องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นเถาเอ็นอ่อน

นางสาว สุวิมล ประสานคำ
นางสาว ณัฐณิชา เทียมตะวัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โครงการปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
เภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชศาสตร์
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Chemical constituents of *Cryptolepis buchanani* stems

Miss Suwimon Prasankum
Miss Natnicha Thiamtawan

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for the Doctor of Pharmacy Program
in Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
2017

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงการปริญญานิพนธ์	องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นเถาเอ็นอ่อน
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวสุวิมล ประสานคำ
	นางสาวณัฐณิชา เทียมตะวัน
สาขาวิชา/ภาควิชา	การค้นพบและพัฒนายา/
	เภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์	รศ. ภก. ดร.รุทธ์ สุทธิศรี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อ. ภก. ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

..... คณบดี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพ็ชร สกุลบำรุงศิลป์)

..... ประธานสาขาการค้นพบและพัฒนายา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สุญาณี พงษ์ธนานิกร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.รุทธ์ สุทธิศรี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ เภสัชกร ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

โครงการลำดับที่ 3.3
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อปริญญานิพนธ์

ชื่อโครงการ : องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นเถาเอ็นอ่อน

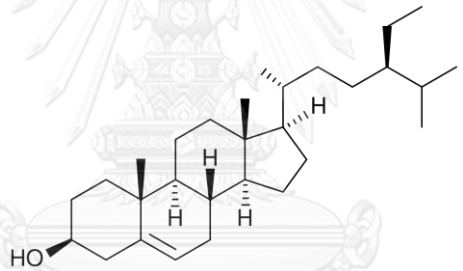
หัวหน้าโครงการ : นางสาวสุวิมล ประสานคำ 5636590933

ผู้ร่วมโครงการ : นางสาวณัฐณิชา เทียมตะวัน 5636522233

อาจารย์ที่ปรึกษา/อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ภก. ดร.รุทธ์ สุทธิศรี, อ. ภก. ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม

สาขา/ภาควิชา : การค้นพบและพัฒนายา/ เภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์

เถาเอ็นอ่อน (*Cryptolepis buchanani*, family Apocynaceae) เป็นไม้เลื้อย มีน้ำยางสีขาวที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ตามตำรายาไทย ลำต้นของพืชชนิดนี้มีสรรพคุณแก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ปวดข้อ และบำรุงเส้นเอ็น เถาเอ็นอ่อนเป็นส่วนประกอบหนึ่งในยาผสมสมุนไพรแก้ปวดเมื่อยซึ่งอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดแยก และพิสูจน์เอกลักษณ์องค์ประกอบทางเคมีที่อาจมีฤทธิ์ดังกล่าวของลำต้นเถาเอ็นอ่อน โดยใช้วิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีในการแยกสารบริสุทธิ์ และนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (เอ็นเอ็มอาร์) สเปกโทรสโกปีในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่แยกได้ สารชนิดหลักที่แยกได้ในงานวิจัยนี้เป็นสารกลุ่มสเตอรอลที่พบในพืช คือ สาร β-sitosterol ซึ่งเคยมีรายงานมาก่อนว่ามีฤทธิ์แก้ปวด และต้านการอักเสบในหนูทดลอง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คณะเภสัชศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Project No. 3.3

Academic year 2017

Abstract

Senior project title : Chemical constituents of *Cryptolepis buchanani* stems

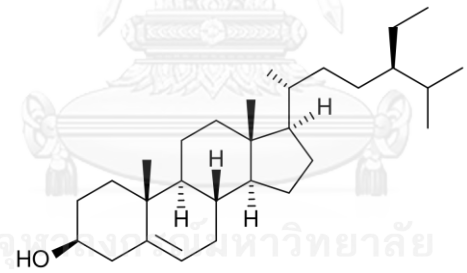
Students' name : Miss Suwimon Prasankum 5636590933

: Miss Natnicha Thiamtawan 5636522233

Advisor/Co-advisor : Assoc. Prof. Rutt Suttisri Ph.D., Chaisak Chansriniyom Ph.D.

Field/Department : Drug discovery and development/ Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

Thao-En-Orn (*Cryptolepis buchanani*, family Apocynaceae) is a climber with milky latex commonly found in Thailand. In Thai herbal medicine, its stem is used in the treatment of muscular aches and pains, arthritis and as a tonic for tendon. It is a component in a herbal composition in the National List of Essential Medicines for the relief of muscle tension and pain. This study aimed to isolate and identify the chemical constituents of *C. buchanani* stems that might be active. Column chromatography was used for the isolation of pure compounds and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy was used for the identification of the isolated compounds. The major compound isolated from this study is the plant sterol β-sitosterol, which has previously been reported to possess analgesic and anti-inflammatory activities in mice.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Faculty of Pharmaceutical Sciences Student's signature .....

Chulalongkorn University Advisor's signature .....

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญานิพนธ์นี้ ผู้ศึกษาขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.รุทธ์ สุทธิศรี อาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์ เภสัชกร ดร.ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณเภสัชกรนนทเลิศ เลิศนิติกุล นิสิตปริญญาเอก ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยและการใช้เครื่องมือต่าง ๆ ในการทำการวิจัยนี้

นอกจากนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการทำวิจัยจนกระทั่งโครงการปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญ		ช
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญภาพ		ญ
สารบัญแผนภาพ		ฏ
บทที่		
1	บทนำ	1
	1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
	1.2 วัตถุประสงค์	1
	1.3 ขอบเขตการวิจัย	1
	1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
	1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
2	ปริทัศน์วรรณกรรม	3
	2.1 เถาเอ็นอ่อน	3
	2.2 วิธีการที่ใช้ในการสกัดแยกสารบริสุทธิ์	5
	2.3 วิธีการที่ใช้ในการพิสูจน์โครงสร้างสารบริสุทธิ์	7
3	วิธีการดำเนินการวิจัย	10
	3.1 พืชสมุนไพร อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ	10
	3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบของส่วนลำต้นเถาเอ็นอ่อนแห้ง	11
	3.3 การสกัดแยกสารสกัดหยาบเบื้องต้น ด้วยวิธี liquid-liquid extraction	11
	3.4 การสกัดแยกสารบริสุทธิ์	12
4	ผลการดำเนินการวิจัย	26
	4.1 โครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดแยกได้จากลำต้นของเถาเอ็นอ่อน	26
5	อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	28
	5.1 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	28
	5.2 ข้อเสนอแนะ	29

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
รายการอ้างอิง	30
ภาคผนวก	32

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การแยกสารสกัด Hexane และการรวม fractions ย่อย	14
ตารางที่ 2 การแยก H-1 และการรวม fractions ย่อย	14
ตารางที่ 3 การแยก H-1.2 และการรวม fractions ย่อย	15
ตารางที่ 4 การแยก H-1.2.3 และการรวม fractions ย่อย	16
ตารางที่ 5 การแยก H-1.2.3.2 และการรวม fractions ย่อย	17
ตารางที่ 6 การแยก H-1.2.3.2.2 และการรวม fractions ย่อย	17
ตารางที่ 7 การแยก H-1.2.3.2.3 และการรวม fractions ย่อย	18
ตารางที่ 8 การแยก H-1.2.3.3 และการรวม fractions ย่อย	18
ตารางที่ 9 การแยก H-1.2.3.3.3 และการรวม fractions ย่อย	19
ตารางที่ 10 การแยก H-1.2.3.3.3.2 และการรวม fractions ย่อย	19
ตารางที่ 11 การแยก H-1.2.3.4 และการรวม fractions ย่อย	20
ตารางที่ 12 การแยก H-1.2.3.5 และการรวม fractions ย่อย	21
ตารางที่ 13 การแยก H-3 และการรวม fractions ย่อย	21
ตารางที่ 14 การแยก H-4 และการรวม fractions ย่อย	22
ตารางที่ 15 การแยกสารสกัด Ethyl acetate และการรวม fractions ย่อย	24
ตารางที่ 16 การแยก E-2 และการรวม fractions ย่อย	25
ตารางที่ 17 การแยก E-2.3 และการรวม fractions ย่อย	25
ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบ ^{13}C-NMR data ของ P-1 กับ β-sitosterol	27

