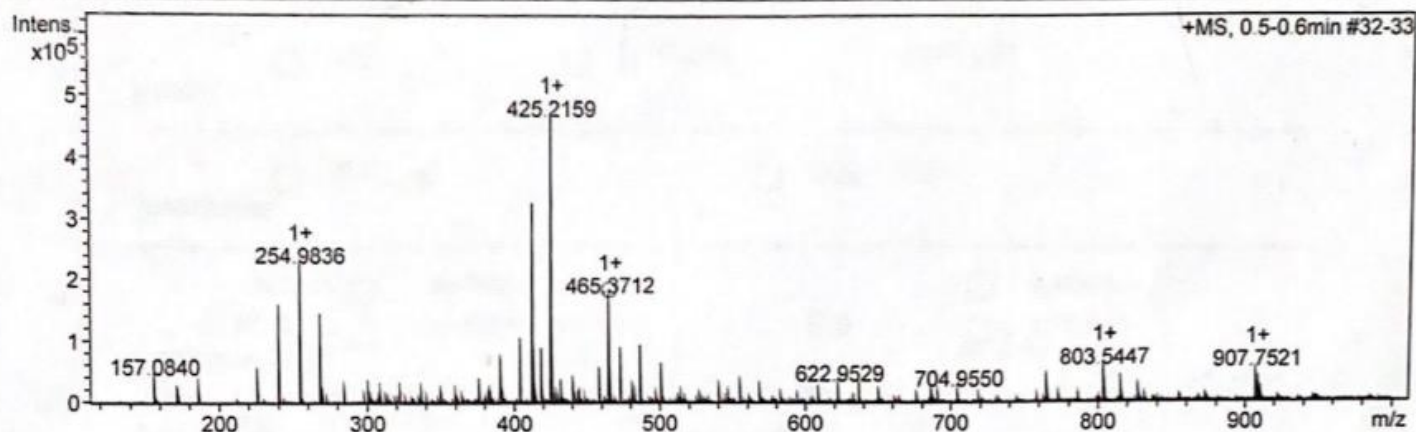
Analysis Name D:\Data\CRI\QSLP06364 Kanokorn EL-8 E+.d  
 Method Nitirat esi pos low may2019-1.m  
 Sample Name ESIPos  
 Comment

Acquisition Date 6/1/2020 4:16:14 PM

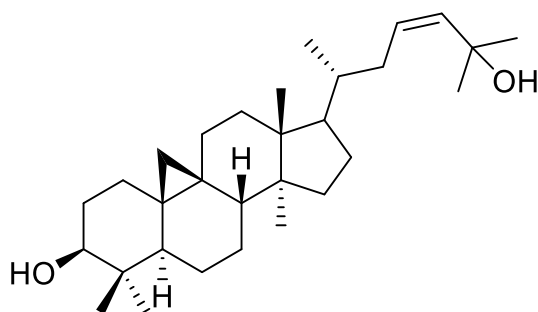
Operator BDAL@DE  
 Instrument compact 8255754.20094

### Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	3000 V	Set Dry Heater	125 °C
Scan Begin	120 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	5.5 l/min
Scan End	1000 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Source
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C

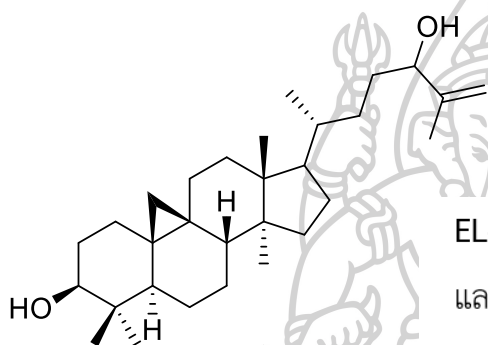
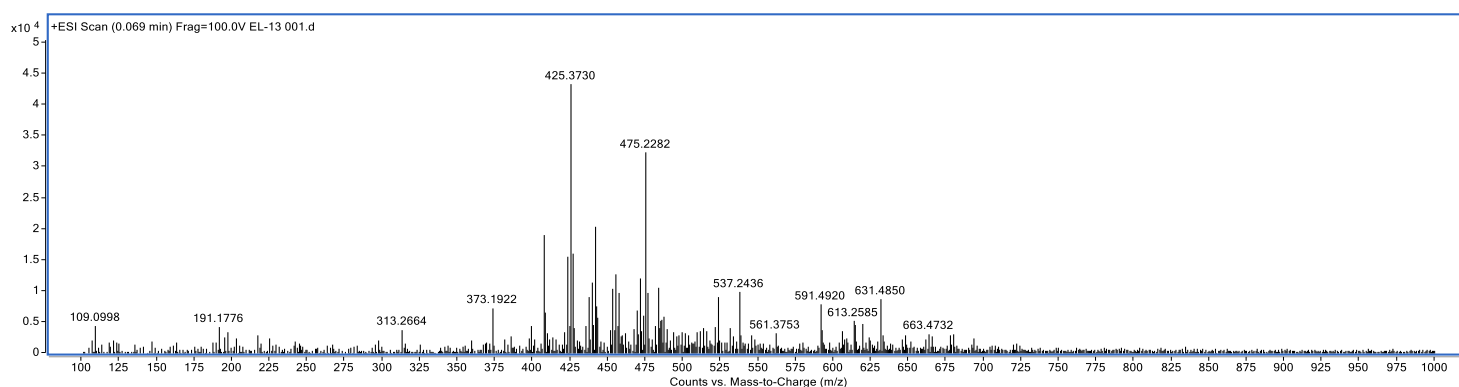


