



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการ

การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์

Chemical investigation and biological activities of

*Sesbania grandiflora* for the treatments of Alzheimer's disease

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.ดร.วรางคณา จุ่งลก

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้  
จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 60337

สัญญาเลขที่ 47/2562

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการ

การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์

Chemical investigation and biological activities of

*Sesbania grandiflora* for the treatments of Alzheimer's disease

ผศ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร.วรางคณา จุ่งลก

สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

มีนาคม 2563

## บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

### (Executive Summary)

ข้าพเจ้า อ.ดร.อนันต์ อธิพรชัย ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพาประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ (Chemical investigation and biological activities of *Sesbania grandiflora* for the treatments of Alzheimer's disease) รหัสโครงการ 60337 สัญญาเลขที่ 47/2562 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 639,900 บาท (หกแสนสามหมื่นเก้าพันเก้าร้อยบาทถ้วน)

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2561 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2562

### บทคัดย่อ

แค (*Sesbania grandiflora*) เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่วที่พบมากในประเทศไทย และมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 4 สาร คือ Oleanolic acid (1), Stigmasterol (2), Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3) และ Elaeagnoside (4) โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดทำการวิเคราะห์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี จากงานวิจัยนี้พบ Oleanolic acid (1) เป็นองค์ประกอบหลักในส่วนของดอกแค ซึ่งจากรายงานต่างๆ พบว่าสาร Oleanolic acid (1) สามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการบริโภคแคอาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

## Output / Outcome

1. ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ อยู่ระหว่างดำเนินการ จำนวน 1 เรื่อง  
Anan Athipornchai\*, Nattawat Kitsawat, Suwanna Semsri and Warangkana Chunglok.  
Bioactive compounds from *Sesbania grandiflora* flowers for Alzheimer's disease treatment (Manuscript in preparation).
2. การผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาตรี สาขาเคมี จำนวน 1 คน คือนายณัฐวัฒน์ กิจสวัสดิ์
3. ได้กระบวนการ วิธีการแยกสารบริสุทธิ์ และได้สารบริสุทธิ์ ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งพยาธิวิทยาในป้องกันโรคอัลไซเมอร์จากแค (*Sesbania grandiflora*)

## ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้พบว่า “แค” สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสารสื่อประสาท นั่นคือเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส รวมทั้งส่วนสกัดหยาบของแคทุกส่วนสกัดนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ถ้านำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริมที่เป็นสารสกัดจากแค ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลองต่อไป อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้พบว่าการบริโภค “ดอกแค” ในส่วนการนำไปปรุงเป็นอาหารก็มีโอกาสที่อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

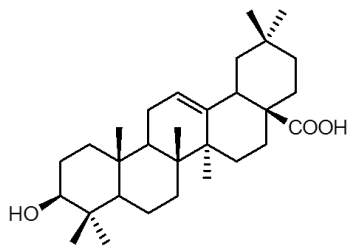
## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ รหัสโครงการ 60337 เลขที่สัญญา 47/2562

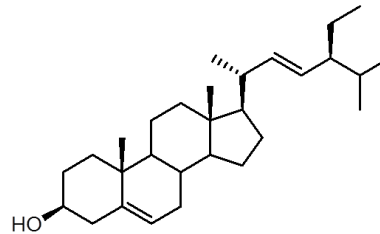
โครงการวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือด้านต่างๆ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับเงินอุดหนุนการวิจัยในโครงการวิจัยนี้

## บทคัดย่อ

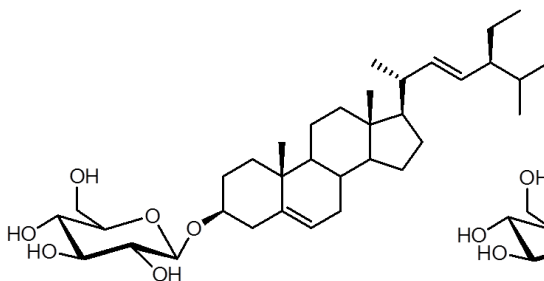
แค ( *Sesbania grandiflora* ) เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่วที่พบมากในประเทศไทยและมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 4 สาร คือ Oleanolic acid (1), Stigmasterol (2), Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3) และ Elaeagnoside (4) โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดทำการวิเคราะห์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี จากงานวิจัยนี้พบ Oleanolic acid (1) เป็นองค์ประกอบหลักในส่วนของดอกแค ซึ่งจากรายงานต่างๆ พบว่าสาร Oleanolic acid (1) สามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการบริโภคดอกแคก็มีโอกาสที่อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้



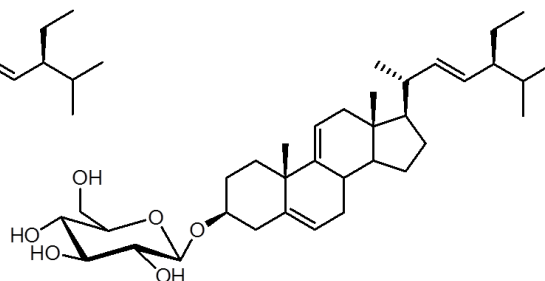
1 : Oleanolic acid



2 : Stigmasterol



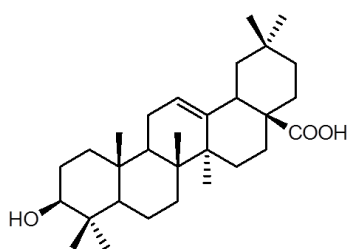
3 : Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



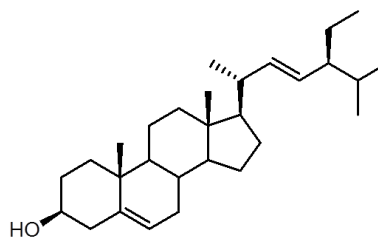
4 : Elaeagnoside

## Abstract

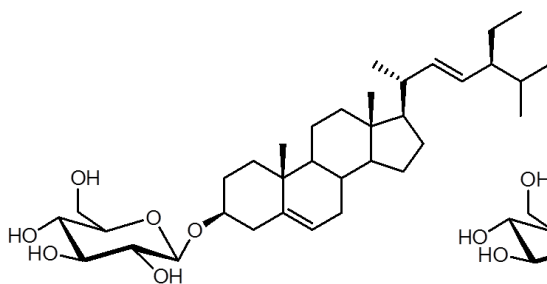
*Sesbania grandiflora* belonging to family Leguminosae commonly known as *Sesbania* is often planted for its edible flowers and pods in Thailand and tropical countries. In Thai traditional medicine, *S. grandiflora* is used in treatment of headache, migraine and colds cure fever. Therefore, this work was studied to phytochemical and biological activities of *S. grandiflora* for the treatment of Alzheimer's disease which is an important disease and more common in the elderly. The chemical investigation of *S. grandiflora* extracts using chromatographic techniques resulted in the isolation of four compounds including Oleanolic acid (1), Stigmasterol (2), Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3) and Elaeagnoside (4). All structures of the isolated pure compounds were elucidated on the basis of spectroscopic analysis. From our research found that Oleanolic acid (1) is the main constituent of *S. grandiflora* flower. According to various reports, the Oleanolic acid (1) can help prevent the occurrence of Alzheimer's disease as well. Therefore, the edible parts of *S. grandiflora* may have dietary and medicinal applications for the treatment of Alzheimer's disease.



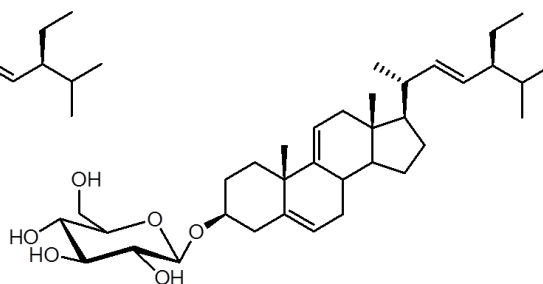
1 : Oleanolic acid



2 : Stigmasterol



3 : Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



4 : Elaeagnoside

## สารบัญ

	หน้า
<b>1. บทนำ (Introduction)</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	7
<b>2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material &amp; Method)</b>	<b>8</b>
2.1 อุปกรณ์และสารเคมี	8
2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical constituents)	8
2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมี	24
<b>3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results &amp; Discussion)</b>	<b>25</b>
3.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical constituents)	25
3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมี	39
<b>4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)</b>	<b>43</b>
ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของ ผลงานวิจัยที่ได้	44
<b>บรรณานุกรม</b>	<b>45</b>
<b>ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)</b>	<b>48</b>
<b>ภาคผนวก : ประวัติคณะผู้วิจัย</b>	<b>49</b>



## สารบัญญัตราสาร

ตารางที่		หน้า
1-1	ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด HEp2 ของสารสกัดหยาบจากใบ <i>Sesbania grandiflora</i>	5
3-1	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA	26
3-2	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-M(Sol)	27
3-3	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/17-23	27
3-4	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA	28
3-5	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/136-218	28
3-6	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-29/330	29
3-7	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/231-325	29
3-8	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-52/Soluble	29
3-9	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-53/1	30
3-10	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-53/2	30
3-11	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/670	30
3-12	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/34-39	31
3-13	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-12/Insoluble	31
3-14	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/40-47	31
3-15	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble	32
3-16	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-21/121	32
3-17	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/48-50	32
3-18	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/51-52	33
3-19	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble	33
3-20	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/1-27	33
3-21	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/42-55	34
3-22	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/56-60	34
3-23	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/61-64	34
3-24	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/53-69	35
3-25	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble	35
3-26	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/78-125	36
3-27	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/126-144	36
3-28	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186	36
3-29	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-57/1	37
3-30	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-57/6	37

## สารบัญญัตราลง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3-31	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-58/Insoluble	37
3-32	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/187-245	38
3-33	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/271-346	38
3-34	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/348	38
3-35	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-M(Insol)	39
3-36	น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28	39

## สารบัญญภาพ

รูปที่		หน้า
1-1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแค ( <i>Sesbania grandiflora</i> L.)	2
1-2	องค์ประกอบทางเคมีจากส่วนรากแค ( <i>S. grandiflora</i> L. Roots)	6
2-1	การแยกส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA]	10
2-2	การแยก fraction SG(PT)-EA-M(Sol)	10
2-3	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/17-23	11
2-4	การแยก fraction SG(PT)-EA-15/73-135	11
2-5	การแยก fraction SG(PT)-EA-15/136-218	12
2-6	การแยก fraction SG(PT)-EA-29/330	12
2-7	การแยก fraction SG(PT)-EA-15/231-325	12
2-8	การแยก fraction SG(PT)-EA-52/Soluble	13
2-9	การแยก fraction SG(PT)-EA-53/1	13
2-10	การแยก fraction SG(PT)-EA-53/2	13
2-11	การแยก fraction SG(PT)-EA-15/670	14
2-12	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/34-39	14
2-13	การแยก fraction SG(PT)-EA-15/670	14
2-14	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/40-47	15
2-15	การแยก fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble	15
2-16	การแยก fraction SG(PT)-EA-21/121	15
2-17	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/48-50	16
2-18	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/51-52	16
2-19	การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble	17
2-20	การแยก fraction SG(PT)-EA-33/1-27	17
2-21	การแยก fraction SG(PT)-EA-33/42-55	17
2-22	การแยก fraction SG(PT)-EA-33/56-60	18
2-23	การแยก fraction SG(PT)-EA-33/61-64	18
2-24	การแยก fraction SG(PT)-EA-1/53-69	19
2-25	การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble	19
2-26	การแยก fraction SG(PT)-EA-25/78-125	19
2-27	การแยก fraction SG(PT)-EA-25/126-144	20
2-28	การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186	20
2-29	การแยก fraction SG(PT)-EA-57/1	21
2-30	การแยก fraction SG(PT)-EA-57/6	21
2-31	การแยก fraction SG(PT)-EA-58/Insoluble	21
2-32	การแยก fraction SG(PT)-EA-25/187-245	22

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
2-33	การแยก fraction SG(PT)-EA-25/271-346	22
2-34	การแยก fraction SG(PT)-EA-25/348	22
2-35	การแยก fraction SG(PT)-EA-M(Insol)	23
2-36	การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28	23
3-1	โครงสร้างสารที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทของกลีบดอกแค ( <i>S. grandiflora</i> )	41

## 1. บทนำ (Introduction)

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป็นสารที่เกิดและพบตามธรรมชาติ มีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์เป็นอย่างมาก เป็นสารประกอบทางเคมีที่มีความบริสุทธิ์ อาจจะมีฤทธิ์หรือไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพก็ได้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด สารเหล่านี้ประกอบด้วย กรดอะมิโน (amino acids) กรดไขมัน (fatty acids) นิวคลีโอไทด์ (nucleotides) และน้ำตาล (sugar) เป็นต้น สารเมแทบอไลต์ปฐมภูมิมักจะเป็นสารตั้งต้น (building blocks/precursors) ในการผลิตเมแทบอไลต์ทุติยภูมิต่อไป และอีกประเภทเรียกว่า เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) พบในสิ่งมีชีวิตบางจำพวกเท่านั้นและไม่จำเป็นต่อการดำรงชีพ แต่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารนั้นๆ และอาจเป็นสารที่ใช้ในกระบวนการป้องกันตัวเองจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ อาทิ สารปฏิชีวนะ สารหอมระเหย หรือสารที่มีฤทธิ์ทางยา<sup>1</sup> ดังนั้นความหลากหลายทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับพืชสมุนไพรของประเทศไทยจึงมีความสำคัญและเป็นข้อได้เปรียบอย่างยิ่งของประเทศต่อการพัฒนาด้านการวิจัยให้เกิดการประยุกต์และนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อาทิ ยารักษาโรค อาหารเสริมสุขภาพ เครื่องสำอาง หรือแม้แต่การนำไปใช้ในทางการเกษตร เพื่อเป็นสารกำจัดศัตรูพืช หรือลดการปนเปื้อนจากสารเคมีในกระบวนการเพาะปลูกขั้นต่างๆ ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตทางการเกษตรมีคุณภาพได้มาตรฐาน โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคนและสัตว์ ดังนั้นการค้นหาพืชสมุนไพร และสารที่เป็นองค์ประกอบจากพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ นั้น จะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรที่เป็นทรัพยากรของประเทศ และยังสามารถพัฒนาพืชสมุนไพร และสารที่ค้นพบดังกล่าวนี้เพื่อนำไปสู่การเป็นยารักษาโรค หรือเป็นอาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอางได้อีกด้วย ผลดังกล่าวที่ได้จะช่วยทำให้สุขภาพของประชากรมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น และเศรษฐกิจในประเทศมีความมั่นคงมากขึ้นอีกด้วย รวมทั้งเพื่อรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพและภาวะทุพโภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังที่จะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุได้แก่ โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้อเข่าเสื่อม โรคกระดูกพรุน และโรคสมองและระบบประสาท โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะสมองเสื่อมหรือที่เรียกว่า “โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease)” เป็นต้น

ประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิภาคเขตร้อนใกล้กับเส้นศูนย์สูตร ทำให้มีพืชพรรณทางธรรมชาติมากมายหลากหลายชนิด พืชพรรณทางธรรมชาติเหล่านี้ล้วนแฝงความน่าสนใจ เพราะสิ่งที่มีซ่อนอยู่ภายในพืชพรรณทางธรรมชาติเหล่านี้เรียกว่า “สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Products)” ที่มีคุณสมบัติที่นำต่อจรรยาเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะ พืชผัก สมุนไพรนั้นมีมากมายหลากหลายชนิดที่นิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร และช่วยในการรักษาโรคได้ด้วย อาทิ สมุนไพรที่ใช้เป็นผักรับประทานและใช้ในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ก็คือพืชผักที่มีชื่อว่า “แค” มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sesbania grandiflora* L. และชื่อสามัญที่เรียกกันทั่วไปว่า Butterfly tree จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง แตกกิ่งก้านสาขามากไม่เป็นระเบียบ มีความสูงประมาณ 3-10 เมตร เนื้อไม้อ่อน ที่เปลือกต้นเป็นสีน้ำตาลปนเทา เปลือกหนาและมีรอยขรุขระ แตกเป็นสะเก็ด สามารถเจริญเติบโตได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้น เป็นต้นไม้ที่โตเร็ว สามารถปลูกได้ทุกที่ ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ออกเรียงสลับ มีใบย่อยขนาดเล็กรูปขอบขนาน ปลายใบมนกว้าง ขอบใบและแผ่นใบเรียบ ใบสีเขียว กว้างประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร ดอกมีลักษณะคล้ายดอกถั่ว ออกดอกเป็นช่อบริเวณซอกใบ 2-3 ดอก ดอกมีกลิ่นหอม ดอกเป็นสีขาวหรือสีแดง มีก้านเกสรตัวผู้สีขาวอยู่ 60 อัน กลีบเลี้ยงเป็นรูปประฆังหรือรูปถ้วย ผลมีลักษณะเป็นฝักกลมยาว มีความยาวประมาณ 8-15 เซนติเมตร ผสมเกสรโดยนก ส่วนของฝักเมื่อแก่จะแตกออกเป็น 2 ซีก และมีเมล็ดอยู่ด้านใน ฝักแคมีสีเขียวอ่อน สามารถรับประทานเป็นอาหารได้ เมล็ดของแคนี้มีลักษณะเหมือน