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ลักษณะทั่วไปของเถาเอ็นอ่อน 3
รูปที่ 2 การแยกของผสมตามหลักโครมาโทกราฟี 6
รูปที่ 3 การจัดเรียงตัวของนิวเคลียส เมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็ก (B_0) 8
รูปที่ 4 การเกิดสเปกตรัมที่มีการ splitting เนื่องจากผลของนิวเคลียสข้างเคียง 9
รูปที่ 5 โครงสร้างของสาร β-sitosterol 26
รูปที่ 6 ^{1}H-NMR spectrum ของสาร P-1 (300 MHz, $CDCl_3$, **δ**) 33
รูปที่ 7 ^{13}C-NMR spectrum ของสาร P-1 (75 MHz, $CDCl_3$, **δ**) 34

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

สารบัญแผนภาพ

หน้า

แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดแยกสารสกัดหยาบเบื้องต้นด้วยวิธี liquid-liquid extraction 12
แผนภาพที่ 2 การสกัดแยกสารสกัด Hexane 13
แผนภาพที่ 3 การสกัดแยกสารสกัด Ethyl acetate 23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เถาเอ็นอ่อน เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. ในประเทศไทย เถาเอ็นอ่อนเป็นพืชที่พบได้ทั่วไป มักขึ้นเลื้อยพันต้นไม้ใหญ่ตามป่าพื้นราบหรือตามที่รกร้างทั่วไป ตามตำรายาไทย ลำต้นของเถาเอ็นอ่อน มีสรรพคุณบำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้ปวดเมื่อย ขัดยอก ใบมีรสเบื่อเอียน ใช้ทำลูกประคบ แก้เมื่อยขบ แก้ปวดเสียวเส้นเอ็น ช่วยคลายเส้นเอ็น เถามีรสขมเบื่อมัน ใช้ต้มน้ำดื่มเพื่อบำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้เส้นเอ็นพิการ เส้นแข็ง ปวดเมื่อยเส้นเอ็น เมล็ดมีรสขมเมา ใช้ขับลมในกระเพาะอาหาร แก้จุกเสียดแน่นเฟ้อ[1] ในบัญชียาหลักมีการใช้เถาเอ็นอ่อนเป็นส่วนประกอบหนึ่งในกลุ่มยาสมุนไพรแผนโบราณ ได้แก่ ยาผสมโคคลาน ซึ่งเป็นยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณ ในกลุ่มยากษัยเส้น และยาบรรเทาอาการปวดเมื่อย เป็นยาทั้งใช้รับประทานและใช้ภายนอก[2] ในท้องตลาดได้มีการนำสมุนไพรเถาเอ็นอ่อนมาผลิตเพื่อจำหน่ายในรูปแบบต่าง ๆ มากมาย เช่น ยาน้ำแผนโบราณ ยาลูกกลอน ยาแคปซูล และยาขี้ผึ้งสำหรับใช้ภายนอก โดยระบุว่ามีสรรพคุณเป็นยาบำรุงร่างกาย บรรเทาอาการปวดเมื่อย คลายเส้นเอ็น และกล้ามเนื้อ แก้ปวดหลัง ปวดเอว

การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีในส่วนต่าง ๆ ของต้นเถาเอ็นอ่อน ได้รายงานว่า พบสารกลุ่ม steroidal glycosides ชนิด cardenolide ได้แก่ สาร sarmetogenin[3], cryptosin[4], sarverogenin[5] ในใบและรากของเถาเอ็นอ่อน และพบสารกลุ่ม alkaloids ได้แก่ สาร buchananine หรือ 6-*O*-nicotinoyl-α-D-glucopyranose[6] และ 1,3,6-*O*-trinicotinoyl-α-D-glucopyranose[7] และในน้ำยาง (latex) พบเอนไซม์ cryptolepain[8] ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน พบว่า สารสกัดเอทานอล (ethanol) มีฤทธิ์ลดอาการอักเสบแบบเฉียบพลัน โดยสามารถลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยคาราจีแนนได้[9] และยังพบฤทธิ์ต้านจุลชีพ[10] รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[11] ด้วยเช่นกัน การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่การสกัดแยกสารสำคัญจากลำต้นเถาเอ็นอ่อน เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานด้านองค์ประกอบทางเคมีของสารบริสุทธิ์ซึ่งอาจนำไปใช้พัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีและพิสูจน์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์จากลำต้นเถาเอ็นอ่อน

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental study) และใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) ในการวิเคราะห์ข้อมูล

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 กำหนดหัวข้อและวัตถุประสงค์โครงการปริญญานิพนธ์

1.4.2 ทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับสมุนไพรเถาเอ็นอ่อน

1.4.3 วางแผนขั้นตอนการทดลอง

1.4.4 เตรียมสารสกัดหยาบจากลำต้นแห้งของเถาเอ็นอ่อน

1.4.5 สกัดแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเถาเอ็นอ่อน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรเถาเอ็นอ่อน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรม (Literature review)

2.1 เถาเอ็นอ่อน

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

เถาเอ็นอ่อน เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cryptolepis buchanani* ชื่ออื่นของเถาเอ็นอ่อน คือ เมื่อย (ภาคกลาง), ตีนเป็ดเครือ (ภาคเหนือ), เครือเถาเอ็น (เชียงใหม่), หญ้าลิเลน (ปัตตานี) และหมอตีนเป็ด (สุราษฎร์ธานี) ลักษณะเป็นไม้เถาเลื้อย ยางมีสีขาวข้น ใบเดี่ยว รูปรีหรือรูปไข่ สีเขียวเป็นมันลื่น ดอกออกเป็นช่อที่ซอกใบ ดอกมีสีเหลืองอ่อน กลีบดอกมี 5 แฉก ผลรูปกระสวย โคนติดกัน ฝักแก่แตกได้ เมล็ดรีสีน้ำตาล มีขนสีขาวติดอยู่ที่ปลายเมล็ด[1]

รูปที่ 1 ลักษณะทั่วไปของเถาเอ็นอ่อน[12]

2.1.2 สรรพคุณ

- ลำต้น(เถา) บำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้ปวดเมื่อย มีรสขมเบื่อมัน ใช้ต้มน้ำดื่มเพื่อบำรุงเส้นเอ็นให้แข็งแรง แก้เส้นเอ็นพิการ เส้นแข็ง ปวดเมื่อยเส้นเอ็น แก้ขัดยอก
- ใบ บำรุงเส้นเอ็น แก้ปวดเมื่อย มีรสเบื่อเอียน ใช้ทำลูกประคบ แก้เมื่อยขบ แก้ปวดเสียวเส้นเอ็น ช่วยคลายเส้นเอ็น
- เมล็ด มีรสขมเมา ใช้ขับลมในกระเพาะอาหาร แก้จุกเสียดแน่นเฟ้อ[1]