Meas. m/z # Ion Formula	m/z	err [ppm]	Mean rdb err [ppm]	N-Rule e <sup>-</sup>	Conf	mSigma	Std I a	Std Mean m/z	Std I Var	Std I Nor	Std m/z	Std Diff	Std Comb Dev
465.371218 1 C32H49O2	465.372707	3.2	1048.8	8.5	ok even	11.7	16.3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2 C30H50NaO2	465.370302	-2.0	-1.3	5.5	ok even	14.9	23.2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

EL-9 (Cycloart-23Z-ene-3 $\beta$ ,25-diol)ESI-TOF-MS m/z 465.3712 [M+Na]<sup>+</sup>(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>Na, 465.3709)



ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัมของสารผสมระหว่าง EL-10 และ EL-11



EL-10 และ EL-11 (24*R*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol

และ 24*S*-cycloart-25-ene-3 $\beta$ ,24-diol)

ESI-TOF-MS m/z 425.3730 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>O, 425.3783)



## ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัมของสารผสมระหว่าง EL-14Ac

## Mass Spectrum SmartFormula Report

## Analysis Info

Analysis Name: D:\Data\CR\I\SLP7280 Kanok-on EL10 E+.d  
 Method: Nitirat esi pos low may2019-2.m  
 Sample Name: ESIPos  
 Comment:

Acquisition Date 10/16/2020 4:13:49 PM

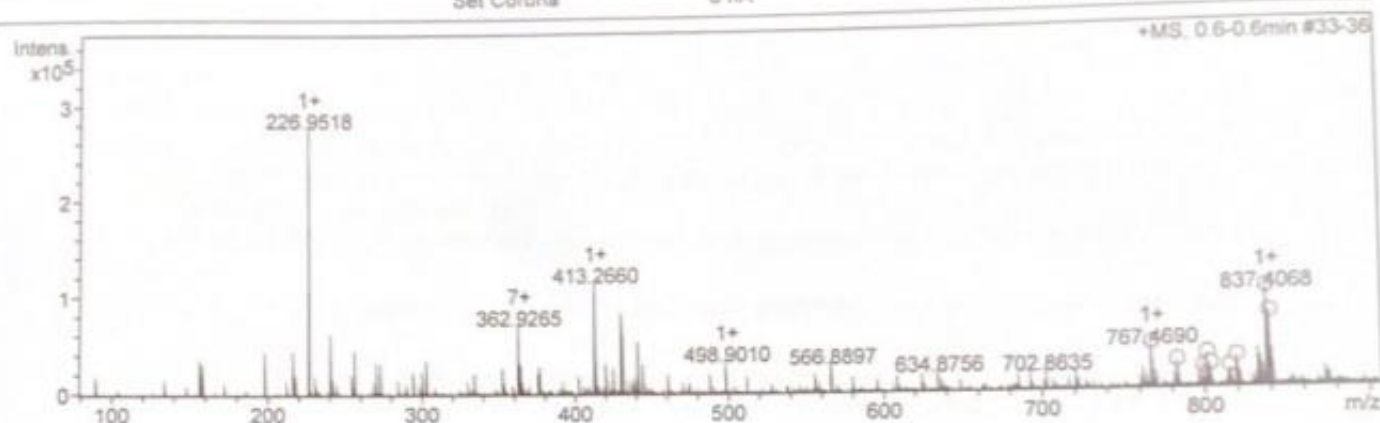
Operator: BDAL@DE  
 Instrument: compact 8255754.20094