ลิ้ม เป็นเมล็ดกลมแป้น สีน้ำตาล โดยสรรพคุณของแค ตามตำราแพทย์แผนไทยนั้นพบว่า ใบแค จะช่วยแก้ไข้หวัดและถอนพิษไข้ แก้ไข้เปลี่ยนฤดู ตลอดจนช่วยดับพิษ และถอนพิษ ในส่วนของเปลือกต้นแค จะช่วยในการคุมธาตุ แก้บิดมูกเลือด ตลอดจนช่วยชะล้างบาดแผล และช่วยในการสมานแผลทั้งภายในและภายนอก ให้รสฝาด และส่วนของดอกแค ช่วยแก้อาการไข้เปลี่ยนฤดู ให้รสหวานเย็น และใช้เป็นยาแก้อาการปวดศีรษะข้างเดียวหรือ "ไมเกรน" ได้ดีมาก โดยวิธีการที่ใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ของ แค ตามภูมิปัญญาชาวบ้านนั้น ก็คือการนำส่วนต่างๆ ของแคมาทำเป็นอาหารรับประทานนั่นเอง โดยส่วนที่นิยมรับประทานก็คือ ยอดอ่อนและดอก โดยนำมา ลวกจิ้มกับน้ำพริกกะปิ ต้มจืดกับซี่โครงหมู ผัดกุ้งสด แกงส้ม หรือแกงเหลือง เป็นต้น<sup>2-4</sup>



รูปที่ 1-1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแค (*Sesbania grandiflora* L.)<sup>3,4</sup>

อีกทั้งในปีที่ผ่านมากระทรวงสาธารณสุขได้รายงานว่าการประเทศไทยกำลังจะก้าวเข้าสู่การเป็นสังคมผู้สูงอายุ (Aged Society) ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยมีประชากรทั้งหมดประมาณ 64.5 ล้านคน เป็นผู้สูงอายุที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป จำนวน 9.4 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 14.5 ของประชากร โดยเพิ่มขึ้นปีละประมาณ 5 แสนคน และคาดว่าภายในปี พ.ศ. 2568 ประเทศไทยจะก้าวเข้าสู่การเป็นสังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ โดยจะมีประชากรประมาณ 14.4 ล้านคนหรือเพิ่มขึ้นเกินร้อยละ 20 ของประชากรทั้งหมด กล่าวคือจะมีผู้สูงอายุ 1 คน ในประชากรทุกๆ 5 คนนั่นเอง จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะส่งผลถึงการที่เราต้องเตรียมพร้อมไปกับภาวะต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะทุพโภชนาการและโรคต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยโรคที่พบบ่อยในผู้สูงอายุได้แก่ โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้อเข่าเสื่อม โรคกระดูกพรุน และโรคสมองและระบบประสาท โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกี่ยวกับภาวะสมองเสื่อมหรือที่เรียกว่า “โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease)” โรคนี้จะพบบ่อยในผู้สูงอายุ และไม่มียาที่จะสามารถรักษาได้หายขาด เป็นเพียงแค่การชะลออาการไม่ให้เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยาที่ใช้ในรักษานั้นยังคงมีราคาแพง ทำให้ในปัจจุบันนี้นักวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาหาตัวยาใหม่ๆ ที่ใช้ในการรักษาภาวะสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์กันมากขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นปัจจุบันนี้ประชาชนยังหันมาสนใจดูแลสุขภาพร่างกายกันมากขึ้น โดยการใช้ยาสมุนไพรเพื่อการรักษาโรคหรือการบริโภคสมุนไพรเพื่อเป็นอาหาร และการใช้ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่มาจากธรรมชาติมีมากขึ้น ก็อาจเป็นเพราะว่าผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาตินั้นไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และส่งผลข้างเคียงต่อสุขภาพน้อยมากนั่นเอง<sup>5,6</sup>

จากปัญหาด้านสาธารณสุขของไทยที่กำลังจะก้าวเข้าสู่การเป็นสังคมผู้สูงอายุ ซึ่งต้องเตรียมพร้อมไปกับภาวะต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะทุพโภชนาการและโรคต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ และจากประโยชน์ดังกล่าวของ “แค” (*Sesbania grandiflora* L.) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแค สำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบบ่อยในผู้สูงอายุ และเพื่อนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนและองค์ประกอบทางเคมีที่ออก



ฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ งานวิจัยนี้ยังเป็นการศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ผัก ผลไม้ และสมุนไพรไทยเพื่อเป็นประโยชน์ในด้านอาหารเสริมสุขภาพ หรือแม้กระทั่งการค้นพบยาชนิดใหม่ รวมทั้งเพื่อใช้ในการรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อ สุขภาพและภาวะทุพโภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังทั้งหลายที่มีผลต่อสุขภาพของผู้สูงอายุ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้ส่วนต่างๆ ของ แคน ในตำรายาไทยเพื่อบำบัดการรักษาโรคซึ่งเป็นภูมิปัญญาไทยที่สำคัญต่อการพัฒนาประเทศในยุคของประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (AEC) อีกด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาทางเคมีในแง่ต่างๆ อาทิ การศึกษาการสกัด การแยก การทำให้สารบริสุทธิ์ และการวิเคราะห์โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมี รวมทั้งเพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งพยาธิวิทยาต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิดที่ก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ คือ เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสจากส่วนที่กินได้ของแคน (*Sesbania grandiflora*) คือส่วนยอดอ่อนและส่วนดอก อีกทั้งเพื่อนำความรู้ที่ได้ไปแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์กับผู้สนใจทั่วไปทั้งภาครัฐและเอกชนหรืออุตสาหกรรม เพื่อนำไปประยุกต์และปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และสร้างองค์ความรู้ด้านการงานวิจัยให้แก่บัณฑิต รวมทั้งผลิตและตีพิมพ์ผลงานวิจัยร่วมกับบัณฑิตคณาจารย์ในวารสารระดับนานาชาติที่เป็นที่ยอมรับ

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ทำการศึกษาทางเคมีต่างๆ โดยทำการสกัดส่วนที่กินได้ของแคน (*S. grandiflora* L.) คือยอดอ่อน (Shoots) และดอก (Flowers) และศึกษาองค์ประกอบทางเคมี โดยการแยก (Separation) การทำให้บริสุทธิ์ (Purification) และการพิสูจน์ยืนยันโครงสร้าง (Identification) ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Structure-Activity Relationship) ด้วย
2. ทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งพยาธิวิทยาต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิดที่ก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ คือ เอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์บางชนิดที่แยกได้จากส่วนที่กินได้ของแคน (*S. grandiflora* L.) คือยอดอ่อน และส่วนดอก

## 1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

ปัจจุบันนี้พืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรหลากหลายชนิดกำลังได้รับความสนใจอย่างมากในการศึกษาเพื่อประโยชน์ต่อการค้นพบสารออกฤทธิ์ที่ใช้ในเครื่องสำอาง ส่วนประกอบของเครื่องสำอาง หรือแม้กระทั่งผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพและยาชนิดใหม่รวมทั้งเพื่อใช้ในการรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อ สุขภาพและภาวะทุพโภชนาการ ที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังทั้งหลายด้วย ประเทศไทยนั้นมีพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่เข้ารับประทานและใช้เป็นยารักษาโรคเป็นจำนวนมาก หนึ่งในพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่นิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร และช่วยในการรักษาโรคได้ด้วย โดยเฉพาะพืชผักที่ใช้รักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ก็คือพืชผักที่มีชื่อว่า แคน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sesbania grandiflora* จาก

รายงานทางเภสัชวิทยาของแค่นั้นพบว่า สารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากแคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง ยับยั้งเชื้อไวรัส HIV และมีฤทธิ์ป้องกันตับได้อีกด้วย

งานวิจัยนี้เป็นศึกษาการแยก การสกัด และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแค (*S. grandiflora*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) และนำองค์ประกอบทางเคมีที่ได้ไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อนำไปสู่ การค้นพบยาชนิดใหม่ รวมทั้งเพื่อใช้ในการรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพและภาวะทุพ โภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังของผู้สูงอายุ ได้แก่ โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดสมอง โรคหัวใจ โรค ความดันโลหิตสูง และโรคมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกี่ยวกับภาวะสมองเสื่อมหรือที่เรียกว่า “โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease)” เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวจะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรที่เป็น ทรัพยากรของประเทศ และยังสามารถพัฒนาพืชสมุนไพร และสารที่ค้นพบดังกล่าวนี้เพื่อนำไปสู่การเป็น ยารักษาโรค หรือเป็นอาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอางได้อีกด้วย ผลดังกล่าวที่ได้จะช่วยให้สุขภาพของ ประชากรมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น และเศรษฐกิจในประเทศมีความมั่นคงมากขึ้นอีกด้วย

จากรายงานต่างๆ ที่ผ่านมามีรายงานทางวิทยาศาสตร์น้อยมากที่ทำการศึกษาการแยก การสกัด และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแค (*S. grandiflora*) โดยเฉพาะส่วนที่ทานได้ของแค คือยอดอ่อน และส่วนดอก ดังเช่นการทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้องต่อไปนี้

ในปี 1982<sup>7</sup>, 2012<sup>8</sup> และ 2013<sup>9</sup> Fojas et al., Bahera et al. และ Raji et al. ได้รายงานการศึกษา เกี่ยวกับการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening) ของส่วนสกัดหยาบจากใบ (Leaves) และเปลือก (Bark) ของแค (*S. grandiflora*) พบสารทุติยภูมิ 4 ชนิดคือ Flavonoids, Tannin, Steroids และ Saponin

ในปี 2010<sup>10</sup> และ 2013<sup>11</sup> Laladhas et al. และ Gupta et al. ได้รายงานการศึกษาผลของโปรตีนที่ สกัดได้จากดอกแคและผลของสารสกัดหยาบชั้นต่างๆ จากเปลือกต้นของแคต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ลำไส้และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบและโปรตีนต่อเซลล์มะเร็งนั้น พบว่าโปรตีน SF2 ที่เตรียมได้มา จากดอกแคโดยการตกตะกอนด้วย 40-70% ammonium sulphate แสดงฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดี โดย การออกฤทธิ์ต่อ caspases 3, 8 และ 9 รวมทั้งยังออกฤทธิ์ต่อ poly (ADP-ribose) polymerase และ cytochrome C อีกด้วย โดยผลของโปรตีนดังกล่าวแสดงการตายของเซลล์มะเร็งแบบ apoptosis อีกด้วย

ในปี 2012<sup>12</sup> Sutradhar et al. ได้รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอาการแพ้และการออกฤทธิ์ต่อระบบ ประสาทส่วนกลางของสารสกัดหยาบ 80% เมทานอล จากส่วนต่างๆ ของแคในหนูทดลองพบว่า ส่วนสกัดจาก ใบของแคมีฤทธิ์ต้านการแพ้ และอาการเจ็บปวดในหนูได้ดีมากและดีเทียบเท่ากับยาแก้ปวดมาตรฐาน Diclofenac อีกด้วย

ในปี 2012<sup>13</sup> และ 2014<sup>14</sup> Munde-Wagh et al. และ Padmalochana et al. ได้รายงานการศึกษากการ ทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ เช่น *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis* และ *Candida sp.* ของส่วนสกัดหยาบจากดอก (Flower) และใบ (Leaves) ของแค (*S. grandiflora*) พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากดอกและใบของแคสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีเทียบเท่ากับยามาตรฐาน Penicillin, Ampicillin และ Ciprofoxacin อีกด้วย

ในปี 2014<sup>15,16</sup> Siddhuraju et al. และ Zarena et al. ได้รายงานการศึกษากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากดอกและใบของแค พบว่าสาร



สกัดหยาบจากดอกและใบของแคมีปริมาณสารประกอบ polyphenols ที่สูงและสารดังกล่าวแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการต่างๆ ได้เป็นอย่างดี

ในปี 2014<sup>17</sup> และ 2016<sup>18</sup> Karumari et al. และ Rajagopal et al. ได้รายงานการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากดอกและใบแคต่อการทดสอบฤทธิ์ฆ่าหนอนพยาธิ *Pheretima posthuma* และ *Ascaridia galli* พบว่าสารสกัดดังกล่าวออกฤทธิ์ในการฆ่าหนอนพยาธิได้ดีเทียบเท่ากับยามาตรฐาน Albendazole อีกด้วย

ในปี ค.ศ. 2015 Padmalochana และ Rajan<sup>19</sup> รายงานการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด HEp2 (Human larynx carcinoma) ด้วยวิธี MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetra-zolium bromide) ของส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ เอทานอล และอะซิโตน จากใบของ *Sesbania grandiflora* พบว่าส่วนสกัดหยาบดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด HEp2 ดีเทียบเท่ากับ Doxorubicin ที่ใช้เป็นยามาตรฐาน ดังผลการทดลองในตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด HEp2 ของสารสกัดหยาบจากใบ *Sesbania grandiflora*

concentration (µg/ml)	Cell Viability %			
	Standard Drug	Aqueous extract	Ethanol extract	Acetone extract
50	92.53±0.99*	98.12±0.9*	94.21±1.14**	96.55±1.25**
100	76.44±1.27**	92.56±1.09*	84.87±1.65**	91.82±1.64*
150	51.33±1.14*	79.78±1.25**	66.65±1.25**	65.65±1.45**
200	29.65±0.64*	57.19±1.16**	52.15±0.85***	54.25±0.82**
250	19.23±0.81**	40.54±1.15**	42.15±1.09**	45.77±1.9**
300	10.89±0.47*	26.38±0.95**	21.64±0.95***	23.61±0.95**

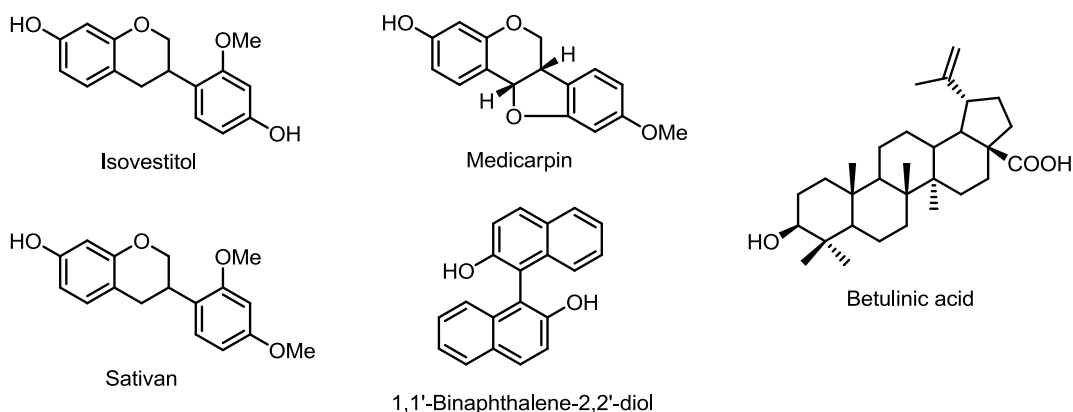
\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 value are considered statistically significant (BMRT)

ในปี ค.ศ. 2015 Sripradha และ Lakshmi<sup>20</sup> รายงานการประเมินฤทธิ์ต้านการอักเสบเรื้อรังที่มีอาการบวมตามข้อต่อ (Rheumatoid arthritis) ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจาก *Sesbania grandiflora* พบว่าสารสกัดดังกล่าวแสดงฤทธิ์ยับยั้งภาวะการเกิดโรค Rheumatoid arthritis ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Diclofenac

ในปี ค.ศ. 2016 Saifudin และคณะ<sup>21</sup> รายงานการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ จากสารสกัดหยาบ 70% เอทานอลของพืชสมุนไพร 20 ชนิด พบว่าสกัดหยาบ 70% เอทานอลจากส่วนของดอกแค *Sesbania grandiflora* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด และดีเทียบเท่ากับยามาตรฐาน Erythromycin อีกด้วย

นอกจากนี้จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องของแค (*S. grandiflora*) พบว่ามีรายงานการศึกษากายการสกัดสาร และการหาค่าประเภททางเคมีเพียง 2 ฉบับจากส่วนราก (Roots) เท่านั้นคือในปี 2012 Hasan et al.<sup>22</sup> รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนรากของแค พบสาร 4 สารคือ isovestitol, medicarpin, sativan และ betulinic acid นอกจากนี้ยังพบว่าสารทั้ง 4 สารมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อวัณโรค (Antituberculosis) สายพันธุ์ *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50-100 µg/mL และในปี 2012 Osman et al.<sup>23</sup> ได้รายงานการศึกษากายการสกัดหยาบจากส่วนรากของแคเช่นกัน พบว่าสามารถแยกได้สารชนิดใหม่ 1 สารคือ 1,1'-binaphthalene-2,2'-diol รวมทั้งสารที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้า

นี้แล้วอีก 2 สารคือ isovestitol และ sativan โดยพบ isovestitol เป็นองค์ประกอบหลัก โดยโครงสร้างที่แยกได้ทำการพิสูจน์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี