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของส่วนลำต้นเถาเอ็นอ่อน

Dutta และคณะ ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ *Cryptolepis buchananii* ด้วยวิธีทางเคมีและสเปกโทรสโกปีโดยใช้ส่วนลำต้นที่สกัดด้วยเอทานอล พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ได้แก่ buchananine หรือ 6-*O*-nicotinoyl-α-D-glucopyranose[6] และต่อมามีการรายงานว่าพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์เพิ่มเติม ได้แก่ 1,3,6-*O*-trinicotinoyl- α-D-glucopyranose[7]

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Laupattarakasem และคณะ ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดเอทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อน ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบแบบฉับพลันซึ่งใช้สารแคลเซียมไอโอโนฟอร์ A23187 ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อลิตร กระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear neutrophils leukocytes (PMNs) ที่ได้มาจากหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley พบว่าสารสกัดเอทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการอักเสบผ่านการยับยั้ง thromboxane B2 (TXB_2) และ Leukotriene B4 (LTB_4) และในส่วนของการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบแบบเรื้อรังโดยใช้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง ชนิด THP-1 (human leukemia monocytic THP-1 cell) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ถูกกระตุ้นการสร้าง TNF-α ด้วยสารลิโพพอลิแซ็กคาร์ไรด์ (lipopolysaccharide) ขนาด 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดเอทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด นอกจากนี้การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนในหนูสายพันธุ์ ICR โดยการให้สารสกัดทางปากต่อเนื่องกันนาน 7 วัน และให้สารสกัดขนาดต่าง ๆ ด้วยการฉีดเข้าทางช่องท้อง ต่อเนื่องกันนาน 7 วัน พบว่าสารสกัดเอทานอลของเถาเอ็นอ่อนทุกขนาดที่ให้ทางปากและฉีดเข้าทางช่องท้องไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนู ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว หนูมีการเคลื่อนไหวและทำกิจกรรมต่าง ๆ ได้ปกติ ไม่มีอาการซึม และขนาดของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 (LD_{50}) เท่ากับ 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[13]

Hanprasertpong และคณะ ทำการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดเถาเอ็นอ่อน พบว่า สารสกัดเมทานอล (methanol) สามารถลดการตอบสนองของหนู mice ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดอาการเจ็บปวดด้วย acetic acid (acetic acid-induced writhing test) ลดอาการบวมบริเวณหูของหนูแรทที่ถูกกระตุ้นให้เกิดอาการบวมด้วยเอทิลฟีนิลโพรพิโอเลท (ethyl phenylpropiolate) และลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดอาการบวมด้วยคาราจีแนน นอกจากนี้สารสกัดเมทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อน ยังมีฤทธิ์ในการปกป้องกระดูกอ่อนในหลอดทดลอง จากวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจากกระดูกอ่อนของฝ่าเท้าหมู (metacarpophalangeal joints) ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการสลายตัวด้วย interleukin-1β (IL-1β) พบว่า sulfated glycosaminoglycan และ hyaluronan ซึ่งเป็นสารบ่งชี้การเสื่อมสลายของกระดูกอ่อน ที่หลั่งออกมาจากกระดูกอ่อนในอาหารเพาะเลี้ยง มีปริมาณลดลง และลดการทำงานของ metrix metalloproteinase-2 (MMP-2) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนของโรคข้อเสื่อม จึงสรุปว่าสารสกัดเมทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อน มีฤทธิ์ระงับอาการปวด ต้านการอักเสบ และปกป้องกระดูกอ่อน[9]

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

2.1.4 บัญชียาหลักแห่งชาติ

จากประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2560 เถาเอ็นอ่อน เป็นส่วนผสมในยาผสมโคคลาน[2] ซึ่งเป็นยารักษากลุ่มอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูก ในรายการบัญชียาจากสมุนไพร

ยาผสมโคคลาน (สูตรตำรับที่ 3, รูปแบบยาต้ม)

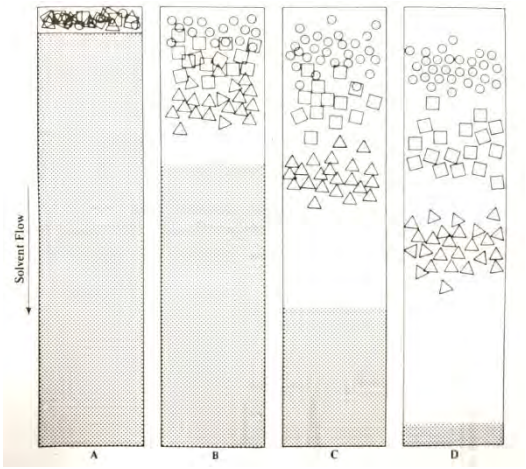
- ในยา 100 กรัม ประกอบด้วย เถาโคคลาน เถาเอ็นอ่อน แก่นฝาง เถาสะค้าน หนักสิ่งละ20 กรัม โด่ไม่รู้ล้ม ทองพันชั่ง (ทั้งต้น) หนักสิ่งละ 10 กรัม
- ข้อบ่งใช้ บรรเทาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย
- ขนาดและวิธีใช้ นำตัวยาทั้งหมดมาเติมให้น้ำท่วมตัวยา ต้มน้ำเคี่ยว สามส่วนเหลือหนึ่งส่วน ดื่มครั้งละ 120 - 200 มิลลิลิตร วันละ 3 ครั้ง ก่อนอาหาร

2.2 วิธีการที่ใช้ในการสกัดแยกสารบริสุทธิ์

2.2.1 โครมาโทกราฟี (Chromatography)

โครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัว (distribution of partition) ของสารตัวอย่าง (solute) ไประหว่างสองเฟส คือ เฟสคงที่ (stationary phase) ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ล้อมรอบวัสดุช่วยพยุง (inert supporting material) ที่บรรจุในคอลัมน์ (column chromatography) หรือเคลือบกระจก (thin layer chromatography) หรือเคลือบบนกระดาษ (paper chromatography) ทำหน้าที่ในการแยกสารหรือองค์ประกอบของสารตัวอย่างออกจากกัน และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งอาจเป็นแก๊สหรือของเหลว ทำหน้าที่ชะล้างหรือพาสารเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ ขณะที่เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนผ่านเฟสคงที่ องค์ประกอบหรือสารชนิดต่าง ๆ ในสารตัวอย่างจะมีการเคลื่อนที่ผ่านเข้าและออกระหว่างเฟสทั้งสองหลาย ๆ ครั้ง หรือมีการหน่วงเหนี่ยว (retaintion) ไว้ในเฟสคงที่ ซึ่งขึ้นกับคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมีขององค์ประกอบหรือสารแต่ละชนิดที่อยู่ในสารตัวอย่าง ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเฟสทั้งสอง จากความแตกต่างนี้ ทำให้สารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ผ่านเฟสคงที่ในอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆออกจากกันได้

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 2 การแยกของผสมตามหลักโครมาโทกราฟี (พื้นที่ที่เป็นจุดแสดงถึงตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่)[12]

จุดประสงค์ของการทำโครมาโทกราฟี

- ใช้แยกสารแต่ละชนิดออกจากสารผสม และทำสารให้บริสุทธิ์ขึ้น (purification)
- ตรวจความสม่ำเสมอ (homogeneity) ของสารตัวอย่าง
- ตรวจเอกลักษณ์ของสาร (qualitative analysis) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

โครมาโทกราฟี สามารถจำแนกออกได้เป็นหลายชนิด ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะเทคนิคที่มีการนำมาใช้ในการวิจัยในครั้งนี้เท่านั้น ดังนี้