## Acquisition Parameter

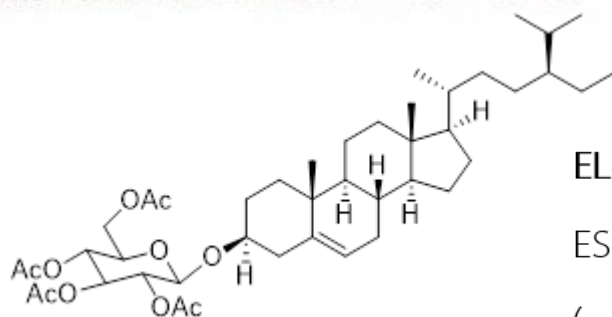
Source Type: ESI  
 Focus: Not active  
 Scan Begin: 85 m/z  
 Scan End: 850 m/z

Ion Polarity: Positive  
 Set Capillary: 3000 V  
 Set End Plate Offset: -500 V  
 Set Charging Voltage: 2000 V  
 Set Corona: 0 nA

Set Nebulizer: 0.6 Bar  
 Set Dry Heater: 140 °C  
 Set Dry Gas: 5.3 l/min  
 Set Divert Valve: Source  
 Set APCI Heater: 0 °C



Meas. m/z #	Ion Formula	m/z	err [ppm]	Mean err [ppm]	rdB	N-Rule	e <sup>-</sup> Conf	mSigma a	Std I	Std Mean m/z	Std VarNo	Std I rm	Std m/z Diff	Std Comb Dev
767.468965	1 C43H68NaO10	767.470469	2.0	618.9	9.5	ok	even	41.0	50.7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
783.462235	1 C43H68NaO11	783.465384	4.0	1057.5	9.5	ok	even	68.5	113.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C50H64NaO6	783.459510	-3.5	1042.4	18.5	ok	even	91.9	143.2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
799.458931	1 C43H68NaO12	799.460298	1.7	1035.7	9.5	ok	even	70.5	111.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C50H64NaO7	799.454425	-5.6	1021.0	18.5	ok	even	87.1	135.5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
801.431294	1 C56H58NaO3	801.427816	-4.3	569.9	27.5	ok	even	137.5	148.1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C49H62NaO8	801.433690	3.0	587.3	18.5	ok	even	139.0	156.1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
803.540566	1 C48H76NaO8	803.543240	3.3	1023.7	10.5	ok	even	79.1	123.3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C55H72NaO3	803.537367	-4.0	1010.0	19.5	ok	even	103.3	151.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
815.458335	1 C43H68NaO13	815.455213	-3.8	1011.6	9.5	ok	even	80.4	114.3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C54H64NaO5	815.464596	7.7	1004.5	22.5	ok	even	95.7	141.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
819.440088	1 C56H50NaO4	819.438381	-2.1	559.0	26.5	ok	even	140.2	150.4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C49H64NaO9	819.444254	5.1	575.9	17.5	ok	even	142.1	158.7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	3 C38H68NaO17	819.434871	-6.4	582.8	4.5	ok	even	160.5	190.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
837.406834	1 C55H58NaO6	837.412560	6.8	10.7	26.5	ok	even	311.0	293.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C44H62NaO14	837.403177	-4.4	-0.7	13.5	ok	even	328.7	324.7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	3 C37H66NaO19	837.409051	2.6	6.2	4.5	ok	even	342.1	349.6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
839.405098	1 C40H64NaO17	839.403571	-1.8	0.7	8.5	ok	even	68.9	98.1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

EL-14Ac ( $\beta$ -sitosterol glucoside acetate)ESI-TOF-MS m/z 767.4690 [M+Na]<sup>+</sup>(calcd. C<sub>43</sub>H<sub>66</sub>O<sub>10</sub>Na, 767.4710)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัมของสารผสมระหว่าง EL-15Ac