รูปที่ 1-2 องค์ประกอบทางเคมีจากส่วนรากแค (*S. grandiflora* L. Roots)

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยของการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแค (*S. grandiflora*) โดยพบว่าส่วนสกัดหยาบและองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนต่างๆ ของแค แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์การศึกษาและวิจัยของส่วนสกัดหยาบและองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนต่างๆ ของแคต่อการออกฤทธิ์การยับยั้งพยาธิวิทยาต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ความเป็นพิษต่อเซลล์ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์การทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิดที่ก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ คือ เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาทางเคมีและศึกษากลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งพยาธิวิทยาต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ความเป็นพิษต่อเซลล์ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์การทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิด ที่ก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ คือ เอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส จากส่วนที่กินได้ของแค (*Sesbania grandiflora*) คือยอดอ่อนและดอก ซึ่งงานวิจัยนี้จะเป็นการยกระดับและพัฒนาพืชผักผลไม้ และสมุนไพรไทยเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการค้นพบสารที่มีประโยชน์ในด้านอาหารเสริมสุขภาพ หรือแม้กระทั่งการค้นพบยาชนิดใหม่ รวมทั้งเพื่อใช้ในการรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อ สุขภาพและภาวะทุพโภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังทั้งหลายที่มีผลต่อสุขภาพของผู้สูงอายุ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้ส่วนต่างๆ ของแค ในตำรายาไทย เพื่อบำบัดการรักษาโรคซึ่งเป็นภูมิปัญญาไทยที่สำคัญต่อการพัฒนาประเทศในยุคของประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (AEC) อีกด้วย

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสารออกฤทธิ์จากพืช ผัก สมุนไพรของไทยคือ แค (*S. grandiflora*) ต่อการยับยั้งพยาธิวิทยาต่างๆ ของโรคอัลไซเมอร์ เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิดที่ก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์ คือ เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งเป็นการค้นพบตัวยาชนิดใหม่ๆ จากพืช ผัก สมุนไพรของไทยในการนำมาใช้การรักษาผู้สูงอายุที่ป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์หรือโรคที่เกี่ยวข้องได้

2. สามารถยกระดับพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น
3. ข้อมูลและคุณสมบัติต่างๆ ทางเคมีของแค (S. grandiflora) นั้นจะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักวิจัย ที่ทำงานวิจัยเกี่ยวกับแค หรือพืชที่อยู่ในวงศ์ (Family) และสกุล (Genus) เดียวกัน และยังสามารถที่จะสร้างนิสิต นักวิทยาศาสตร์ นักวิจัย และครูวิทยาศาสตร์ให้เพียงพอต่อความต้องการของประเทศ เพื่อรองรับการพัฒนาประเทศอย่างมั่นคงและนำพาประเทศไทยเข้าสู่ระบบเศรษฐกิจ ฐานความรู้แบบสร้างสรรค์และนวัตกรรมใหม่ พัฒนาสายงานการวิจัยเพื่อให้นักวิจัยมีระบบความก้าวหน้าในวิชาชีพ รวมทั้งพัฒนาแหล่งงานด้านการวิจัยเพื่อรองรับบุคลากรการวิจัยทั้งในภาครัฐและเอกชน แล้วเป็นเพื่อนำความรู้ต่างๆ ที่ได้ไปจากงานวิจัยนี้ ไปยกระดับพืชสมุนไพรของประเทศให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น
4. สามารถนำไปสู่การตีพิมพ์งานวิจัย ในวารสารที่ยอมรับ หรือจดทะเบียนสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร หรือนำไปใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยได้อีกด้วย ทั้งนี้เพื่อปกป้องพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศไทย ให้อยู่กับคนไทยและคนไทยได้ใช้ประโยชน์สูงสุด
5. หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยดังกล่าวนี้ไปใช้ได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัย ทั้งในด้านเคมี ชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือหน่วยงาน บริษัทอุตสาหกรรมยา ในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยาต่อไป

#### 1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ประสานงานกับหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยทั้งในภาครัฐและเอกชน เพื่อการนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ หรือต่อยอดโครงการวิจัย หรือเพื่อนำมาปรับปรุงและพัฒนาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดต่อกลุ่มเป้าหมาย และเพื่อประโยชน์สูงสุดต่อยกระดับพืช ผัก สมุนไพรของประเทศไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเพื่อปกป้องพืช ผัก และสมุนไพรของประเทศไทย ให้อยู่กับคนไทยและคนไทยได้ใช้ประโยชน์สูงสุด หรือการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมระดับนานาชาติ หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติ/นานาชาติ

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)

### 2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)
2. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
4. กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
5. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
6. เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR spectroscopy)
7. คอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2, 3 และ 4 เซนติเมตร
8. ชุดเครื่องแก้วพื้นฐาน เช่น บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ กระจกบดกรวด หลอดทดลอง เป็นต้น
9. ซิลิกาเจล 60 (ขนาด 0.063-0.200 mm; 1.07734.9025; MERCK)
10. ซิลิกาเจล 60 (ขนาด <0.063 mm; 1.07729.9025; MERCK)
11. หลอดแสง UV สำหรับ TLC
12. ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate, Acetone, Methanol, Ethanol, Dimethylsulfoxide, น้ำกรอง และน้ำกลั่น
13. ตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR spectroscopy ได้แก่  $CDCl_3$  และ  $CD_3OD$
14. เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (*Acetylcholinesterase from Electrophorus electricus*)
15. เอนไซม์บิวทิลริวโคลีนเอสเทอเรส (*Butyrylcholinesterase from equine serum*)
16. อะซิติลไทโอโคลีนไอโอดด์ (*Acetylthiocholine iodide, ATCI*)
17. บิวทิลริวไทโอโคลีนไอโอดด์ (*Butyrylthiocholine iodide, BuTCl*)
18. 5,5'-ไดไทโอบิส-(2-ไนโตรเบนโซอิก แอซิด) [*5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB*]
19. กาแลนทามีน (*Galanthamine*), เคอร์ซีติน (*Quercetin*)
20. โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (*Sodium phosphate buffer, pH 8.0*)

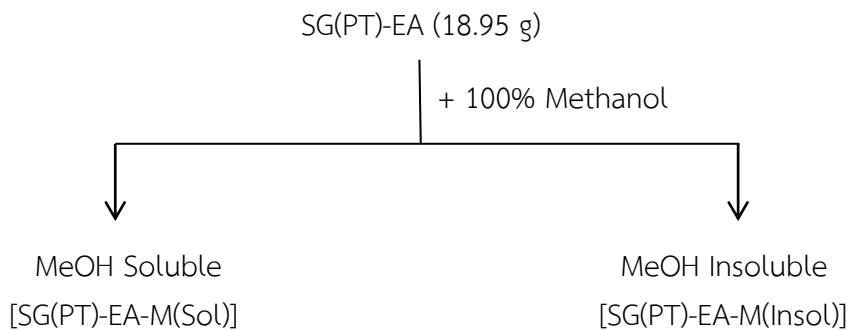
### 2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical constituents)

จากรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา เรื่องการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์นั้น “แค (*Sesbania grandiflora*)” เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ที่พบมากในประเทศไทยและมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแค สำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุ และเพื่อนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนและองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โดยตัวอย่างแค (*Sesbania grandiflora* L.) ที่ใช้ในงานวิจัยได้เก็บมาจากอำเภอนันทนบุรี จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2560 โดยพืชดังกล่าวได้ทำการยืนยันชื่อวิทยาศาสตร์และเก็บตัวอย่างพืชไว้ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา 169 ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

เมื่อนำส่วนที่รับประทานได้และนิยมรับประทานคือส่วนดอกและยอดอ่อน มาทำการสกัดด้วยวิธีการแช่หมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความมีขั้วคือเริ่มต้นจากทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วคือ เฮกเซน และตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ พบว่ายอดอ่อนแค (Shoot) มีร้อยละผลผลิตรวมสูงที่สุดเท่ากับ 85.31% รองลงมาคือกลีบดอก (Petal; 82.14%), ฐานรองดอก (Sepal; 76.12%) และเกสร (Stamen; 72.32%) ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดพบว่าตัวทำละลายเมทานอลของทุกส่วนสกัดมีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือเอทิลอะซิเตท และเฮกเซนตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าสารทุติยภูมิจากส่วนที่รับประทานได้ของแค่นั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงสูงมีปริมาณมากกว่าสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อย จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีรายงานว่า เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี จากการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดนั้นเป็นสารสกัดที่มาจาก ส่วนของดอก และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในส่วนสกัดหยาบของดอกและยอดอ่อนแค่นั้นเป็น สารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วปานกลางถึงสูง อีกทั้งได้นำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Antiinflammatory activity) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส (Antiacetylcholinesterase activity) และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของเกสร [SG(SM)-EA] แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลของกลีบดอก และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของฐานรองดอก ตามลำดับ โดยพบอีกว่าส่วนสกัดหยาบจากยอดอ่อนแค (Shoot) ทั้ง 3 สารสกัด [SG(SH)-H, SG(SH)-EA และ SG(SH)-M] นั้นมีฤทธิ์การยับยั้ง อนุมูลอิสระน้อย และน้อยกว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนของดอก (Flowers) อีกด้วย มากไปกว่านั้นผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) ของส่วนที่รับประทานได้ของแคไม่ว่าจะเป็นยอดอ่อนหรือดอกนั้นแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดี และดีกว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) และเมทานอล (Methanol extracts) ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นั้นเป็นสารทุติยภูมิที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย (Non-polar compounds) ซึ่งตรงกันข้ามกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงขั้วสูง (Polar compounds) ในทำนองเดียวกัน ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสพบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) ของส่วนที่นิยมรับประทานเป็นอาหารของแค่นั้นก็คือกลีบดอก (Petal) และยอดอ่อน (Shoot) นั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสที่ดีและดีกว่า ส่วนสกัดหยาบจากเกสร (Stamen) และฐานรองดอก (Sepal) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่นิยมนำมารับประทาน ผลการทดลองดังกล่าวนี้เป็นการยืนยันภูมิปัญญาของคนไทยต่อการบริโภคแค (*S. grandiflora*) ในการประกอบอาหาร กล่าวคือเวลาจะประกอบอาหารในส่วนของดอกแค่นั้น จะมีการนำส่วนของเกสรออกเสียก่อน และไม่ นิยมรับประทานส่วนฐานรองดอก รวมทั้งส่วนของยอดอ่อนก็นิยมนำมารับประทานเป็นผักแกลัมน้ำพริกอีกด้วย นอกจากนี้จากผลการทดลองที่ได้พบพบว่า สารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อยถึงขั้วปานกลาง ซึ่งคล้ายหรือสอดคล้องกับฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นี้พบว่ามีสารออกฤทธิ์เป็นสารที่มีขั้วน้อย

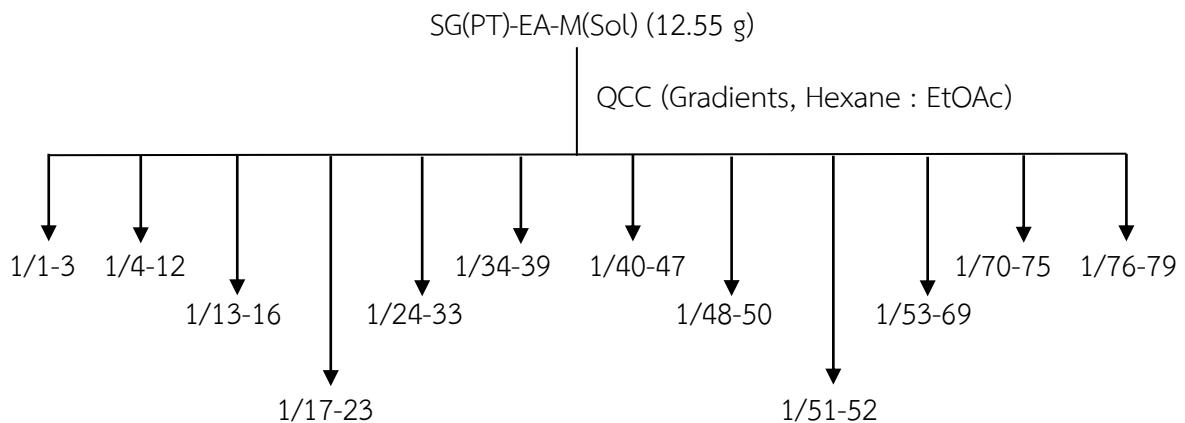
จากผลการวิจัยที่ได้พบว่า “แค” สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสารสื่อประสาทนั้นคือเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส รวมทั้งส่วนสกัดหยาบของแคทุกส่วนสกัดนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการบริโภค “แค” อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาสารออกฤทธิ์จากส่วนสกัดหยาบที่ได้ข้างต้นโดยทำการทดลองดังนี้

นำส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extract, SG(PT)-EA) น้ำหนัก 18.95 กรัม มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล (MeOH Soluble) และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล (MeOH Insoluble) แผนผังการแยก SG(PT)-EA ดังรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1 การแยกส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA]

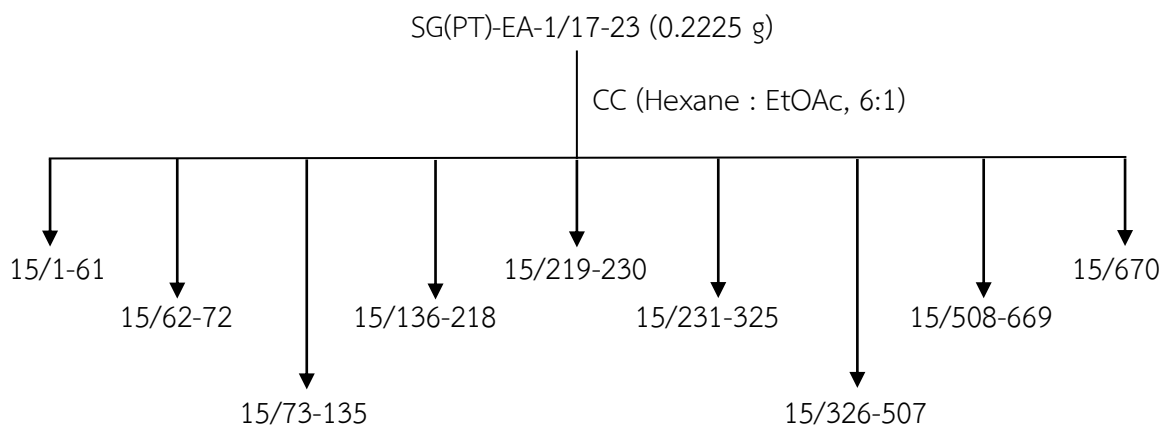
นำส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-M(Sol)] น้ำหนัก 12.55 กรัม มาแยกด้วยเทคนิค Quick column chromatography (QCC) โดยใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, 0.063-0.200 mm) เป็นตัวดูดซับ และชะด้วยตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วนต่างๆ เพิ่มขึ้นของตัวทำละลายโดยการเพิ่มตัวทำละลายที่มีขี้นมากกว่า (Gradient elution) ตามด้วยตัวทำละลายเมทานอล 100% ซึ่งจะใช้ตัวทำละลายครั้งละ 200 mL แล้วจึงทำการตรวจสอบด้วยเทคนิคอินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-layer chromatography, TLC) ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ได้สารทั้งหมด 12 fractions แสดงดังรูปที่ 2-2



รูปที่ 2-2 การแยก fraction SG(PT)-EA-M(Sol)

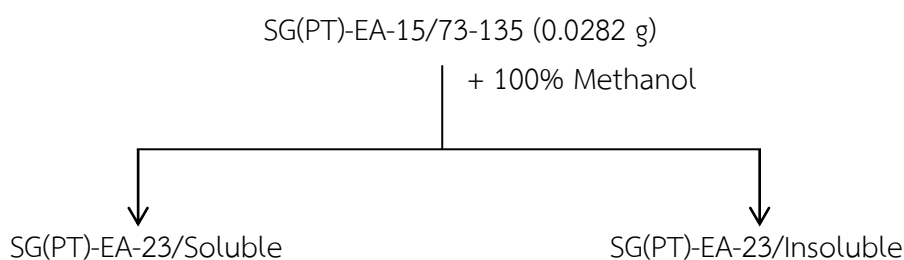


นำ fraction SG(PT)-EA-1/17-23 น้ำหนัก 0.2225 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 2.0 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, <0.063) เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 15 เซนติเมตร ใช้น้ำมันระเหยตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 6:1 ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิคอินฟราเรดโครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 9 fractions แสดงดังรูปที่ 2-3