2.2.1.1 Adsorption Chromatography หรือ Liquid-Solid Chromatography (LSC)

หลักการของการแยกสารด้วยวิธีนี้ คือ การอาศัยการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ที่ต่างกันระหว่างสารกับตำแหน่งซึ่ง active บนผิวตัวดูดซับที่ใช้เป็นเฟสคงที่ ตัวดูดซับนั้นอาจถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์หรืออยู่บนเพลท หรือซึมเข้าไปในส่วนของกระดาษที่มีรูพรุน ตัวดูดซับโดยทั่วไปแล้วจะเป็นของแข็งที่มีรูพรุนและมีพื้นที่ผิวมาก เช่น ผง silica gel, alumina หรือถ่าน (charcoal) ตำแหน่งที่ active เช่น silanol group ที่อยู่บนผิวของ silica gel โดยทั่วไปแล้วสามารถเกิดอันตรกิริยาได้กับสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้ว (polar functional group) ส่วนของสารประกอบที่มีขั้วต่ำหรือไม่มีขั้วที่อยู่ในโมเลกุลจะมีอิทธิพลต่อการแยกสารน้อยมาก

2.2.1.2 Thin-Layer Chromatography (TLC)

TLC เป็นเทคนิคการแยกสารโดยใช้แผ่นกระจก อะลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติก เคลือบด้วยผงของแข็งของตัวดูดซับ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-40 ไมโครเมตร (μm) เป็นเฟสคงที่โดยนิยมใช้ silica gel, alumina, cellulose และ polyamides

กระบวนการดำเนินการจะจุดสารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC แล้วนำไปทำการแยกในภาชนะปิดโดยนิยมใช้ภาชนะที่ทำด้วยแก้ว ภายในใส่ตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่และมีกระดาษกรองเพื่อช่วยให้เกิดสภาวะสมดุลของไอของตัวทำละลาย เมื่อเฟสเคลื่อนที่เคลื่อนที่ไป

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บนแผ่น TLC ตามระยะที่ต้องการแล้วจึงนำมาทำการตรวจหาสาร โดยอาจส่องแผ่น TLC กับแสง UV หรือพ่นกรดซัลฟิวริกในแอลกอฮอล์แล้วให้ความร้อน หรือใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดสี เช่น ไอโอดีน และทำการตรวจสอบสารสำคัญได้โดยเปรียบเทียบจากค่า R_f

2.2.1.3 Liquid-Liquid (Partition) Chromatography

หลักการของการแยกสารด้วยวิธีนี้ คือ การที่โมเลกุลของสารประกอบจะกระจายตัวระหว่างเฟสสองเฟสที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เฟสทั้งสองจะต้องเลือกจากของเหลวที่มีสภาพขั้ว (polarity) ต่างกันมากๆ ถ้าเฟสคงที่มีขั้ว (polar) จะต้องเลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ไม่มีขั้ว (non-polar) สารประกอบที่มีขั้วจะถูกยึด (retain) อยู่กับเฟสคงที่อย่างหนาแน่น

2.2.1.4 Size exclusion Chromatography

กลไกของการแยกด้วยเทคนิคนี้เกี่ยวข้องกับการที่สารจะถูกเลือกให้แพร่ผ่านรูพรุนของเฟสคงที่ที่มีลักษณะเป็น network 3 มิติ โดยอาจเป็นสารกลุ่มเจล หรือของแข็งที่มีรูพรุนซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ และควรมีความเฉื่อยทางเคมี การที่สารจะถูกยึดเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์เป็นเวลานานหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล เมื่อเทียบกับขนาดของรูของอนุภาคที่ถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์ โมเลกุลเล็กสามารถที่จะแพร่ผ่านเข้าไปในรูที่มีขนาดเล็ก โมเลกุลที่มีขนาดไม่ใหญ่มากนักจะสามารถแพร่ผ่านได้เฉพาะบางส่วนของรูที่อยู่ในอนุภาคเท่านั้น และจะถูกกีดกันจากรูที่มีขนาดเล็กมากๆ สำหรับโมเลกุลขนาดใหญ่มากจะถูกกีดกันและไม่สามารถแพร่ผ่านเข้าไปในรูของอนุภาคได้ ดังนั้นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่ในคอลัมน์อย่างรวดเร็ว และจะออกมาจากคอลัมน์เป็นกลุ่มแรก การแยกสารด้วยวิธีการนี้จึงเหมาะสำหรับการแยกสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง[14]

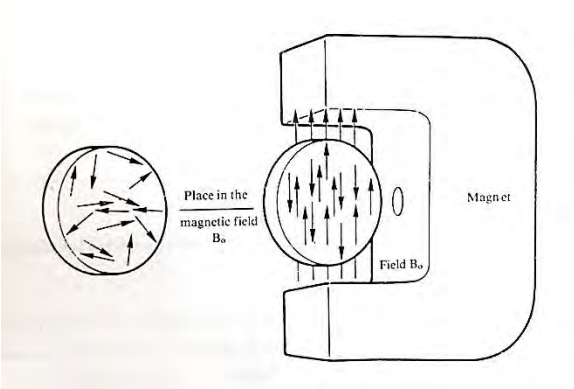
2.3 วิธีการที่ใช้ในการพิสูจน์โครงสร้างสารบริสุทธิ์

2.3.1 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

NMR spectroscopy เป็นการตรวจวัดการดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุ (radio frequency, RF) หรือ ความถี่ช่วง 4 ถึง 900 MHz ที่ถูกดูดกลืนโดยนิวเคลียส และเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงาน (energy state) ซึ่งแตกต่างจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV และ IR spectroscopy ที่เป็นการวัดการดูดกลืนโดยอิเล็กตรอน

นิวเคลียสทุกตัวมีประจุ และนิวเคลียสของอะตอมบางธาตุจะมีการหมุนรอบแกนที่ผ่านศูนย์กลางจากสมบัติดังกล่าวส่งผลให้เกิดแมกเนติกไดโพลซึ่งเปรียบเสมือนแม่เหล็ก ทำให้สามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแม่เหล็กของนิวเคลียสเหล่านี้เมื่อนำนิวเคลียสไปวางในสนามแม่เหล็ก (B_0) โดยเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็ก นิวเคลียสจะมีการจัดเรียงตัวได้ 2 รูปแบบ คือ จัดเรียงตัวทิศทางเดียวกับสนามแม่เหล็ก (พลังงานต่ำ, α) และจัดเรียงตัวทิศทางตรงกันข้ามกับสนามแม่เหล็ก (พลังงานสูง, β) โดยนิยมศึกษาในนิวเคลียสของ ^{1}H และ ^{13}C

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 3 การจัดเรียงตัวของนิวเคลียส เมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็ก (B_0)[14]

เมื่อนำตัวอย่างที่มี ^1H ไปวางในสนามแม่เหล็ก แล้วให้พลังงานในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุที่เหมาะสม จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียส โดยนิวเคลียสที่อยู่ในระดับพลังงานต่ำ (α) จะเกิดการดูดกลืนพลังงานแล้วขึ้นไปอยู่ในระดับพลังงานสูง (β) หลังจากนั้นนิวเคลียสที่อยู่ในระดับพลังงานสูง (β) บางตัวจะถูกกระตุ้นให้คายพลังงานออกมาแล้วกลับไปอยู่ในระดับพลังงานต่ำ (α) เรียกความถี่ของคลื่นวิทยุที่เหมาะสมว่า ความถี่ลามอร์