## Mass Spectrum SmartFormula Report

### Analysis Info

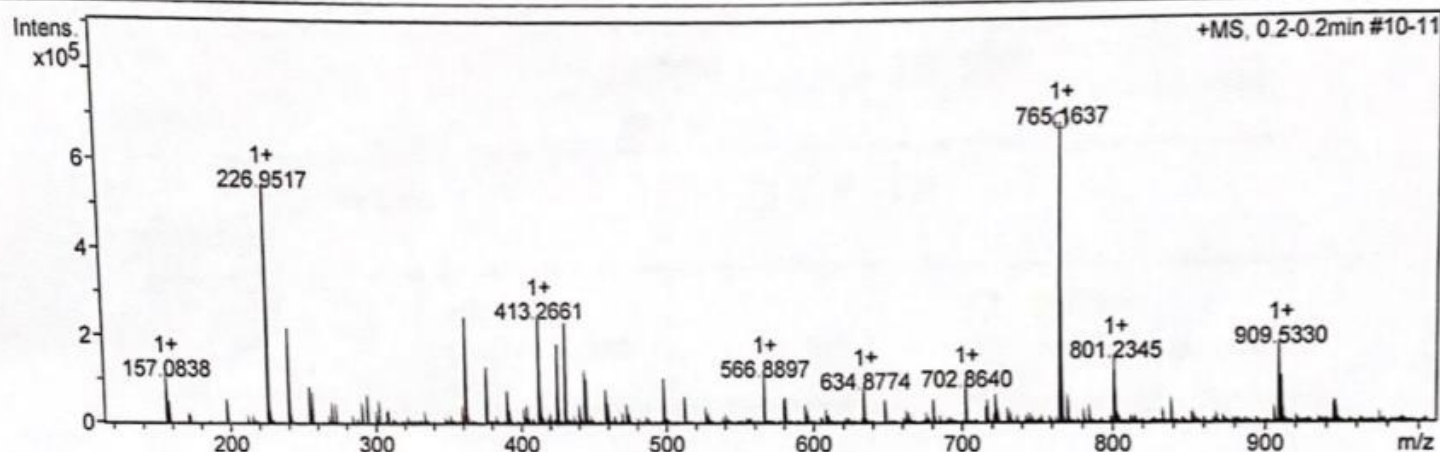
Analysis Name D:\Data\CRI\QSLP06363 Kanokorn EL-7 E+.d  
 Method Nitirat esi pos low may2019-1.m  
 Sample Name ESIpos  
 Comment

Acquisition Date 6/1/2020 4:14:56 PM

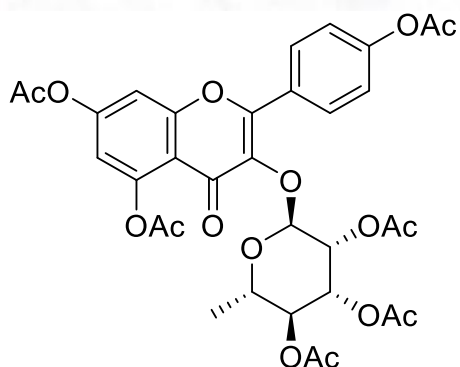
Operator BDAL@DE  
 Instrument compact 8255754.20094

### Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	3000 V	Set Dry Heater	125 °C
Scan Begin	120 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	5.5 l/min
Scan End	1000 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Source
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C



Meas. m/z #	Ion Formula	m/z	err [ppm]	Mean [ppm]	rdB	N-Rule	e <sup>-</sup> Conf	mSigm a	Std I	Std Mean m/z	Std VarNo	Std I m	Std m/z Diff	Std Comb Dev
765.163727	1 C <sub>37</sub> H <sub>33</sub> O <sub>18</sub>	765.166141	3.2	2.9	21.5		ok even	6.3	7.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	2 C <sub>35</sub> H <sub>34</sub> NaO <sub>18</sub>	765.163735	0.0	-0.3	18.5		ok even	6.7	11.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.



EL-15Ac (Afzelin acetate)

ESI-TOF-MS m/z 707.1568 [M+Na]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>Na, 707.1588)

ภาคผนวก ค HRESIMS สเปกตรัมของสารผสมระหว่าง EL-16Ac

## Mass Spectrum List Report

### Analysis Info

Analysis Name OSSSUJJ12112019005.d  
 Method Tune\_low\_1\_POS\_2019.m  
 Sample Name EL-5  
 EL-5

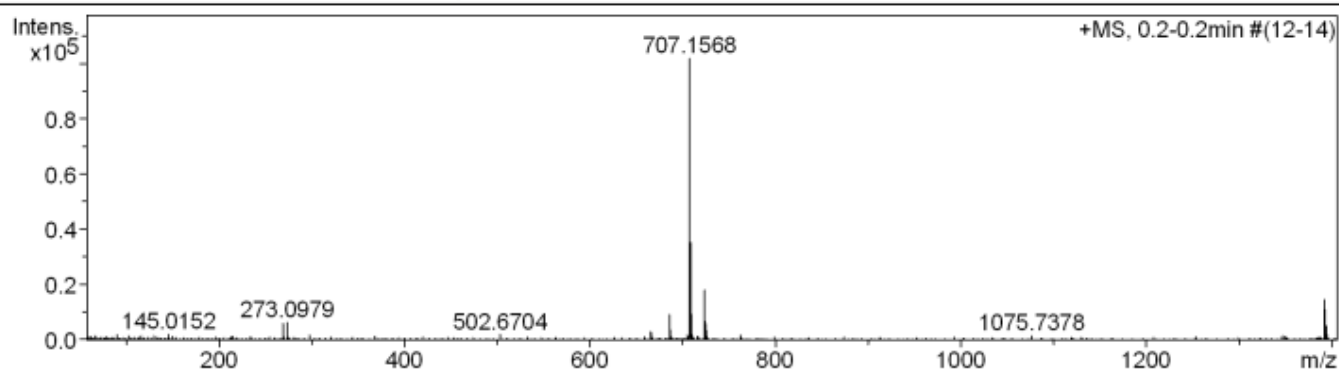
Acquisition Date 11/12/2019 9:30:01 AM  
 Operator Administrator  
 Instrument micrOTOF 72