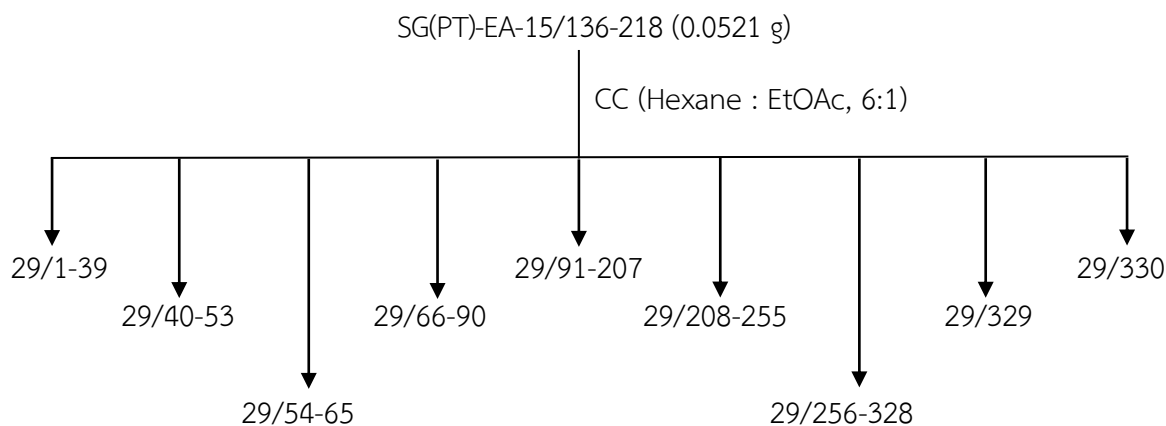
รูปที่ 2-3 การแยก fraction SG(PT)-EA-1/17-23

นำ fraction SG(PT)-EA-15/73-135 น้ำหนัก 0.0282 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-23/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-23/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-4



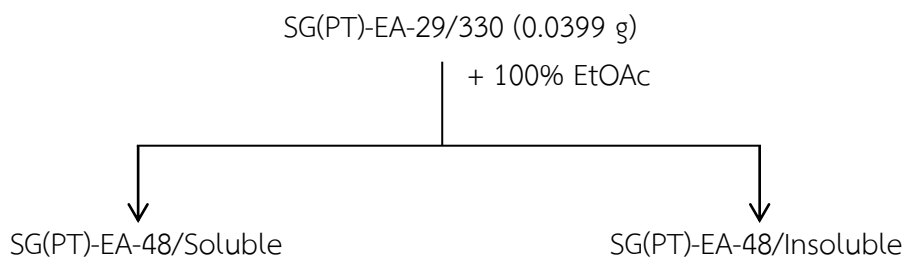
รูปที่ 2-4 การแยก fraction SG(PT)-EA-15/73-135

นำ fraction SG(PT)-EA-15/136-218 น้ำหนัก 0.0521 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 2.0 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, <0.063) เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 20 เซนติเมตร ใช้น้ำมันระเหยตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 6:1 ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิคอินฟราเรดโครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 9 fractions แสดงดังรูปที่ 2-5



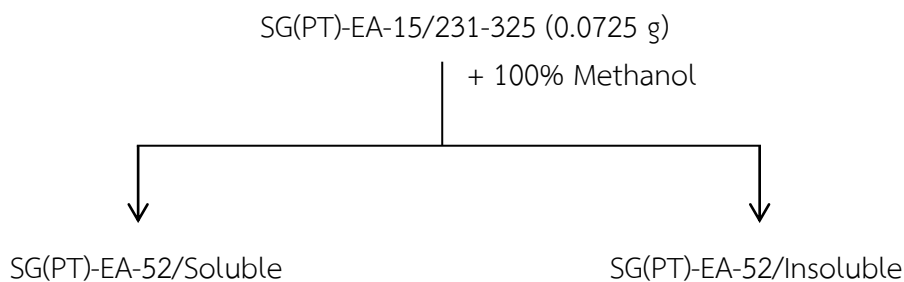
รูปที่ 2-5 การแยก fraction SG(PT)-EA-15/136-218

นำ fraction SG(PT)-EA-29/330 น้ำหนัก 0.0399 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-48/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-48/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-6



รูปที่ 2-6 การแยก fraction SG(PT)-EA-29/330

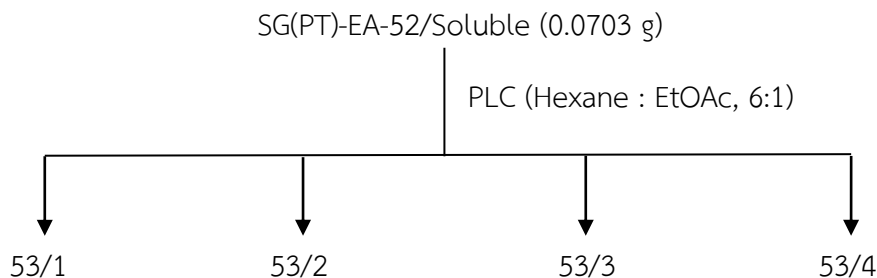
นำ fraction SG(PT)-EA-15/231-325 น้ำหนัก 0.0725 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-52/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-52/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-7



รูปที่ 2-7 การแยก fraction SG(PT)-EA-15/231-325

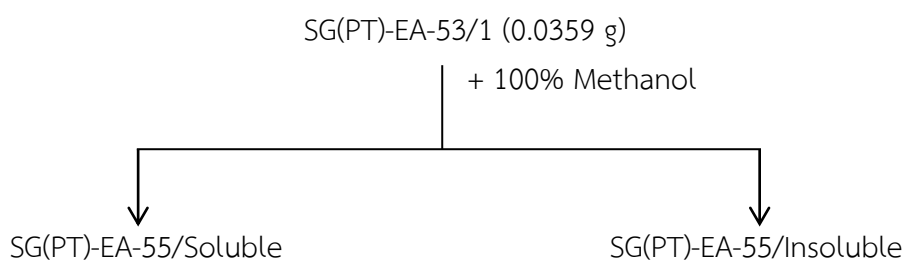


นำ fraction SG(PT)-EA-52/Soluble น้ำหนัก 0.0703 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค Preparative layer chromatography (PLC) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายคือ Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 6:1 ทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง นำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 4 fractions แสดงดังรูปที่ 2-8



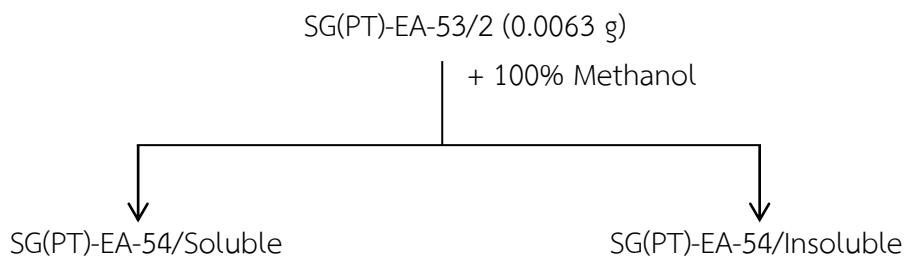
รูปที่ 2-8 การแยก fraction SG(PT)-EA-52/Soluble

นำ fraction SG(PT)-EA-53/1 น้ำหนัก 0.0359 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-55/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-55/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-9



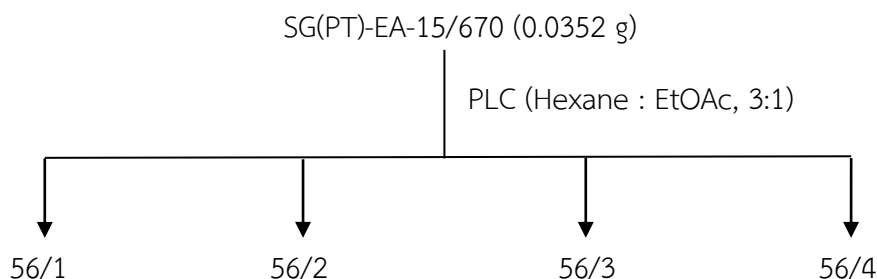
รูปที่ 2-9 การแยก fraction SG(PT)-EA-53/1

นำ fraction SG(PT)-EA-53/2 น้ำหนัก 0.0063 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-54/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-54/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-10



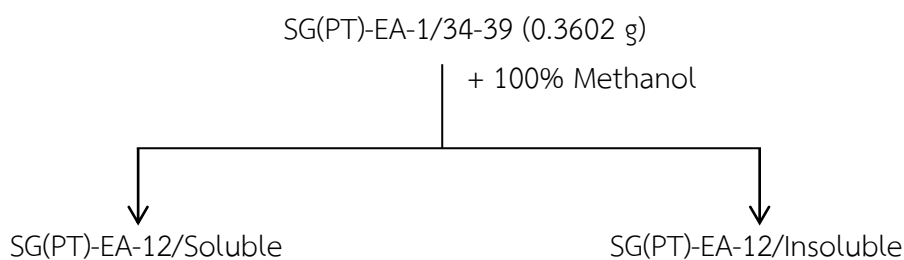
รูปที่ 2-10 การแยก fraction SG(PT)-EA-53/2

นำ fraction SG(PT)-EA-15/670 น้ำหนัก 0.0352 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค *Preparative layer chromatography* (PLC) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายคือ Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 3:1 ทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง นำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 4 fractions แสดงดังรูปที่ 2-11



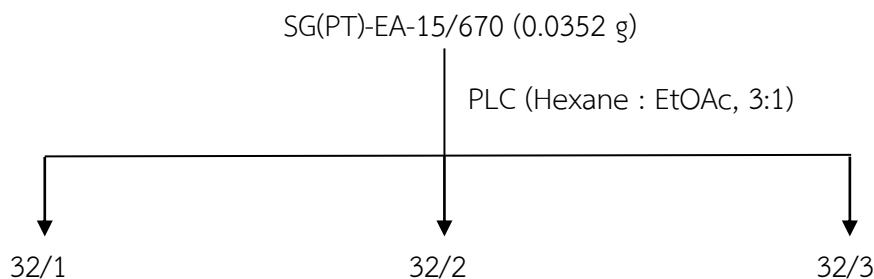
รูปที่ 2-11 การแยก fraction SG(PT)-EA-15/670

นำ fraction SG(PT)-EA-1/34-39 น้ำหนัก 0.3602 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-12/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-12/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-12



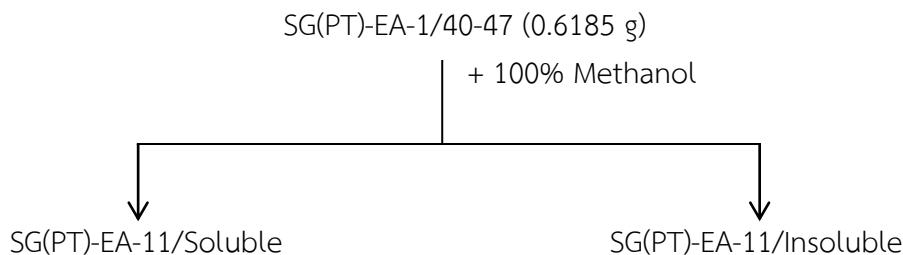
รูปที่ 2-12 การแยก fraction SG(PT)-EA-1/34-39

นำ fraction SG(PT)-EA-12/Insoluble น้ำหนัก 0.0287 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค *Preparative layer chromatography* (PLC) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายคือ Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:1 หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 3 fractions แสดงดังรูปที่ 2-13



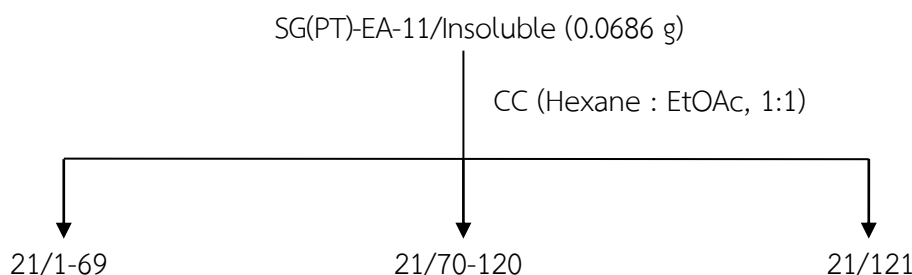
รูปที่ 2-13 การแยก fraction SG(PT)-EA-15/670

นำ fraction SG(PT)-EA-1/40-47 น้ำหนัก 0.6185 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-11/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-11/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-14



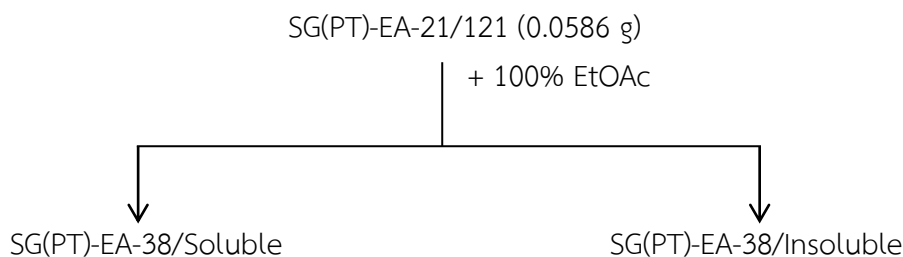
รูปที่ 2-14 การแยก fraction SG(PT)-EA-1/40-47

นำ fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble น้ำหนัก 0.0686 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 3.0 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, <math><0.063</math>) เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 10 เซนติเมตร เชดด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:1 ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิครีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 3 fractions แสดงดังรูปที่ 2-15



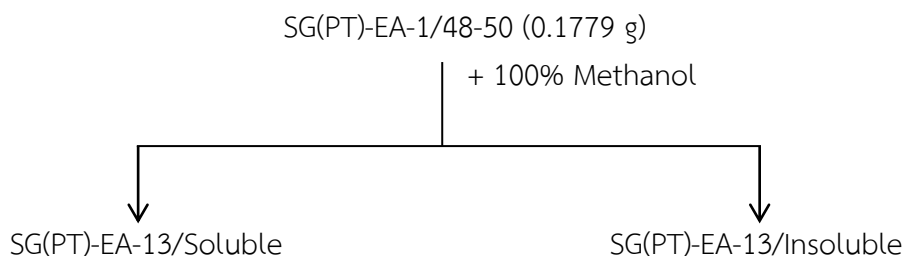
รูปที่ 2-15 การแยก fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble

นำ fraction SG(PT)-EA-21/121 น้ำหนัก 0.0586 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-38/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-38/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-16



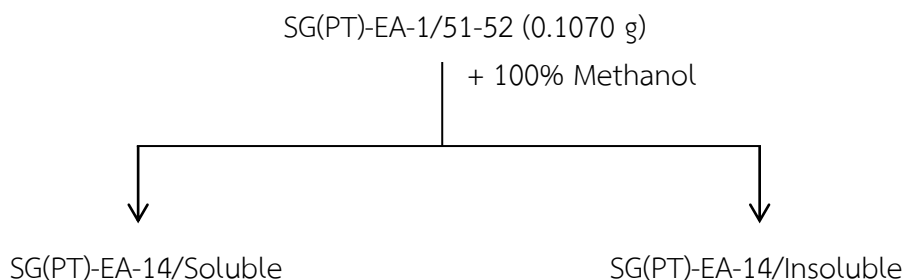
รูปที่ 2-16 การแยก fraction SG(PT)-EA-21/121

นำ fraction SG(PT)-EA-1/48-50 น้ำหนัก 0.1779 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-13/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-13/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-17



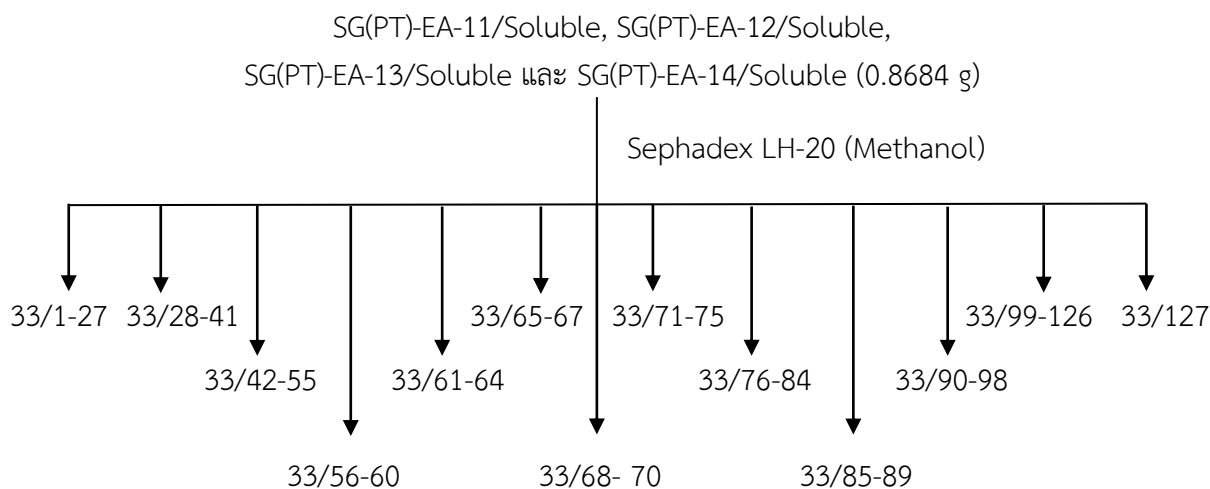
รูปที่ 2-17 การแยก fraction SG(PT)-EA-1/48-50

นำ fraction SG(PT)-EA-1/51-52 น้ำหนัก 0.1070 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-14/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-14/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-18