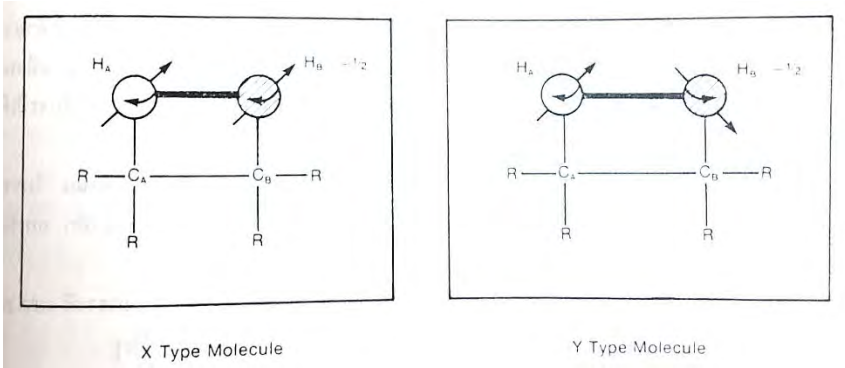
เนื่องจากนิวเคลียสของ ^1H แต่ละตำแหน่งในโครงสร้างมีสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ ^1H แต่ละตัวมีความถี่ลามอร์ที่แตกต่างกัน โดยนิยมรายงานค่าความถี่เป็น Chemical shift (δ) คือ ตำแหน่งที่เกิดสัญญาณเรโซแนนซ์ที่ต่างไปจากสัญญาณของ Tetramethrysilane (TMS) หรือสารมาตรฐาน โดยปัจจัยที่มีผลต่อค่า chemical shift ได้แก่

- อะตอมที่สามารถดึงอิเล็กตรอนที่อยู่ใกล้เคียงกับนิวเคลียส
- แมกเนติกแอนไอโซโทรปี
- ไฮบริไดเซชันของคาร์บอนอะตอม
- การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน

โดยทั่วไปสเปกตรัมของสารต่าง ๆ มักไม่เป็นเส้นเดี่ยว สเปกตรัมมักเกิดการแยก (splitting) ซึ่งเกิดจากการหมุนของนิวเคลียสข้างเคียงที่มีอยู่ทั้งในระดับพลังงานสูง (β) และระดับพลังงานต่ำ (α) สเปกตรัมจึงเกิดการแยกออกเป็น 2 ตำแหน่ง โดยจำนวนการแยกของพีก (multiplicity) จะขึ้นอยู่กับจำนวนนิวเคลียสข้างเคียง ซึ่งสามารถวัดได้โดยเครื่องมือที่มีความละเอียดสูง โดยระยะห่างระหว่างสเปกตรัม จะเป็นค่าคงที่ เรียกว่า ค่าคงที่การคู่ควบ (coupling constant, J) [14-16]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 4 การเกิดสเปกตรัมที่มีการ split เนื่องจากผลของนิวเคลียสข้างเคียง[14]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 พืชสมุนไพร อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ

พืชสมุนไพร

ส่วนลำต้นเถาเอ็นอ่อนแห้ง (*Cryptolepis buchanani*) น้ำหนัก 3 กิโลกรัม

เครื่องมือ

- เครื่องกลั่น solvent
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- เครื่อง rotary evaporator
- เครื่องฉายแสง UV (254 nm และ 365 nm)
- NMR spectrometer (300 MHz)
- เครื่อง water bath
- Hot plate for TLC
- เครื่องบดสมุนไพร
- ตู้ดูดควัน (chemical hood)
- กล้องถ่ายรูป

อุปกรณ์

- บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 ml 100 ml 250 ml และ 500 ml
- Measuring cylinder ขนาด 10 ml 50 ml 100 ml และ 500 ml
- Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml 500 ml และ 1000 ml
- Round bottom flask ขนาด 500 ml
- Tank สำหรับแช่สกัด
- ผ้าขาวบาง
- Separatory funnel
- Glass column for chromatography
- TLC tank
- แผ่น Thin layer chromatography (TLC)
- ขวดรับ fraction
- Capillary tube

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- Dropper
- Stirring rod
- กรวยแก้ว
- จุกยาง
- Forcep
- Aluminum foil
- สำลี

สารเคมี

- Hexane
- Dichloromethane
- Acetone
- Ethyl acetate
- Methanol
- Silica gel
- 10% Sulfuric acid in ethanol

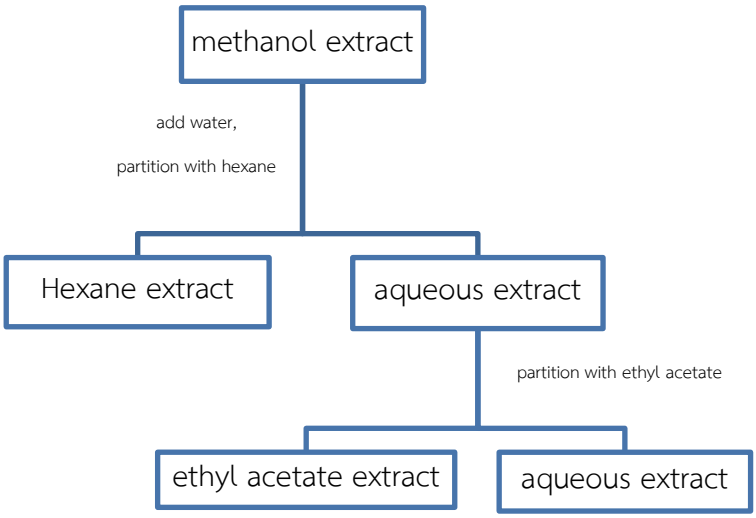
3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบของส่วนลำต้นเถาเอ็นอ่อนแห้ง

นำส่วนลำต้นเถาเอ็นอ่อนแห้งที่บดลดขนาดแล้วจำนวน 3 kg มาแช่สกัดด้วย methanol 5 L เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง (ปริมาตรทั้งหมด 15 L) จากนั้นทำให้แห้งด้วย rotary evaporator ได้สารสกัดหยาบน้ำหนัก 125.32 g

3.3 การสกัดแยกสารสกัดหยาบเบื้องต้น ด้วยวิธี liquid-liquid extraction

นำสารสกัดหยาบที่ได้ มาทำการสกัดแยกเบื้องต้น ดังแผนภาพที่ 1 ได้สารสกัด 3 ส่วน คือ สารสกัด n-hexane หนัก 31.59 g สารสกัด Ethyl acetate หนัก 28.22 g และสารสกัด aqueous หนัก 58.42 g จากนั้นตรวจสอบองค์ประกอบเบื้องต้นด้วย Thin-Layer Chromatography ซึ่งดูผ่านแสง UV ที่ 234 nm และ 365 nm และใช้กรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 10% ในเอทานอลพ่น และให้ความร้อน