### Acquisition Parameter

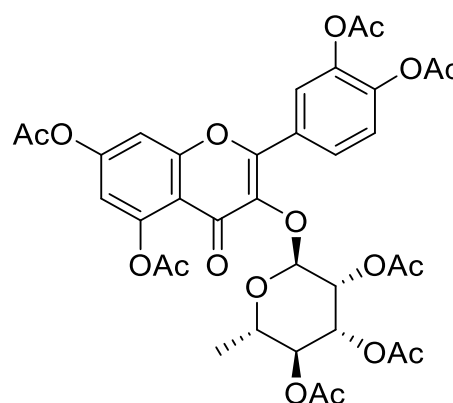
Source Type ESI  
 Scan Range n/a  
 Scan Begin 50 m/z  
 Scan End 3000 m/z

Ion Polarity Positive  
 Capillary Exit 180.0 V  
 Hexapole RF 150.0 V  
 Skimmer 1 45.0 V  
 Hexapole 1 24.3 V

Set Corrector Fill 50 V  
 Set Pulsar Pull 337 V  
 Set Pulsar Push 337 V  
 Set Reflector 1300 V  
 Set Flight Tube 9000 V  
 Set Detector TOF 2295 V



#	m/z	I	I %	S/N	Res.
1	89.2620	1799	1.8	20.2	12415
2	129.7915	1535	1.5	17.2	14534
3	144.9896	1593	1.6	17.9	6027
4	145.0152	2126	2.1	23.9	14030
5	268.1324	5973	5.9	75.1	4648
6	273.0979	6393	6.3	80.8	4584
7	296.8577	1801	1.8	23.0	21015
8	296.9167	1803	1.8	23.0	18549
9	502.6704	1916	1.9	27.2	28832
10	665.1471	2963	2.9	36.3	4644
11	685.1731	9331	9.1	113.0	4904
12	686.1778	3432	3.4	41.1	4710
13	704.1439	1798	1.8	20.8	5305
14	707.1568	101978	100.0	1211.8	4846
15	708.1595	35277	34.6	418.3	4724
16	709.1607	9254	9.1	109.1	4739
17	710.1658	1898	1.9	21.9	4247
18	723.1300	18080	17.7	210.6	4675
19	724.1354	6733	6.6	78.0	4597
20	725.1340	3346	3.3	38.4	5162
21	762.2735	1748	1.7	20.1	40813
22	1075.7378	1609	1.6	22.6	41534
23	1391.3276	14601	14.3	198.9	4782
24	1392.3281	10892	10.7	148.4	4704
25	1393.3266	5157	5.1	70.0	4775
26	1394.3221	1923	1.9	25.8	3997



EL-16Ac (Quercitrin acetate)

ESI-TOF-MS m/z 765.1637 [M+Na]<sup>+</sup>

(calcd. C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>O<sub>18</sub>Na, 765.1643)

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

จินตนา จันทร์ท่า

วุฒิการศึกษา

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

ผลงานตีพิมพ์

1. Wongprayoon, P.; Leelasart, S.; Jantham, J.; Pootaengon, Y.; Oekchuae, S.; Limpachayaporn, P.; Rayanil, K.; Charoensuksai, P., A triterpenoid friedelan-3 $\beta$ -ol isolated from *Euphorbia lactea* exhibited cytotoxic activity against HN22 cells by inducing an S-phase cell cycle arrest. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2022, 12 (10), 031-048.
2. Rayanil, K.; Sutassanawichanna, W.; Jantham, J.; Jitkaroon, W.; Obsuwan, K.; Sanongkiet, S. S., สารประกอบฟีนานทรีนและไบเบนซิลจากลำต้นของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์โจแดง และฤทธิ์ต้านการอักเสบ PHENANTHRENES AND BIBENZYLs FROM THE STEMS OF DENDROBIUM SONIA 'RED JO' AND THEIR ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY. *Journal of Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)* 2022, 14 (27), 1-12.

รางวัลที่ได้รับ