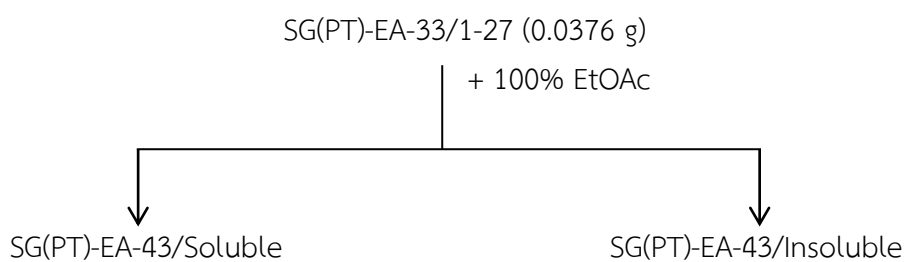
รูปที่ 2-18 การแยก fraction SG(PT)-EA-1/51-52

นำ fractions SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble มาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีลักษณะที่คล้ายกัน จึงนำทั้ง 4 fractions มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.8684 g และทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 2.0 เซนติเมตร ใช้ Sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 52.0 เซนติเมตร ละเอียดด้วยระบบตัวทำละลาย 100% Methanol ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิคอินเลย์โครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 13 fractions แสดงดังรูปที่ 2-19



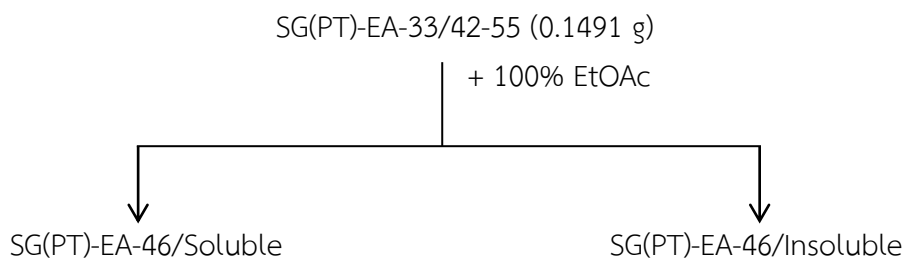
**รูปที่ 2-19** การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble

นำ fraction SG(PT)-EA-33/1-27 น้ำหนัก 0.0376 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-43/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-43/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-20



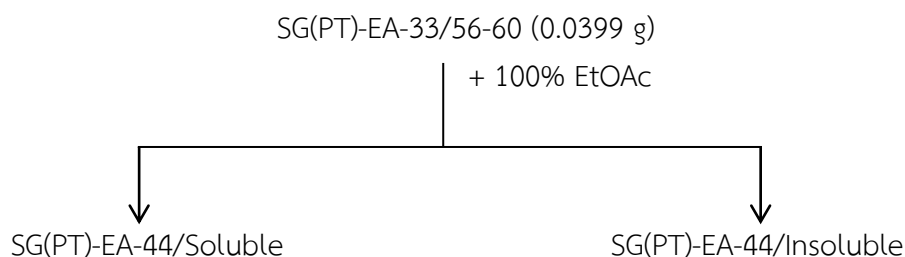
**รูปที่ 2-20** การแยก fraction SG(PT)-EA-33/1-27

นำ fraction SG(PT)-EA-33/42-55 น้ำหนัก 0.1491 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-46/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-46/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-21



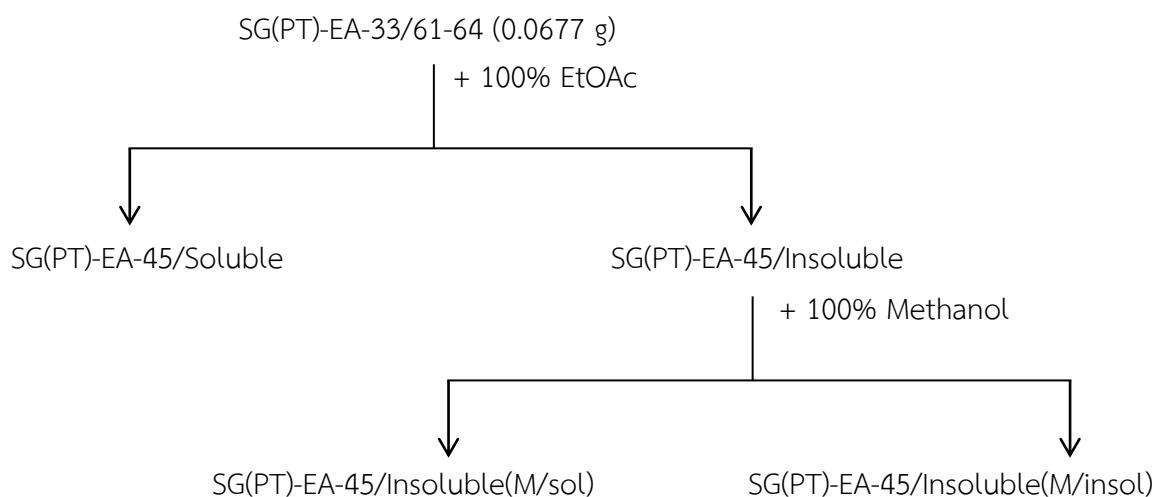
**รูปที่ 2-21** การแยก fraction SG(PT)-EA-33/42-55

นำ fraction SG(PT)-EA-33/56-60 น้ำหนัก 0.0399 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-44/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-44/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-22



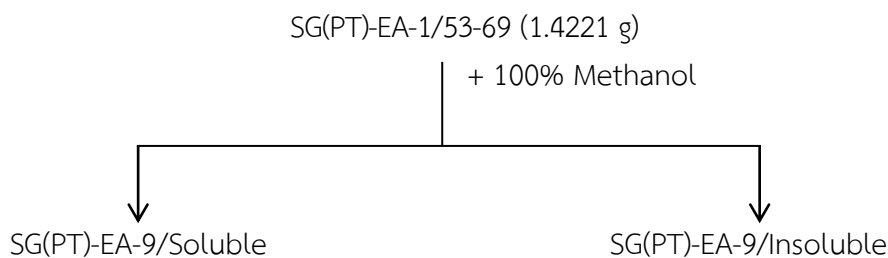
รูปที่ 2-22 การแยก fraction SG(PT)-EA-33/56-60

นำ fraction SG(PT)-EA-33/61-64 น้ำหนัก 0.0677 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-45/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-45/Insoluble] และเมื่อนำ SG(PT)-EA-45/Insoluble ทำการตรวจสอบด้วย TLC พบว่ายังมีความไม่บริสุทธิ์ จึงนำ SG(PT)-EA-45/Insoluble มาตกผลึกซ้ำด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) ได้สาร 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/sol)] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/insol)] แสดงดังรูปที่ 2-23



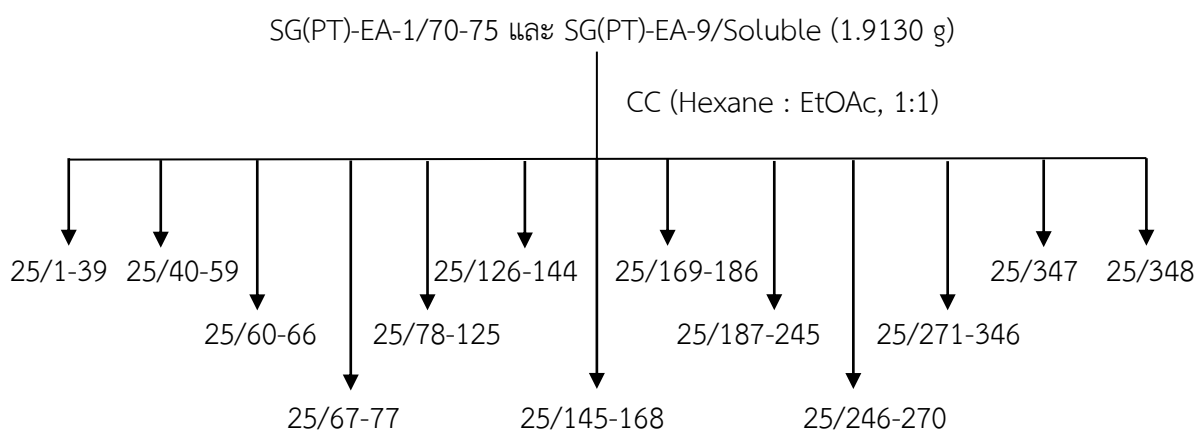
รูปที่ 2-23 การแยก fraction SG(PT)-EA-33/61-64

นำ fraction SG(PT)-EA-1/53-69 น้ำหนัก 1.4221 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-9/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-9/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-24



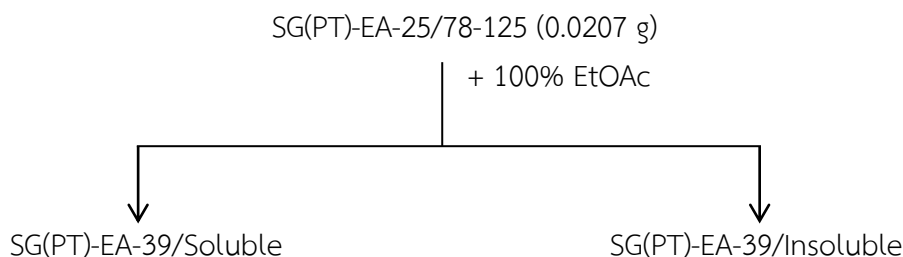
**รูปที่ 2-24** การแยก fraction SG(PT)-EA-1/53-69

นำ fractions SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble มาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีลักษณะที่คล้ายกัน จึงนำทั้ง 2 fractions มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 1.9130 g และทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 3.0 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, <0.063) เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 20.0 เซนติเมตร ใช้อัตราส่วนตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:1 ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิคอินฟราเรดโครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 13 fractions แสดงดังรูปที่ 2-25



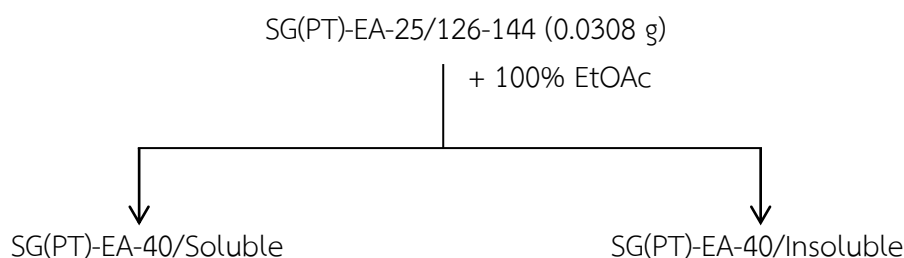
**รูปที่ 2-25** การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble

นำ fraction SG(PT)-EA-25/78-125 น้ำหนัก 0.0207 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-39/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-39/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-26



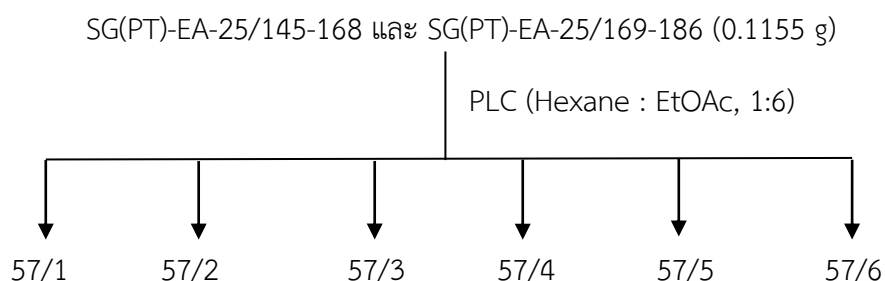
**รูปที่ 2-26** การแยก fraction SG(PT)-EA-25/78-125

นำ fraction SG(PT)-EA-25/126-144 น้ำหนัก 0.0308 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-40/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-40/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-27



รูปที่ 2-27 การแยก fraction SG(PT)-EA-25/126-144

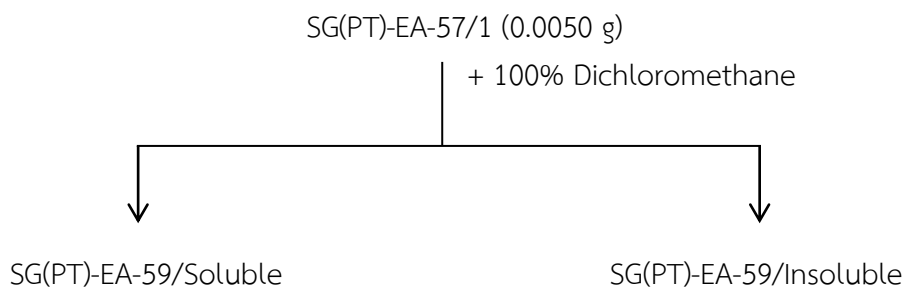
นำ fractions SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186 มาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีลักษณะที่คล้ายกัน จึงนำทั้ง 2 fractions มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.1155 g และทำการแยกด้วยเทคนิค *Preparative layer chromatography* (PLC) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายคือ Hexane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:6 ทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 6 fractions แสดงดังรูปที่ 2-28



รูปที่ 2-28 การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186

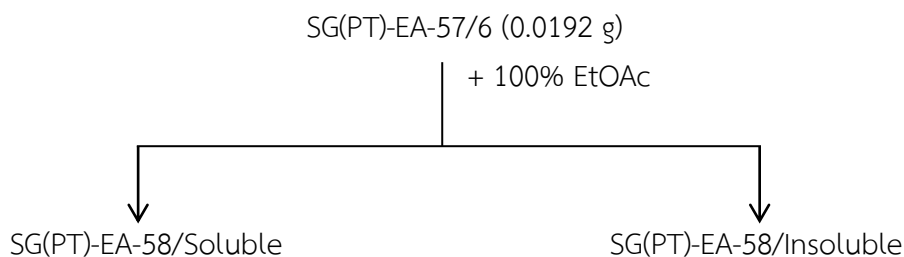
นำ fraction SG(PT)-EA-57/1 น้ำหนัก 0.0050 g มาทำล้างตะกอนของแข็งด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการแยกส่วนที่ละลายได้ออกจากตะกอนของแข็งโดยใช้หลอดหยด (Pasteur pipette) พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายไดคลอโรมีเทน [SG(PT)-EA-59/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายไดคลอโรมีเทน [SG(PT)-EA-59/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-29





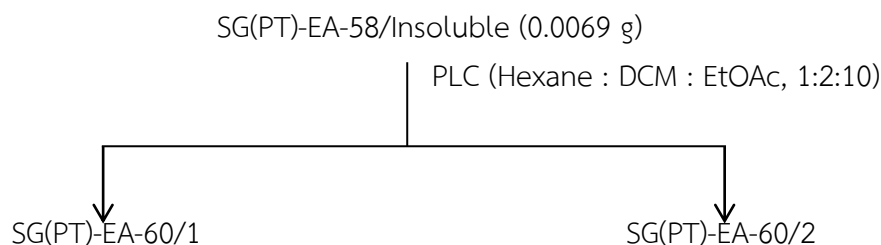
รูปที่ 2-29 การแยก fraction SG(PT)-EA-57/1

นำ fraction SG(PT)-EA-57/6 น้ำหนัก 0.0192 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-58/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-58/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-30



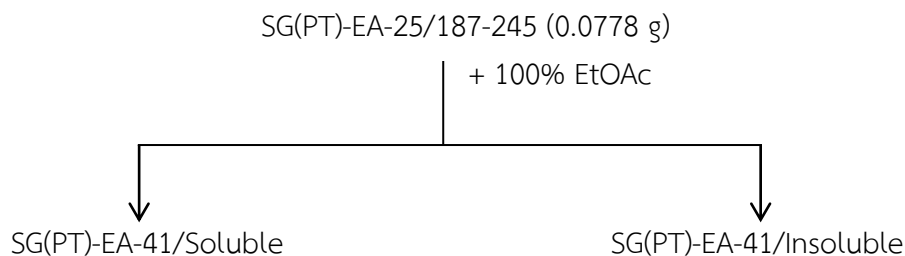
รูปที่ 2-30 การแยก fraction SG(PT)-EA-57/6

นำ fractions SG(PT)-EA-58/Insoluble น้ำหนัก 0.0069 g ทำการแยกด้วยเทคนิค Preparative layer chromatography (PLC) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ระบบตัวทำละลายคือ Hexane ต่อ Dichloromethane ต่อ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:2:10 หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 2 fractions แสดงดังรูปที่ 2-31



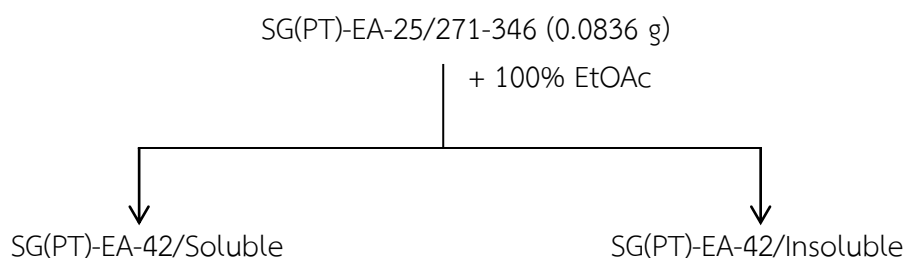
รูปที่ 2-31 การแยก fraction SG(PT)-EA-58/Insoluble