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



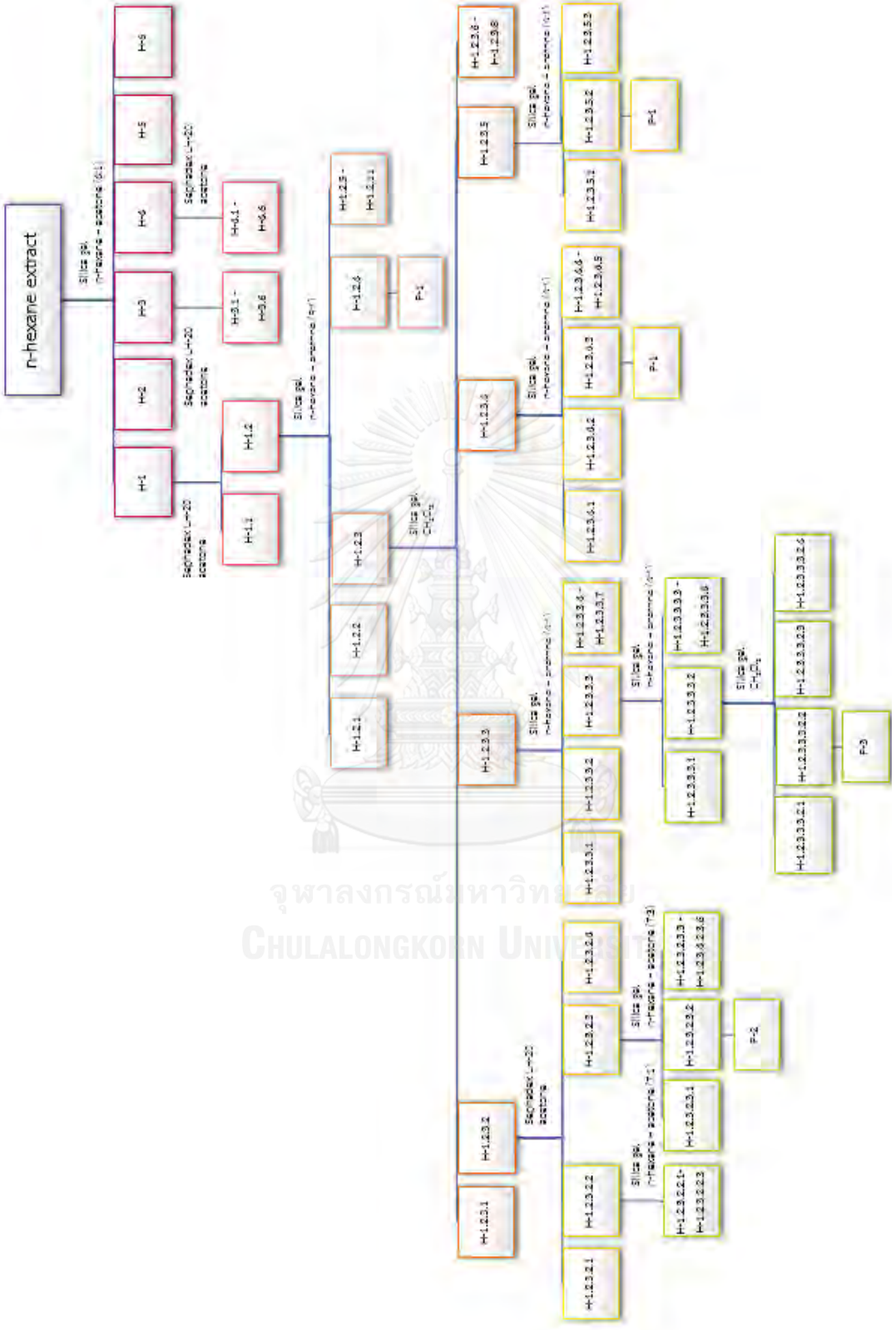
แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดแยกสารสกัดหยาบเบื้องต้นด้วยวิธี liquid-liquid extraction

3.4 การสกัดแยกสารบริสุทธิ์

การสกัดแยกสารบริสุทธิ์ ทำด้วยวิธีการคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography) โดยอาจเลือกชนิด Size exclusion Chromatography หรือชนิด Adsorption Chromatography ตามความเหมาะสม ในส่วนของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวทำละลายที่ใช้ในแต่ละคอลัมน์ จะถูกเลือกจากผลการทดลองแยกองค์ประกอบของสารด้วยการทำ TLC (Thin-Layer Chromatography) ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ แล้วดูว่าตัวทำละลายใดหรือสัดส่วนของตัวทำลายแบบใด ที่สามารถทำให้องค์ประกอบในสารสกัดแยกออกจากกันได้ดี โดยที่จุดของสารที่สนใจ มีค่า R_f ประมาณ 0.2-0.3 หลังจากที่ทำการแยกสารสกัดและเก็บ fractions แล้ว จะทำการตรวจสอบองค์ประกอบเบื้องต้นของแต่ละ fractionด้วย Thin-Layer Chromatography ซึ่งดูผ่านแสง UV ที่ 234 nm และ 365 nm และใช้กรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 10% ในเอทานอลพ่น และให้ความร้อน จากนั้นทำการรวม fraction ที่มีองค์ประกอบเหมือนกันเข้าด้วยกัน และทำการสกัดแยก fraction ที่มีสารที่น่าสนใจต่อไป

การสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากลำต้นของเถาเอ็นอ่อน สามารถสรุปเป็นแผนภาพได้ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 การสกัดแยกสารสกัด Hexane (แผนภาพที่ 2) และส่วนที่ 2 การสกัดแยกสารสกัด Ethyl acetate (แผนภาพที่ 3)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



แผนภาพที่ 2 ขั้นตอนการสกัดแยกสารสกัด Hexane

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ส่วนที่ 1 การสกัดแยกสารสกัด Hexane

3.4.1 สารสกัด Hexane

นำสารสกัด Hexane หนัก 31.6 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 cm ความสูง 16.5 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 600 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 41 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 6 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1 ถึง H-6 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแยกสารสกัด Hexane และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1	1 – 13	18.5
H-2	14 – 21	3.1
H-3	22 – 26	0.8
H-4	27 – 32	0.7
H-5	33 – 41	1.0
H-6	ล้างด้วย Methanol	2.6

3.4.2 สารสกัด H-1

นำสารสกัด H-1 หนัก 18.47 g มาสกัดแยกด้วย Sephadex-LH 20 column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 92 cm) mobile phase คือ acetone แบ่งสาร สกัดลงคอลัมน์ 3 ครั้ง ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml รวมได้ 2 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.1 ถึง H-1.2 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การแยก H-1 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.1	1 – 4	2.0
H-1.2	5 – 11	16.9

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.4.3 สารสกัด H-1.2

นำสารสกัด H-1.2 หนัก 16.9 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 cm ความสูง 14 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 510 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (5:1) ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 161 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 10 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.1 ถึง H-1.2.10 ดังแสดงในตารางที่ 3

หลังการรวม fraction พบว่า H-1.2.4 มีผลึกเกิดขึ้น แต่ปนเปื้อนอยู่กับสารอื่น จึงทำการล้างผลึกด้วย methanol ทำให้ได้ผลึกสารบริสุทธิ์ P-1 น้ำหนัก 0.2 g

ตารางที่ 3 การแยก H-1.2 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.1	1 – 18	1.5
H-1.2.2	19 – 40	2.0
H-1.2.3	41 – 78	6.2
H-1.2.4	79 – 120	0.2
H-1.2.5	121 – 134	0.8
H-1.2.6	135 – 149	1.1
H-1.2.7	150 – 160	1.3
H-1.2.8	161	0.1
H-1.2.9	ล้างด้วย acetone	1.9
H-1.2.10	ล้างด้วย methanol	3.01

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.4.4 สารสกัด H-1.2.3

นำสารสกัด H-1.2.3 หนัก 6.2 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 cm ความสูง 25 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 180 g และ mobile phase คือ dichloromethane ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 139 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 8 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.1 ถึง H-1.2.3.8 ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การแยก H-1.2.3 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.1	1 – 36	0.3
H-1.2.3.2	37 – 53	3.0
H-1.2.3.3	54 – 81	1.2
H-1.2.3.4	82 – 93	0.2
H-1.2.3.5	94 – 116	0.4
H-1.2.3.6	117 – 126	0.1
H-1.2.3.7	127 – 139	0.2
H-1.2.3.8	ล้างด้วย Methanol	0.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4.5 สารสกัด H-1.2.3.2