นำ fraction SG(PT)-EA-25/187-245 น้ำหนัก 0.0778 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-41/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-41/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-32



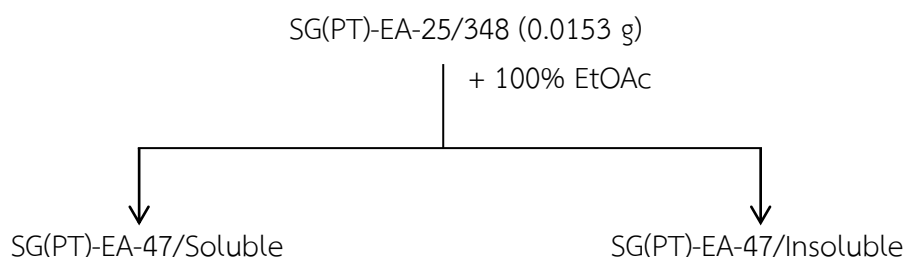
รูปที่ 2-32 การแยก fraction SG(PT)-EA-25/187-245

นำ fraction SG(PT)-EA-25/271-346 น้ำหนัก 0.0836 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-42/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-42/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-33



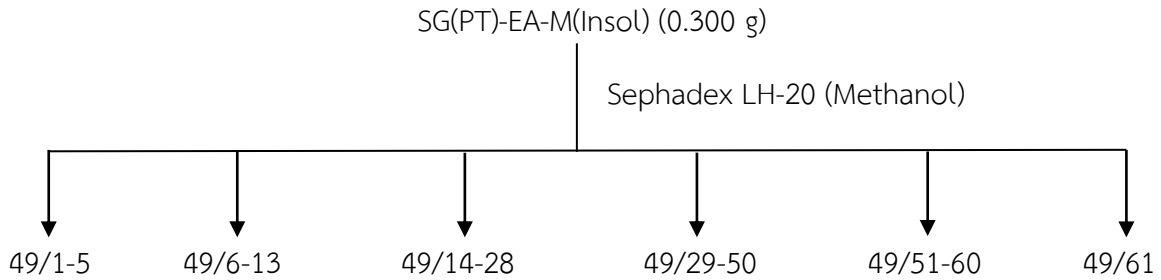
รูปที่ 2-33 การแยก fraction SG(PT)-EA-25/271-346

นำ fraction SG(PT)-EA-25/348 น้ำหนัก 0.0153 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่ามีส่วนที่ละลายได้และบางส่วนที่ไม่ละลาย จึงนำมาทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-47/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-47/Insoluble] แสดงดังรูปที่ 2-34



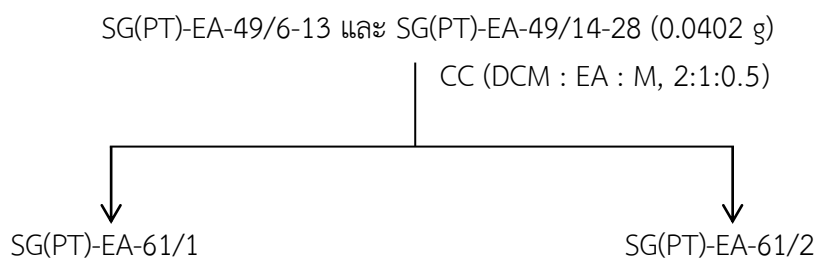
รูปที่ 2-34 การแยก fraction SG(PT)-EA-25/348

นำ fraction SG(PT)-EA-M(Insol) น้ำหนัก 0.3000 g และทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 2.0 เซนติเมตร ใช้ Sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 52.0 เซนติเมตร ละลายด้วยระบบตัวทำละลาย 100% Methanol ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิคอินเลย์โครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 6 fractions แสดงดังรูปที่ 2-35



รูปที่ 2-35 การแยก fraction SG(PT)-EA-M(Insol)

นำ fractions SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28 มาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีลักษณะที่คล้ายกัน จึงนำทั้ง 2 fractions มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.0402 g และทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ 3.0 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล 60 (Merck, <0.063) เป็นตัวดูดซับ บรรจุตัวดูดซับสูง 10.0 เซนติเมตร ละลายด้วยระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง Dichloromethane ต่อ Ethyl acetate ต่อ Methanol ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ทำการตรวจสอบแต่ละ fraction ที่ได้ด้วยเทคนิค อินเลย์โครมาโทกราฟี ถ้า fraction ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้สารทั้งหมด 2 fractions แสดงดังรูปที่ 2-36



รูปที่ 2-36 การแยก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28

### 2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมี

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากกลีบดอกแค (*S. grandiflora*) โดยอาศัยกระบวนการทางโครมาโทกราฟีต่างๆ พบว่าจากการแยกสารจาก fractions ต่างๆ สารที่มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์ เมื่อทำการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิคอินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) แล้วนั้น จะนำ fractions ต่างๆ นั้นไปตรวจสอบเพื่อวิเคราะห์หาโครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) ต่อไป นอกจากนี้ยังใช้ลักษณะทางกายภาพของสารในการช่วยวิเคราะห์โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมี เช่น ค่า  $R_f$  และการย้อมด้วย *p*-Anisaldehyde- $H_2SO_4$  และให้ความร้อน  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  ก็จะปรากฏสีที่มีลักษณะเฉพาะของกลุ่มสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติกลุ่มนั้นๆ ออกมา อาทิ ถ้าปรากฏสีม่วง สีน้ำเงิน อาจจะเป็นสารในกลุ่มของเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) หรือสเตียรอยด์ (Steroids) เป็นต้น

### 3. ผลการทดลองและอภิปรายผล (Results & Discussion)

#### 3.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical constituents)

จากรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา เรื่องการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์นั้น “แค (*Sesbania grandiflora*)” เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ที่พบมากในประเทศไทยและมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแค สำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุ และเพื่อนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนและองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โดยตัวอย่างแค (*Sesbania grandiflora* L.) ที่ใช้ในงานวิจัยได้เก็บมาจากอำเภอนันทบุรี จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2560 โดยพืชดังกล่าวได้ทำการยืนยันชื่อวิทยาศาสตร์และเก็บตัวอย่างพืชไว้ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา 169 ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอมือเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

เมื่อนำส่วนที่รับประทานได้และนิยมรับประทานคือส่วนดอกและยอดอ่อน มาทำการสกัดด้วยวิธีการแช่หมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความมีขั้วคือเริ่มต้นจากทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วคือ เฮกเซน และตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ พบว่ายอดอ่อนแค (Shoot) มีร้อยละผลผลิตรวมสูงที่สุดเท่ากับ 85.31% รองลงมาคือกลีบดอก (Petal; 82.14%), ฐานรองดอก (Sepal; 76.12%) และเกสร (Stamen; 72.32%) ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดพบว่าตัวทำละลายเมทานอลของทุกส่วนสกัดมีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าสารทุติยภูมิจากส่วนที่รับประทานได้ของแคนั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงสูงมีปริมาณมากกว่าสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อย จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีรายงานว่า เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี จากการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดนั้นเป็นสารสกัดที่มาจากส่วนของดอก และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในส่วนสกัดหยาบของดอกและยอดอ่อนแคนั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วปานกลางถึงสูง อีกทั้งได้นำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Antiinflammatory activity) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะซิetylโคลีนเอสเตอเรส (Antiacetylcholinesterase activity) และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของเกสร [SG(SM)-EA] แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลของกลีบดอก และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของฐานรองดอก ตามลำดับ โดยพบอีกว่าส่วนสกัดหยาบจากยอดอ่อนแค (Shoot) ทั้ง 3 สารสกัด [SG(SH)-H, SG(SH)-EA และ SG(SH)-M] นั้นมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระน้อย และน้อยกว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนของดอก (Flowers) อีกด้วย มากไปกว่านั้นผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) ของส่วนที่รับประทานได้ของแคไม่ว่าจะเป็นยอดอ่อนหรือดอกนั้นแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดี และดีกว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) และเมทานอล (Methanol extracts) ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการ

ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นั้นเป็นสารทุติยภูมิที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย (Non-polar compounds) ซึ่งตรงกันข้ามกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงขั้วสูง (Polar compounds) ในทำนองเดียวกัน ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสพบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) ของส่วนที่นิยมนำรับประทานเป็นอาหารของแค่นั้นก็คือกลีบดอก (Petal) และยอดอ่อน (Shoot) นั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสที่ดีและดีกว่า ส่วนสกัดหยาบจากเกสร (Stamen) และฐานรองดอก (Sepal) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่นิยมนำรับประทาน ผลการทดลองดังกล่าวนี้เป็นการยืนยันภูมิปัญญาของคนไทยต่อการบริโภคแค (*S. grandiflora*) ในการประกอบอาหาร กล่าวคือเวลาจะประกอบอาหารในส่วนของดอกแค่นั้น จะมีการนำส่วนของเกสรออกเสียก่อน และไม่นิยมนำรับประทานส่วนฐานรองดอก รวมทั้งส่วนของยอดอ่อนก็นิยมนำรับประทานเป็นผักแกลุ่มน้ำพริกอีกด้วย นอกจากนี้จากผลการทดลองที่ได้พบพบว่า สารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อยถึงขั้วปานกลาง ซึ่งคล้ายหรือสอดคล้องกับฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค่นั้นพบว่าสารออกฤทธิ์เป็นสารที่มีขั้วน้อย จากผลการวิจัยที่ได้พบว่า “แค” สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสารสื่อประสาทนั้นคือเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส รวมทั้งส่วนสกัดหยาบของแคทุกส่วนสกัดนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการบริโภค “แค” อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาสารออกฤทธิ์จากส่วนสกัดหยาบที่ได้ข้างต้นโดยทำการทดลองดังนี้

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากแคที่ได้มาวิเคราะห์พบว่าส่วนกลีบดอกนิยมนำไปรับประทานเป็นอาหารมากที่สุด และกลีบดอกยังคงแสดงฤทธิ์ยับยั้งภาวะต่างๆ ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ที่ดีอีกด้วย ดังนั้นเมื่อนำส่วนกลีบดอกแคที่ได้ทั้ง 3 สารสกัดมาทำการทดสอบด้วยเทคนิค Thin-layer chromatography (TLC) พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท มีปริมาณสารที่มาก กล่าวคือมีจุด (spot) บนแผ่น TLC จำนวนมากและน่าสนใจ อีกทั้งยังสามารถแยกได้ง่ายกว่าส่วนสกัดหยาบเมทานอลเพราะมีขั้วน้อยกว่า จากเหตุผลดังกล่าวนี้จึงได้นำส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (SG(PT)-EA) น้ำหนัก 18.95 กรัม มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล (MeOH Soluble) และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล (MeOH Insoluble) โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-M(Sol)	0.0247	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-M(Insol)	0.0821	ของแข็งสีเขียวน้ำตาล

นำส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-M(Sol)] น้ำหนัก 12.55 g มาแยกด้วยเทคนิค Quick column chromatography (QCC) โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และชะด้วยตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ระบบ gradient elution แล้วทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะ

คล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 12 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-2

**ตารางที่ 3-2** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-M(Sol)

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-1/1-3	0.0247	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/4-12	0.0821	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/13-16	0.1684	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/17-23	0.2225	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/24-33	0.4723	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/34-39	0.3602	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/40-47	0.6185	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/48-50	0.1779	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/51-52	0.1070	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/53-69	1.4221	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/70-75	0.9070	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม
SG(PT)-EA-1/76-95	10.8596	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/17-23 น้ำหนัก 0.2225 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ชะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 9 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-3

**ตารางที่ 3-3** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/17-23

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-15/1-61	0.0077	ของเหลวหนืดสีเหลืองใส
SG(PT)-EA-15/62-72	0.0028	ของเหลวหนืดสีเหลืองใส
SG(PT)-EA-15/73-135	0.0282	ของเหลวหนืดสีเหลือง
SG(PT)-EA-15/136-218	0.0521	ของเหลวหนืดสีเหลือง
SG(PT)-EA-15/219-230	0.0086	ของเหลวหนืดสีเหลือง
SG(PT)-EA-15/231-325	0.0725	ของเหลวหนืดสีเหลือง
SG(PT)-EA-15/326-507	0.0142	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-15/508-669	0.0140	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน
SG(PT)-EA-15/670	0.0352	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม



เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-15/73-135 น้ำหนัก 0.0282 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-23/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-23/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-4 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-23/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

ตารางที่ 3-4 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-23/Soluble	0.0192	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-23/Insoluble	0.0090	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-3

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-15/136-218 น้ำหนัก 0.0521 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 9 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-5

ตารางที่ 3-5 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/136-218

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-29/1-39	0.0030	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-29/40-53	0.0011	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-29/54-65	0.0012	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-29/66-90	0.0018	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-29/91-207	0.0009	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-29/208-255	0.0019	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-29/256-328	0.0015	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-29/329	0.0017	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-29/330	0.0399	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-29/330 น้ำหนัก 0.0399 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-48/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-48/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-6



**ตารางที่ 3-6** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-29/330

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-48/Soluble	0.0368	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-48/Insoluble	0.0030	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-15/231-325 น้ำหนัก 0.0725 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-52/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-52/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-7

**ตารางที่ 3-7** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/231-325

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-52/Soluble	0.0703	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-52/Insoluble	0.0020	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-52/Soluble น้ำหนัก 0.0703 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคเทคนิค PLC (*Preparative layer chromatography*) ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) สามารถแยกสารได้สารทั้งหมด 4 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-8 และพบว่า SG(PT)-EA-53/3 มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-8** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-52/Soluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-53/1	0.0359	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-53/2	0.0063	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-53/3	0.0052	ของแข็งสีเหลืองอ่อน NMR(AA)-15
SG(PT)-EA-53/4	0.0165	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-53/1 น้ำหนัก 0.0359 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-55/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-55/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-9 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-55/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-9** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-53/1

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-55/Soluble	0.0322	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-55/Insoluble	0.0036	ของแข็งสีเหลือง NMR(AA)-17

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-53/2 น้ำหนัก 0.0063 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-54/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-54/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-10 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-54/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-10** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-53/2

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-54/Soluble	0.0030	ของเหลวหนืดใส NMR(AA)-16
SG(PT)-EA-54/Insoluble	0.0028	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-15/670 น้ำหนัก 0.0352 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคเทคนิค PLC ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ๒ ด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) สามารถแยกสารได้สารทั้งหมด 4 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-11

**ตารางที่ 3-11** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-15/670

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-56/1	0.0072	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-56/2	0.0064	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-56/3	0.0065	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-56/4	0.0126	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/34-39 น้ำหนัก 0.3602 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-12/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-12/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-12

**ตารางที่ 3-12** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/34-39

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-12/Soluble	0.3213	ของเหลวหนืดใส
SG(PT)-EA-12/Insoluble	0.0287	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-12/Insoluble น้ำหนัก 0.0287 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคเทคนิค PLC ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) สามารถแยกสารได้สารทั้งหมด 3 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-13 และพบว่า SG(PT)-EA-32/2 และ SG(PT)-EA-32/3 มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-13** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-12/Insoluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-32/1	0.0051	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-32/2	0.0042	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-8
SG(PT)-EA-32/3	0.0190	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-9

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/40-47 น้ำหนัก 0.6185 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-11/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-11/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-14

**ตารางที่ 3-14** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/40-47

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-11/Soluble	0.4499	ของเหลวหนืดใส
SG(PT)-EA-11/Insoluble	0.0686	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble น้ำหนัก 0.0686 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค คอลัมน์ โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 3 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-15 และพบว่า fraction SG(PT)-EA-21/70-120 มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-15** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-11/Insoluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-21/1-69	0.0006	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-21/70-120	0.0075	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-2
SG(PT)-EA-21/121	0.0586	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-21/121 น้ำหนัก 0.0586 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-38/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-38/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-16

**ตารางที่ 3-16** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-21/121

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-38/Soluble	0.0066	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-38/Insoluble	0.0528	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/48-50 น้ำหนัก 0.1779 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-13/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-13/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-17 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-13/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-17** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/48-50

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-13/Soluble	0.0994	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-13/Insoluble	0.0204	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-5

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/51-52 น้ำหนัก 0.1070 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-14/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-14/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-18 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-14/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-18** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/51-52

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-14/Soluble	0.0686	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-14/Insoluble	0.0364	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-1

เมื่อนำ fractions SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.8684 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ Sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ ละลายด้วยตัวทำละลาย 100% Methanol ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 13 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-19

**ตารางที่ 3-19** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-11/Soluble, SG(PT)-EA-12/Soluble, SG(PT)-EA-13/Soluble และ SG(PT)-EA-14/Soluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-33/1-27	0.0376	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/28-41	0.0578	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/42-55	0.1491	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/56-60	0.0399	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/61-64	0.0677	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/65-67	0.1032	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/68-70	0.1548	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/71-75	0.1538	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/76-84	0.0353	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/85-89	0.0184	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/90-98	0.0094	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/99-126	0.0079	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-33/127	0.0808	ของแข็งสีน้ำตาล

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-33/1-27 น้ำหนัก 0.0376 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-43/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-43/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-20

**ตารางที่ 3-20** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/1-27

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-43/Soluble	0.0307	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-43/Insoluble	0.0069	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-33/42-55 น้ำหนัก 0.1491 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-46/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-46/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-21

**ตารางที่ 3-21** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/42-55

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-46/Soluble	0.1384	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-46/Insoluble	0.0107	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-33/56-60 น้ำหนัก 0.0399 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-44/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-44/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-22

**ตารางที่ 3-22** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/56-60

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-44/Soluble	0.0386	ของแข็งสีเหลืองเข้ม
SG(PT)-EA-44/Insoluble	0.0012	ของแข็งสีขาว

นำ fraction SG(PT)-EA-33/61-64 น้ำหนัก 0.0677 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (100%) พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-45/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-45/Insoluble] และเมื่อนำ SG(PT)-EA-45/Insoluble ทำการตรวจสอบด้วย TLC พบว่ายังมีความไม่บริสุทธิ์ จึงนำ SG(PT)-EA-45/Insoluble มาตกผลึกซ้ำด้วยตัวทำละลายเมทานอล (100%) ได้สาร 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/sol)] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/insol)] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-23

**ตารางที่ 3-23** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-33/61-64

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-45/Soluble	0.0052	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/sol)	0.0609	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-45/Insoluble(M/insol)	0.0016	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-1/53-69 น้ำหนัก 1.4221 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-9/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเมทานอล [SG(PT)-EA-9/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-24

**ตารางที่ 3-24** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-1/53-69

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-9/Soluble	1.0060	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-9/Insoluble	0.4161	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fractions SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.8684 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ชะด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกัน จะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 13 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-25 และพบว่า SG(PT)-EA-25/126-144 มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-25** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-1/70-75 และ SG(PT)-EA-9/Soluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-25/1-39	0.0257	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/40-59	0.0119	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/60-66	0.0075	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/67-77	0.0119	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-25/78-125	0.0207	ของแข็งสีเหลืองอ่อน
SG(PT)-EA-25/126-144	0.0308	ของแข็งสีเหลืองอ่อน NMR(AA)-4
SG(PT)-EA-25/145-168	0.0789	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/169-186	0.0454	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/187-245	0.0778	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/246-270	0.0189	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/271-346	0.0836	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-25/347	1.4807	ของแข็งสีเหลืองเข้ม
SG(PT)-EA-25/348	0.0153	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-25/78-125 น้ำหนัก 0.0207 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-39/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-39/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-26 นอกจากนี้เมื่อนำ ทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-39/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR



ตารางที่ 3-26 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/78-125

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-39/Soluble	0.0109	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-39/Insoluble	0.0049	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-11

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-25/126-144 น้ำหนัก 0.0308 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิล-อะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-40/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-40/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-27 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-40/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

ตารางที่ 3-27 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/126-144

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-40/Soluble	0.0020	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-40/Insoluble	0.0098	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-12

เมื่อนำ fractions SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186 มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.1155 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค PLC ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ด้วยระบบตัวทำละลาย Hexane ต่อ Ethyl acetate หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 6 fractions โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-28

ตารางที่ 3-28 น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-25/145-168 และ SG(PT)-EA-25/169-186

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-57/1	0.0050	ของแข็งขาว
SG(PT)-EA-57/2	0.0180	ของแข็งขาว
SG(PT)-EA-57/3	0.0247	ของแข็งขาว
SG(PT)-EA-57/4	0.0199	ของแข็งขาว
SG(PT)-EA-57/5	0.0147	ของแข็งขาว
SG(PT)-EA-57/6	0.0192	ของแข็งขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-57/1 น้ำหนัก 0.0050 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายไดคลอโรมีเทน [SG(PT)-EA-59/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายไดคลอโรมีเทน [SG(PT)-EA-59/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-29 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-59/Soluble มี



ลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-29** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-57/1

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ	
SG(PT)-EA-59/Soluble	0.0011	ของแข็งสีขาว	NMR(AA)-24
SG(PT)-EA-59/Insoluble	0.0024	ของแข็งสีขาว	

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-57/6 น้ำหนัก 0.0192 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-58/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-58/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-30

**ตารางที่ 3-30** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-57/6

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ	
SG(PT)-EA-58/Soluble	0.0055	ของแข็งสีขาว	
SG(PT)-EA-58/Insoluble	0.0084	ของแข็งสีขาว	

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-58/Insoluble น้ำหนัก 0.0069 g มาทำการแยกด้วยเทคนิค PLC ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ไซด้วยระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง Hexane ต่อ Dichloromethane ต่อ Ethyl acetate หลังจากนั้นนำแผ่น PLC ดังกล่าวไปดูภายใต้แสง UV (254 nm) พบว่าสามารถจำแนกสารได้ทั้งหมด 2 fractions โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-31 และพบว่าทั้ง 2 fractions มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-31** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-58/Insoluble

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ	
SG(PT)-EA-60/1	0.0014	ของแข็งสีขาว	NMR(AA)-28
SG(PT)-EA-60/2	0.0008	ของแข็งสีขาว	NMR(AA)-29

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-25/187-245 น้ำหนัก 0.0778 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-41/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-41/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-32 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-41/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-32** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/187-245

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-41/Soluble	0.0678	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-41/Insoluble	0.0079	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-13

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-25/271-346 น้ำหนัก 0.0836 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิล-อะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-42/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-42/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-33 นอกจากนี้เมื่อนำทั้ง 2 fractions มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า SG(PT)-EA-42/Insoluble มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-33** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/271-346

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-42/Soluble	0.0796	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-42/Insoluble	0.0015	ของแข็งสีขาว NMR(AA)-14

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-25/348 น้ำหนัก 0.0153 g มาทำการละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-47/Soluble] และส่วนที่ไม่ละลายเอทิลอะซิเตท [SG(PT)-EA-47/Insoluble] โดยน้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-34

**ตารางที่ 3-34** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-25/348

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-47/Soluble	0.0055	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-47/Insoluble	0.0084	ของแข็งสีขาว

เมื่อนำ fraction SG(PT)-EA-M(Insol) น้ำหนัก 0.3000 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ Sephadex LH-20 เป็นตัวดูดซับ ละลายด้วยตัวทำละลาย 100% Methanol ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 6 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-35 และเมื่อนำ fractions SG(PT)-EA-49/6-13, SG(PT)-EA-49/14-28 และ SG(PT)-EA-49/29-50 มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่า fractions SG(PT)-EA-49/6-13, SG(PT)-EA-49/14-28 และ SG(PT)-EA-49/29-50 มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์คือเห็นสารเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC จึงได้นำ fraction ดังกล่าวไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR

**ตารางที่ 3-35** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fraction SG(PT)-EA-M(Insol)

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-49/1-5	0.0067	ของแข็งสีเหลือง
SG(PT)-EA-49/6-13	0.0148	ของแข็งสีเหลือง NMR(AA)-19
SG(PT)-EA-49/14-28	0.0522	ของแข็งสีเหลือง NMR(AA)-20
SG(PT)-EA-49/29-50	0.0159	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล NMR(AA)-21
SG(PT)-EA-49/51-60	0.0015	ของแข็งสีน้ำตาล
SG(PT)-EA-49/61	0.0059	ของแข็งสีเหลือง

เมื่อนำ fractions SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28 มารวมกัน ได้น้ำหนักทั้งหมด 0.0402 g มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ะด้วยระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง Dichloromethane ต่อ Ethyl acetate ต่อ Methanol ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ถ้าลักษณะของ TLC ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันจะทำการรวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 2 fractions น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 3-36

**ตารางที่ 3-36** น้ำหนัก และลักษณะทางกายภาพของสารที่แยกได้จาก fractions ผสมระหว่าง SG(PT)-EA-49/6-13 และ SG(PT)-EA-49/14-28

Fraction	น้ำหนัก (g)	ลักษณะทางกายภาพ
SG(PT)-EA-61/1	0.0312	ของแข็งสีขาว
SG(PT)-EA-61/2	0.0033	ของแข็งสีขาว

### 3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากกลีบดอกแค (*S. grandiflora*) มาแยกเพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีโดยอาศัยกระบวนการทางโครมาโทกราฟีต่างๆ พบว่าจากการแยกสารจาก fractions ต่างๆ สารที่มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์ เมื่อทำการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิคอินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) แล้วนั้น รวมทั้งหมด 22 fractions จึงได้นำสารที่มีลักษณะคล้ายกับสารบริสุทธิ์ทั้ง 22 fractions ไปตรวจสอบเพื่อวิเคราะห์หาโครงสร้างด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) จากการทดสอบพบว่า มีเพียง 4 fractions ที่มีปริมาณสารที่มากเพียงพอที่จะสามารถวิเคราะห์หาโครงสร้างได้ ดังนี้

SG(PT)-EA-40/Insoluble [NMR(AA)-12] น้ำหนัก 0.0098 กรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.35 (100% Ethyl acetate) และเมื่อนำไปย้อมด้วย *p*-Anisaldehyde- $H_2SO_4$  และให้ความร้อนที่ 110 °C พบว่า SG(PT)-EA-40/Insoluble ปรากฏแถบสีน้ำเงิน ข้อมูล  $^1H$ -NMR spectra (400 MHz,  $CDCl_3$  + 3 drop  $CD_3OD$ ) พบ  $\delta$  5.26 (1H, m, H-12), 3.37 (1H, m, H-3), 1.58-1.54 (2H, m, H-11), 1.36 (1H, m, H-21), 1.16 (1H, m, H-21), และ 0.73 (1H, m, H-26). ข้อมูล  $^{13}C$ -NMR spectra (100 MHz,  $CDCl_3$  + 3 drop  $CD_3OD$ ) พบ  $\delta$  182.3 (C-28), 143.7 (C-13), 122.5 (C-12), 79.1 (C-3), 55.2 (C-5), 47.6 (C-9), 46.4 (C-17), 45.9 (C-19), 41.7 (C-14), 41.2 (C-18), 39.3 (C-8), 38.7 (C-1), 38.4 (C-4), 37.0 (C-10), 33.8 (C-21), 33.0 (C-29), 32.7 (C-7), 32.4 (C-22), 30.7 (C-20), 28.1 (C-15), 27.7 (C-23), 27.1 (C-2), 25.9 (C-27), 23.6 (C-30), 23.4 (C-16), 23.0 (C-11), 18.3 (C-6), 17.0 (C-26), 15.5 (C-24), และ 15.3

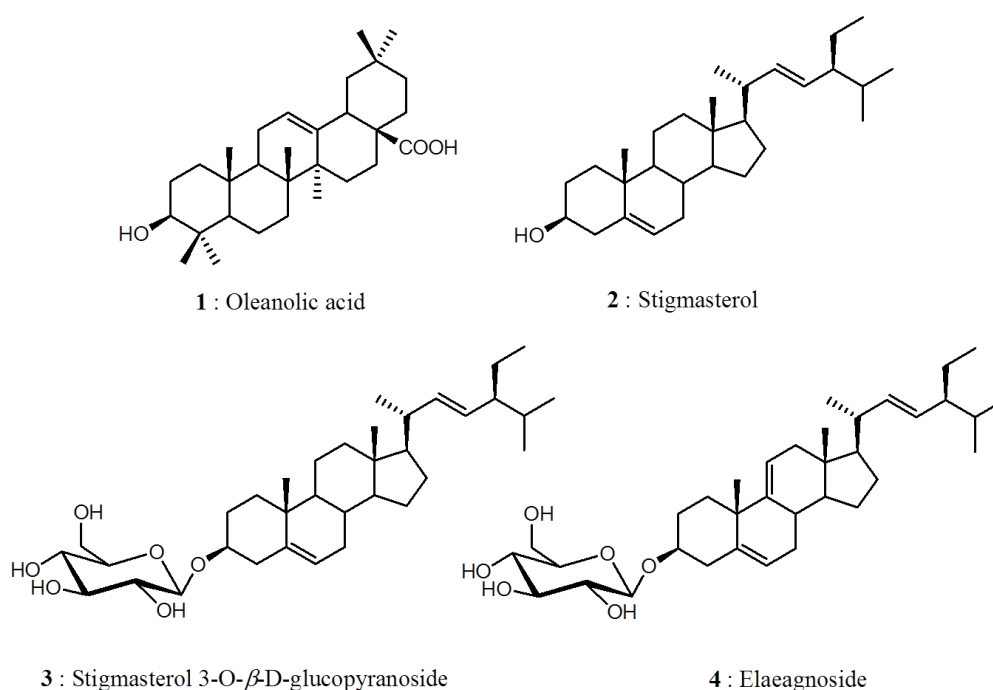
(C-25) จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของ SG(PT)-EA-40/Insoluble กับข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของสารที่มีชื่อว่า Oleanolic acid จากรายงานของ Onoja, E และ Ndukwel, I.G. (2013)<sup>24</sup> พบว่าตรงกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า SG(PT)-EA-40/Insoluble เป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpenoid) ที่เคยมีรายงานมาแล้วที่มีชื่อว่า Oleanolic acid โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 3-1

SG(PT)-EA-23/Insoluble [NMR(AA)-3] น้ำหนัก 0.0090 กรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.37 (Hexane1 ต่อ Ethyl acetate, 6:1) และเมื่อนำไปย้อมด้วย  $p$ -Anisaldehyde- $\text{H}_2\text{SO}_4$  และให้ความร้อนที่ 110 °C พบว่า ปรากฏแถบสีน้ำเงินเข้ม ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) พบ  $\delta$  5.35 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz, H-6), 5.17 (1H, dd,  $J = 8.6, 6.5$  Hz, H-23), 5.03 (1H, dd,  $J = 8.7, 6.5$  Hz, H-22), 3.54 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-21), 0.86 (3H, t,  $J = 2.7, 6.5$  Hz, H-29), 0.84 (3H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-27), 0.81 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-26), และ 0.72 (3H, s, H-19). จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของ SG(PT)-EA-23/Insoluble กับข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของสารที่มีชื่อว่า Stigmasterol จากรายงานของ Pierre, L.L. และ Moses, M.N. (2015)<sup>25</sup> พบว่าตรงกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า SG(PT)-EA-23/Insoluble เป็นสารในกลุ่มสเตียรอยด์ (Steroid) ที่เคยมีรายงานมาแล้วที่มีชื่อว่า Stigmasterol โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 3-1

SG(PT)-EA-41/Insoluble [NMR(AA)-13] น้ำหนัก 0.0079 กรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.48 (100% Ethyl acetate) และเมื่อนำไปย้อมด้วย  $p$ -Anisaldehyde- $\text{H}_2\text{SO}_4$  และให้ความร้อนที่ 110 °C พบว่า SG(PT)-EA-13/Insoluble ปรากฏแถบสีม่วง ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 3$  drop  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) พบ  $\delta$  5.28 (1H, t,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 5.07 (1H, dd,  $J = 8.6, 6.6$  Hz, H-22), 4.93 (1H, dd,  $J = 8.6, 6.5$  Hz, H-23), 4.32 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 3.69-3.65 (2H, m, H-6'), 3.50 (1H, m, H-3) 3.17-3.13 (2H, m, H-11), 2.33-2.14 (2H, m, H-4'), 1.91 (1H, m, H-5) 1.17 (1H, m, H-17) และ 0.72 (1H, m, H-18). ข้อมูล  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra (100 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 3$  drop  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) พบ  $\delta$  140.2 (C-5), 122.2 (C-6), 101.0 (C-1'), 76.28 (C-5'), 75.5 (C-3'), 73.5 (C-4'), 69.9 (C-3), 61.7 (C-6'), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 51.2 (C-9), 45.8 (C-24), 42.3 (C-4), 42.1 (C-13), 38.7 (C-12), 37.2 (C-1), 36.7 (C-10), 33.9 (C-20), 31.8 (C-2), 29.6 (C-7), 29.1 (C-25), 282 (C-16), 26.0 (C-15), 25.4 (C-23), 22.6 (C-28), 21.2 (C-26), 21.0 (C-11), 19.7 (C-18), 18.9 (C-21), 18.7 (C-27), 12.1 (C-29), และ 11.9 (C-19). จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของ SG(PT)-EA-41/Insoluble กับข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra ของสารที่มีชื่อว่า Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside จากรายงานของ Amina และคณะ (2018)<sup>26</sup> พบว่าตรงกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า SG(PT)-EA-41/Insoluble เป็นสารในกลุ่มสเตียรอยด์ (Steroid) ที่เคยมีรายงานมาแล้วที่มีชื่อว่า Stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 3-1

SG(PT)-EA-13/Insoluble [NMR(AA)-5] น้ำหนัก 0.0204 กรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.19 (100% Ethyl acetate) และเมื่อนำไปย้อมด้วย  $p$ -Anisaldehyde- $\text{H}_2\text{SO}_4$  และให้ความร้อนที่ 110 °C พบว่า SG(PT)-EA-13/Insoluble ปรากฏแถบสีฟ้า ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectra (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 3$  drop  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) พบ  $\delta$  5.35 (1H, bd,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 5.32 (1H, dd,  $J = 2.5, 9.3$  Hz, H-11), 5.10 (1H, dd,  $J = 8.7, 4.9$  Hz, H-22), 4.96 (1H, dd,  $J = 9.0, 6.3$  Hz, H-23), 4.35 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1'), 4.02 (1H, m, H-6'b), 3.80 (1H, m, H-6'b), 3.71 (1H, m, H-3), 3.52 – 3.32 (3H, m, H-3' H-4' H-