นำสารสกัด H-1.2.3.2 หนัก 3.0 g มาสกัดแยกด้วย Sephadex-LH 20 column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 96.5 cm) mobile phase คือ acetone แบ่งสารสกัดลงคอลัมน์ 2 ครั้ง ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml รวมได้ 4 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.2.1 ถึง H-1.2.3.2.4 ดังแสดงในตารางที่ 5

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 5 การแยก H-1.2.3.2 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.2.1	1 – 13	0.2
H-1.2.3.2.2	14 – 26	2.3
H-1.2.3.2.3	27 - 32	0.3
H-1.2.3.2.4	33 - 38	0.1

3.4.6 สารสกัด H-1.2.3.2.2

นำสารสกัด H-1.2**.3.2.2** หนัก 2.3 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 20 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 70 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (7:1) ทำการเก็บ fraction ละ 15 ml ได้ 30 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 3 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.2.2.1 ถึง H-1.2.3.2.2.3 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การแยก H-1.2.3.2.2 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.2.2.1	1 – 19	0.1
H-1.2.3.2.2.2	20 – 30	2.1
H-1.2.3.2.2.3	Methanol	0.1

3.4.7 สารสกัด H-1.2.3.2.3

นำสารสกัด H-1.2.3.2**.3** หนัก 0.3 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm ความสูง 25 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 11 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (7:3) ทำการเก็บ fraction ละ 15 ml ได้ 11 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 6 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.2.3.1 ถึง H-1.2.3.2.3.6 ดังแสดงในตารางที่ 7

หลังการรวม fraction พบว่า H-1.2.3.2.3.2 เป็นสารบริสุทธิ์ หนัก 0.1 g โดยให้รหัสเป็น P-2

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 7 การแยก H-1.2.3.2.3 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.2.3.1	1 – 4	0.0
H-1.2.3.2.3.2	5	0.1
H-1.2.3.2.3.3	6 – 7	0.1
H-1.2.3.2.3.4	8 – 10	0.1
H-1.2.3.2.3.5	11	0.0
H-1.2.3.2.3.6	MeOH	0.1

3.4.8 สารสกัด H-1.2.3.3

นำสารสกัด H-1.2.3.3 หนัก 1.2 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 18 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 65 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 15 ml ได้ 48 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 7 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.3.1 ถึง H-1.2.3.3.7 ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การแยก H-1.2.3.3 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.3.1	1 – 6	0.1
H-1.2.3.3.2	7 – 10	0.1
H-1.2.3.3.3	11 – 30	0.5
H-1.2.3.3.4	31 – 35	0.1
H-1.2.3.3.5	36 – 41	0.1
H-1.2.3.3.6	42 – 48	0.1
H-1.2.3.3.7	Methanol	0.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.4.9 สารสกัด H-1.2.3.3.3

นำสารสกัด H-1.2.3.3.3 หนัก 0.5 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 cm ความสูง 20 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 25 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 10 ml ได้ 48 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 4 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.3.3.1 ถึง H-1.2.3.3.3.5 ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การแยก H-1.2.3.3.3 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนักสาร (g)
H-1.2.3.3.3.1	1 – 14	0.1
H-1.2.3.3.3.2	15 – 35	0.5
H-1.2.3.3.3.3	36 – 48	0.1
H-1.2.3.3.3.4	Methanol	0.1

3.4.10 สารสกัด H-1.2.3.3.3.2

นำสารสกัด H-1.2.3.3**.3.2** หนัก 0.5 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm ความสูง 15 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 6 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 10 ml ได้ 16 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 4 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.3.3.2.1 ถึง H-1.2.3.3.3.2.4 ดังแสดงในตารางที่ 10

หลังการรวม fraction พบว่า H-1.2.3.3.3.2.2 เป็นสารบริสุทธิ์ หนัก 0.1 g โดยให้รหัสเป็น P-3

ตารางที่ 10 การแยก H-1.2.3.3.3.2 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.3.3.2.1	1 – 3	0.1
H-1.2.3.3.3.2.2	4 – 9	0.1
H-1.2.3.3.3.2.3	10 -15	0.1
H-1.2.3.3.3.2.4	Methanol	0.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

3.4.11 สารสกัด H-1.2.3.4

นำสารสกัด H-1.2.3.4 หนัก 0.2 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm ความสูง 15 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 6 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 10 ml ได้ 23 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 5 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.4.1 ถึง H-1.2.3.4.5 ดัง แสดงในตารางที่ 11

หลังการรวม fraction พบว่า H-1.2.3.4.3 มีผลึกเกิดขึ้น แต่ ปนเปื้อนอยู่กับสารอื่น จึงทำการล้างผลึกด้วย Methanol ทำให้ได้ผลึกสารบริสุทธิ์ P-1 น้ำหนัก 0.1 g

ตารางที่ 11 การแยก H-1.2.3.4 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-1.2.3.4.1	1 - 2	0.0
H-1.2.3.4.2	3 – 8	0.1
H-1.2.3.4.3	9 – 13	0.1
H-1.2.3.4.4	14 - 23	0.1
H-1.2.3.4.5	Methanol	0.1

3.4.12 สารสกัด H-1.2.3.5

นำสารสกัด H-1.2.3.5 หนัก 0.4 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 cm ความสูง 17.5 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 20 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 10 ml ได้ 16 fractions และชะคอลัมน์ ด้วย methanol รวมได้ 3 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-1.2.3.5.1 ถึง H-1.2.3.5.3 ดังแสดงในตารางที่ 12

หลังการรวม fraction พบว่า H-1.2.3.5.2 มีผลึกเกิดขึ้น แต่ปนเปื้อนอยู่กับสารอื่น จึงทำการล้างผลึกด้วย Methanol ทำให้ได้ผลึกสารบริสุทธิ์ P-1 น้ำหนัก 0.1 g

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 12 การแยก H-1.2.3.5 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนักสาร (g)
H-1.2.3.5.1	1 - 3	0.0
H-1.2.3.5.2	4 – 16	0.1
H-1.2.3.5.3	methanol	0.1

3.4.13 สารสกัด H-3

นำสารสกัด H-3 หนัก 0.8 g มาสกัดแยกด้วย Sephadex-LH 20 column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 89 cm) mobile phase คือ acetone ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 36 fractions รวมได้ 4 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-3.1 ถึง H-3.6 ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การแยก H-3 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-3.1	1 - 8	0.2
H-3.2	9 – 10	0.1
H-3.3	11	0.1
H-3.4	12 – 13	0.1
H-3.5	14 - 21	0.2
H-3.6	22 - 36	0.1

3.4.14 สารสกัด H-4

นำสารสกัด H-4 หนัก 0.7 g มาสกัดแยกด้วย Sephadex-LH 20 column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 87 cm) mobile phase คือ acetone ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 44 fractions รวมได้ 6 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส H-4.1 ถึง H-4.6 ดังแสดงในตารางที่ 14