5'), 3.21 (1H, m, H-2'), 2.33 (1H, m, H-4a), 2.22 (1H, m, H-4b), 1.93 (1H, m, H-7a), 1.81 (1H, m, H-8), และ 0.74 (1H, s, H-18). ข้อมูล  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$  + 3 drop  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) พบ  $\delta$  140.2 (C-5), 138.2 (C-9), 136.0 (C-22), 130.7 (C-11), 129.7 (C-23), 101.0 (C-1'), 79.1 (C-5'), 77.4 (C-3'), 77.0 (C-2'), 76.8 (C-4'), 71.98 (C-3), 55.9 (C-14), 55.8 (C-17), และ 12.1 (C-29). จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H}$ -NMR spectra ของ SG(PT)-EA-13/Insoluble กับข้อมูลลักษณะทางกายภาพต่างๆ และข้อมูล  $^1\text{H}$ -NMR spectra ของสารที่มีชื่อว่า Elaeagnoside จากรายงานของ Ayaz, M. และคณะ (2009)<sup>27</sup> พบว่าตรงกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า SG(PT)-EA-13/Insoluble เป็นสารในกลุ่มสเตียรอยด์ (Steroid) ที่เคยมีรายงานมาแล้วที่มีชื่อว่า Elaeagnoside โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 3-1



รูปที่ 3-1 โครงสร้างสารที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทของกลีบดอกแค (*S. grandiflora*)

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่ได้พบสารในกลุ่มของไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpenoid) ที่มีชื่อว่า “Oleanolic acid” เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจากรายงานของ Kai Wang และคณะในปี 2018 พบว่า Oleanolic acid สามารถช่วยป้องกันการสูญเสียความจำที่เกิดจากการทำลายโปรตีน  $\text{A}\beta$  ในหนูทดลองได้เป็นอย่างดี และในระหว่างการรักษานั้น Oleanolic acid แสดงผลในการรักษาความสมบูรณ์ของ synaptic เพื่อคืนค่าความแข็งแรงของ synaptic โดยการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน NMDAR2B, CaMKII และ PKC ใน PSD ลดความเข้มข้นของ synaptic  $\text{Ca}^{2+}$  เพิ่มการยับยั้ง LTP หลังจาก  $\text{A}\beta_{25-35}$  การแสดงออกของโปรตีน BDNF, TrkB, CREB ซึ่งอาจเป็นกลไกในการปรับปรุงการเรียนรู้และการขาดความจำ<sup>28</sup> อีกทั้งในปีเดียวกัน Shi Qing Zhang และคณะได้รายงานการศึกษา Oleanolic acid ต่อการป้องกันการทำลายระบบประสาท พบว่า Oleanolic acid ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ประสาทอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้ง Oleanolic acid ส่งเสริมให้ MAP2 เพิ่มขึ้นอย่างน่าทึ่งในขณะที่ Nestin ลดลงอย่างมาก และ Oleanolic acid ยังส่งเสริมการเพิ่ม phosphorylation ของ GSK3 $\beta$  ที่ Ser9 และการแสดงออกของรูปแบบที่ใช้งานของ active-catenin อีกด้วย

ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวที่พบนั้นเป็นการยืนยันว่า Oleanolic acid นั้นอาจจะสามารถช่วยบรรเทาและรักษาโรคทางระบบประสาทได้<sup>29</sup> นอกจากนี้ในปี 2019 José M. Castellano และคณะได้รายงานการศึกษา Oleanolic acid ต่อผลกระทบทางระบบประสาทพบว่า Oleanolic acid ลดการทำงานของเซลล์ BV2microglial ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) โดย Oleanolic acid ยับยั้งการปลดปล่อย IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , และ Nitric Oxide ซึ่งเกี่ยวข้องกับการลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบของระบบประสาท และยับยั้งการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ (iNOS) และการเสริมแรงของการป้องกันเซลล์สารต้านอนุมูลอิสระภายนอกได้เป็นอย่างดีอีกด้วย<sup>30</sup>

จากข้อมูลดังกล่าวนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่า “แค (Sesbania grandiflora)” เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ที่พบมากในประเทศไทยและมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อนนั้น สามารถช่วยป้องกันและยับยั้งภาวะการเกิดโรคอัลไซเมอร์ในแง่มุมมองต่างๆ ทางเภสัชวิทยาได้ โดยสามารถป้องกันอนุมูลอิสระ ป้องกันการอักเสบของเซลล์ ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่เป็นเอนไซม์สำคัญต่อการทำลายระบบประสาท และยังสามารถส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทให้ดีขึ้นอีกด้วย



## 4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)

“แค (*Sesbania grandiflora*)” เป็นพืชที่นิยมนำมาประกอบอาหารจัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ที่พบมากในประเทศไทยและมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านเภสัชวิทยาและตามตำราแพทย์แผนไทย โดยใช้ส่วนต่างๆ ของแคในการรักษาอาการปวดศีรษะ ไมเกรน รักษาอาการหวัด แก้ไข้ตัวร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแค สำหรับช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุ และเพื่อนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนและองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โดยเมื่อนำส่วนที่รับประทานได้และนิยมรับประทานคือส่วนดอกและยอดอ่อน มาทำการสกัดด้วยวิธีการแช่หมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความมีขั้วคือ เริ่มต้นจากทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วคือเฮกเซน และตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ พบว่า ยอดอ่อนแค (Shoot) มีร้อยละผลผลิตรวมสูงที่สุดเท่ากับ 85.31% รองลงมาคือกลีบดอก (Petal; 82.14%), ฐานรองดอก (Sepal; 76.12%) และเกสร (Stamen; 72.32%) ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดพบว่าตัวทำละลายเมทานอลของทุกส่วนสกัดมีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าสารทุติยภูมิจากส่วนที่รับประทานได้ของแคนั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงสูงมีปริมาณมากกว่าสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อย

จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีรายงานว่า เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี จากการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดนั้นเป็นสารสกัดที่มาจากส่วนของดอก และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในส่วนสกัดหยาบของดอกและยอดอ่อนแค นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วปานกลางถึงสูง อีกทั้งได้นำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Antiinflammatory activity) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE activity) และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของเกสร [SG(SM)-EA] แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลของกลีบดอก และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทของฐานรองดอก ตามลำดับ โดยพบอีกว่าส่วนสกัดหยาบจากยอดอ่อนแค (Shoot) ทั้ง 3 สารสกัด [SG(SH)-H, SG(SH)-EA และ SG(SH)-M] นั้นมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระน้อย และน้อยกว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนของดอก (Flowers) อีกด้วย มากไปกว่านั้นผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) ของส่วนที่รับประทานได้ของแคไม่ว่าจะเป็นยอดอ่อนหรือดอกนั้นแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดี และดีกว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) และเมทานอล (Methanol extracts) ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแค นั้นเป็นสารทุติยภูมิที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย (Non-polar compounds) ซึ่งตรงกันข้ามกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นจะเป็นสารที่มีขั้วปานกลางถึงขั้วสูง (Polar compounds) ในทำนองเดียวกัน ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสพบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (Hexane extracts) และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate extracts) ของส่วนที่นิยมรับประทานเป็นอาหารของแค นั้นก็คือกลีบดอก (Petal) และยอดอ่อน (Shoot) นั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่ดี และดีกว่าส่วนสกัดหยาบจากเกสร (Stamen) และฐานรองดอก (Sepal) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่นิยมนำมารับประทาน

ผลการทดลองดังกล่าวนี้เป็นการยืนยันภูมิปัญญาของคนไทยต่อการบริโภคแค (*S. grandiflora*) ในการประกอบอาหาร กล่าวคือเวลาจะประกอบอาหารในส่วนของดอกแคนั้น จะมีการนำส่วนของเกสรออกเสียก่อน และไม่ยอมรับประทานส่วนฐานรองดอก รวมทั้งส่วนของยอดอ่อนก็นิยมนำมารับประทานเป็นผัก แก่ล้มน้ำพริกอีกด้วย นอกจากนี้จากผลการทดลองที่ได้พบพบว่า สารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแคนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่มีขั้วน้อยถึงขั้วปานกลางซึ่งคล้ายหรือสอดคล้องกับฤทธิ์ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนที่รับประทานได้ของดอกแคที่พบว่าสารออกฤทธิ์เป็นสารที่มีขั้วน้อย

จากผลการวิจัยที่ได้พบว่า “แค” สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสารสื่อประสาทนั้นคือเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส รวมทั้งส่วนสกัดหยาบของแคทุกส่วนสกัดนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการบริโภค “แค” อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้

### **ข้อเสนอแนะ การทำวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้**

งานวิจัยนี้พบว่า “แค” สามารถช่วยในการบรรเทาพยาธิวิทยาของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งภาวะการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายสารสื่อประสาทนั้นคือเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส รวมทั้งส่วนสกัดหยาบของแคทุกส่วนสกัดนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย แต่ข้อมูลดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ถ้าจะนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของอาหารเสริมที่เป็นสารสกัดจากแค ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลองต่อไป อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้พบว่าการบริโภค “ดอกแค” ในส่วนการนำไปปรุงเป็นอาหารก็มีโอกาสที่อาจจะช่วยบรรเทาและป้องกันโรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและพบมากในผู้สูงอายุได้



## บรรณานุกรม

1. Anulika, N.P., Ignatius, E.O., Raymond, E.S., Osasere, O.-I., Abiola, A.H. (2016). The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, 4(8), 1–8.
2. Smitinan, T. 2014. *Thai plant names* (botanical names-vernacular names). Bangkok, Thailand: Royal Forest Department, 511–512.
3. Wagh, V.D., Wagh, K.V., Tandale, Y.N., Salve, S.A. (2009). Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): A review. *Journal of Pharmacy Research*, 2(5), 889–892.
4. [http://mdu16.rtarf.mi.th/www\\_new/images/work/2/14.Agasta.pdf](http://mdu16.rtarf.mi.th/www_new/images/work/2/14.Agasta.pdf)
5. Santos-Neto, L.L., Toledo, M.A.V., Medeiros-Souza, P., Souza, G.A. (2006). The use of herbal medicine in Alzheimer's disease – A systematic review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 3(4), 441–445.
6. Sebastian, R., Brown, T.L. (2016). Alzheimer's disease prevention and treatment using herbal agents. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 2(4), 1–4.
7. Fojas, F.R., Barrientos, C.M., Capal, T.V., Cruzada, S.F., Sison, F.M., Co, Y.C., Chua, N.G., Gavina, T.L. (1982). Preliminary phytochemical and pharmacological studies of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Philippine Journal of Sciences*, 111, 157–181.
8. Bahera, M., Karki, R., Shekar, C. (2012). Preliminary phytochemical analysis of leaf and bark methanolic extract of *Sesbania grandiflora*. *The Journal of Phytopharmacology*, 1(2), 10–20.
9. Raji, A.F., Alphonse, N.R. (2013). Phytochemical study on *Sesbania grandiflora*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(2), 196–201.
10. Laladhas, K.P., Cheriyan, V.T., Puliappadamba, V.T., Bava, S.V., Unnithan, R.G., Vijayammal, P.L., Anto, R.J. (2010). A novel protein fraction from *Sesbania grandiflora* shows potential anticancer and chemopreventive efficacy in vitro and in vivo. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(3), 636–646.
11. Gupta, R., Dumore, N., Danao, K., Motiwala, M. (2013). Biological screening for cytotoxic potential of *Sesbania grandiflora* bark extract against human ovary epithelial teratocarcinoma using PA-1 cell lines, brine shrimp lethality bioassay and *Aillum cepa* root model. *Journal of Natural Products Plant Resource*, 3(5), 18–25.

12. Sutradhar, K.B., Choudhury, N.F. (2012). Analgesic and CNS depressant activity of the crude extract of *Sesbania grandiflora*. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(3), 56–61.
13. Munde-Wagh, K.B., Wagh, V.D., Toshniwal, S.S., Sonawane, B.R. (2012). Phytochemical, antimicrobial evaluation and determination of total phenolic and flavonoid contents of *Sesbania grandiflora* flower extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 229–232.
14. Padmalochana, K., Dhana Rajan, M.S. (2014). Antimicrobial activity of aqueous, ethanol and acetone extracts of *Sesbania grandiflora* leaves and its phytochemical characterization. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5(12), 957–962.
15. Siddhuraju, P., Abirami, A., Nagarani, G., Sangeethapriya, M. (2014). Antioxidant capacity and total phenolic content of aqueous acetone and ethanol extract of edible parts of *Moringa oleifera* and *Sesbania grandiflora*. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(9), 1090–1098.
16. Zarena, A.S., Gopal, S., Vineeth, R. (2014). Antioxidant, antibacterial, and cytoprotective activity of Agathi leaf protein. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1–8.
17. Karumari, R.J., Sumathi, S., Vijayalakshmi, K., Balasubramanian, S.E. (2014). Anthelmintic efficacy of *Sesbania grandiflora* leaves and *Solanum torvum* fruits against the nematode parasite *Ascaridia galli*. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(5), 326–333.
18. Rajagopal, P.L., Premaletha, K., Sreejith, K.R. (2016). Anthelmintic activity of the flowers of *Sesbania grandiflora* Pers. *Journal of Innovations in Applied Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 8–11.
19. Padmalochana, K., Dhana Rajan, M.S. (2015). In-vitro anticancer activity of different extracts of *Sesbania grandiflora* against HEP2 cell lines. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 1589–1592.
20. Sripradha, Lakshmi, T. (2015). In vitro Anti-arthritis activity of *Sesbania grandiflora* ethyl acetate extract. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 8(11), 1509–1511.
21. Saifudin, A., Forentin, A.M., Fadhilah, A., Tirtodiharjo, K., Melani, W.D., Widyasari, D., Saroso, T.A. (2016). Bioprospecting for anti-Streptococcus mutans: The activity of 10% *Sesbania grandiflora* flower extract comparable to erythromycin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 751–754.

22. Hasan, N., Osman, H., Mohamad, S., Chong, W.K., Awang, K., Mohd Zahariluddin, A.S. (2012). The chemical components of *Sesbania grandiflora* root and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals*, 5, 882–889.
23. Osman, H., Hasan, N., Chong, W.K., Awang, K., Manshoor, N. (2012). Isolation and characterization of 1,1'-binaphthalene-2,2'-diol, a new biaryl natural product from *Sesbania grandiflora* root. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 8, 253–256.
24. Onoja, E., Ndukwe, I.G. (2013). Isolation of oleanolic acid from chloroform extract of *Borreria stachydea* [(DC) Hutch. and Dalziel]. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 3(2), 57–60.
25. Pierre, L.L., Moses, M.N. (2015). Isolation and characterisation of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol from *Odontonema strictum* (Acanthaceae). *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 2(1), 88–95.
26. Amina, M., Alarfaj, N.A., El-Tohamy, M.F., Al Musayeib, N.M., Oraby, H.F. (2018). Sequential injection-chemiluminescence evaluation of stigmasterol glucoside and luteolin via green synthesis of silver nanoparticles using biomass of *Plectranthus asirensis*. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11(4), 523–533.
27. Ayaz, M., Riaz, M., Malik, A., Ahmad, E., Fatima, I., Lodhi, M.A., Chaudhary, M.I. (2009). Elaeagnoside, chymotrypsin inhibiting steroidal glucoside from *Elaeagnus orientalis*. *Natural Product Research*, 23(5), 409–414.
28. Wang, K., Sun, W., Zhang, L., Guo, W., Xu, J., Liu, S., Zhou, Z., Zhang, Y. (2018). Oleanolic acid ameliorates A $\beta$ 25-35 injection-induced memory deficit in Alzheimer's disease model rats by maintaining synaptic plasticity. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 17(5), 389–399.
29. Zhang, S.Q., Lin, K.L., Law, C.Y., Liu, B., Fu, X.Q., Tse, W.S., Wong, S.S.M., Sze, S.C.W., Yung, K.K.L. (2018). Oleanolic acid enhances neural stem cell migration, proliferation, and differentiation in vitro by inhibiting GSK3 $\beta$  activity. *Cell Death Discovery*, 4(48), 1–9.
30. Castellano, J.M., Garcia-Rodriguez, S., Espinosa, J.M., Millan-Linares, M.C., Rada, M., Perona, J.S. (2019). Oleanolic acid exerts a neuroprotective effect against microglial cell activation by modulating cytokine release and antioxidant defense systems. *Biomolecules*, 9(683), 1–17.

## ผลผลิตของโครงการวิจัย (Output)

1. Anan Athipornchai\*, Nattawat Kitsawat, Suwanna Semsri and Warangkana Chunglok. Bioactive compounds from *Sesbania grandiflora* flowers for Alzheimer's disease treatment (Manuscript in preparation).
2. การผลิตบัณฑิตนักวิจัยรุ่นใหม่ระดับปริญญาตรี สาขาเคมี จำนวน 1 คน คือนายนัฐวัฒน์ กิจสวัสดิ์
3. ได้กระบวนการ วิธีการแยกสารบริสุทธิ์ และได้สารบริสุทธิ์ ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งพยาธิวิทยาในป้องกันโรคอัลไซเมอร์จากแค (*Sesbania grandiflora*)