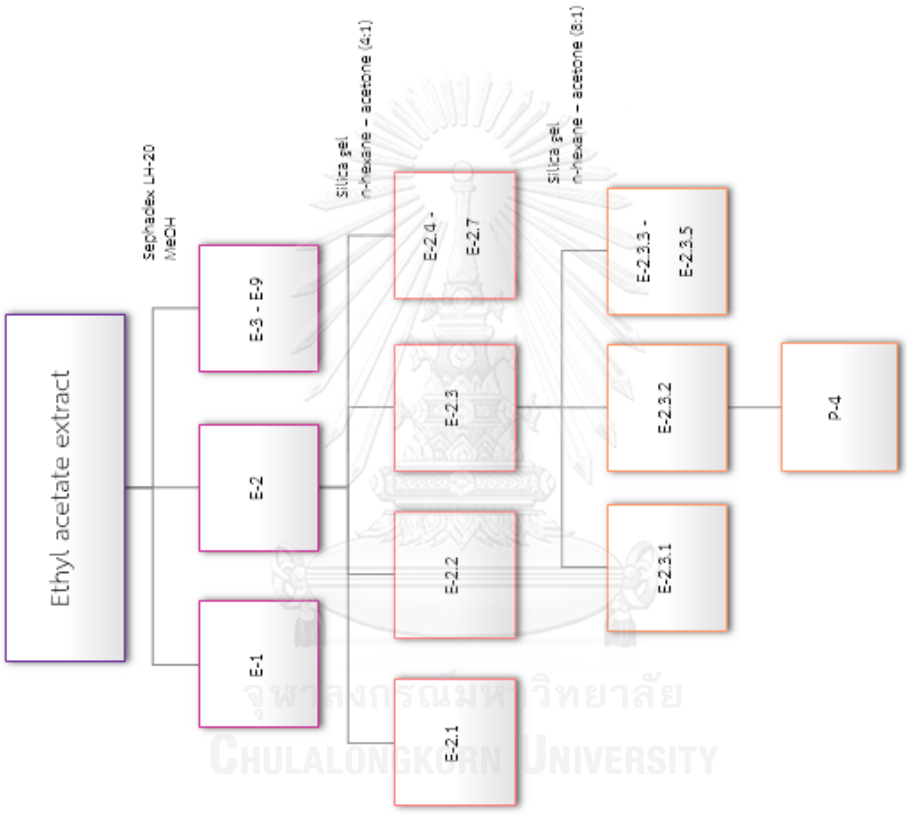
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 14 การแยก H-4 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
H-4.1	1 - 4	0.0
H-4.2	5 – 17	0.2
H-4.3	18 – 22	0.2
H-4.4	23 – 29	0.2
H-4.5	30 - 35	0.1
H-4.6	36 - 44	0.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



แผนภาพที่ 3 ขั้นตอนการสกัดแยกสารสกัด Ethyl acetate

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ส่วนที่ 2 การสกัดแยกสารสกัด Ethyl acetate

3.4.15 สารสกัด Ethyl acetate

นำสารสกัด ethyl acetate หนัก 28.2 g มาสกัดแยกด้วย Sephadex-LH 20 column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ความสูง 87 cm) mobile phase คือ acetone แบ่งสารสกัดลงคอลัมน์ 3 ครั้ง ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml รวมได้ 9 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส E-1 ถึง E-9 ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 การแยกสารสกัด Ethyl acetate และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
E-1	1 - 8	1.2
E-2	9 – 12	9.2
E-3	13	0.3
E-4	14 – 19	1.6
E-5	20 - 25	8.8
E-6	26	0.2
E-7	27	0.1
E-8	28	0.1
E-9	29 - 35	4.7

3.4.16 สารสกัด E-2

นำสารสกัด E-2 หนัก 9.2 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 cm ความสูง 35 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 250 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (4:1) ทำการเก็บ fraction ละ 30 ml ได้ 41 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 8 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส E-2.1 ถึง E-2.8 ดังแสดงในตารางที่ 16

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 16 การแยก E-2 และการรวม fractions ย่อย

รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนัก (g)
E-2.1	1 - 4	0.1
E-2.2	5 – 11	0.4
E-2.3	12 – 30	0.7
E-2.4	31 - 34	0.4
E-2.5	35 - 38	3.8
E-2.6	39 - 41	2.6
E-2.7	methanol	1.4

3.4.17 สารสกัด E-2.3

นำสารสกัด E-2.3 หนัก 0.7 g มาสกัดแยกด้วย silica gel column (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm ความสูง 31 cm) โดยใช้ silica gel หนัก 12.5 g และ mobile phase คือ hexane-acetone (8:1) ทำการเก็บ fraction ละ 5 ml ได้ 26 fractions และชะคอลัมน์ด้วย methanol รวมได้ 5 fractions หลัก ซึ่งให้รหัส E-2.3.1 ถึง E-2.3.5 ดังแสดงในตารางที่ 17

หลังการรวม fraction พบว่า E-2.3.2 เป็นสารบริสุทธิ์ หนัก 0.1 g โดยให้รหัสเป็น P-4

ตารางที่ 17 การแยก E-2.3 และการรวม fractions ย่อย

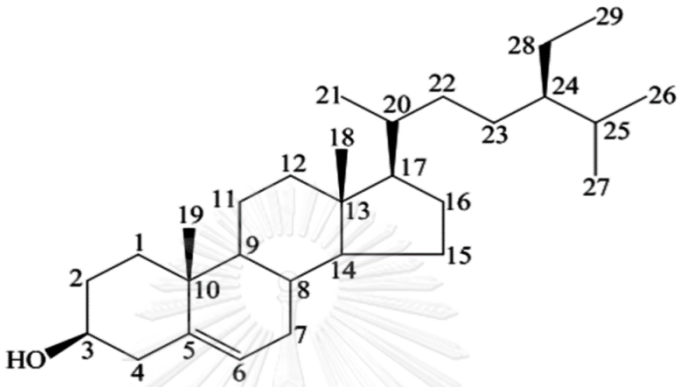
รหัสสาร	Fraction ย่อยที่นำมารวม	น้ำหนักสาร (g)
E-2.3.1	1 – 5	0.1
E-2.3.2	6 - 8	0.1
E-2.3.3	9 - 16	0.3
E-2.3.4	17 – 26	0.1
E-2.3.5	methanol	0.1

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 4
ผลการดำเนินการวิจัย

4.1 โครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดแยกได้จากลำต้นของเถาเอ็นอ่อน

4.1.1 สาร β-sitosterol (P-1)



รูปที่ 5 โครงสร้างของสาร β-sitosterol

สาร P-1 ถูกสกัดแยกได้โดยมีลักษณะเป็นผลึก รูปเข็มสีขาว ปริมาณทั้งหมดที่สกัดแยกได้ คือ 290 mg (คิดเป็น yield = 0.01% ของน้ำหนักพืชแห้ง) เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการเปรียบเทียบข้อมูล ^{13}C-NMR (ตารางที่ 20) กับสารที่เคยมีการรายงานมาก่อน พบว่าสารดังกล่าวจัดเป็นสารในกลุ่ม phytosterols ชื่อ β-sitosterol ซึ่งเป็น plant sterol ที่พบได้ทั่วไปในพืช โดยจาก ^{13}C-NMR spectrum พบว่าสารดังกล่าวมีจำนวน 29 คาร์บอนอะตอม และพบ peak ที่ δ_C 140.76 และ 121.70 ppm ซึ่งเกิดจาก double bond ที่ตำแหน่ง 5 และ 6 ตามลำดับ และจาก ^{1}H-NMR spectrum พบ peak ที่ δ_H 3.493 ppm ซึ่งเกิดจากหมู่ hydroxyl ที่แทนที่ในตำแหน่ง 3 นอกจากนี้ ข้อมูล ^{13}C-NMR และ ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$, δ) ได้แสดงว่าพบ peak ที่มีค่า δ_H สอดคล้องกับข้อมูล NMR spectrum (400 MHz, $CDCl_3$, δ) ของ β-sitosterol ที่ศึกษาโดย Kim D-H และคณะ[17]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบ ^{13}C-NMR data ของ P-1 กับ β-sitosterol

ตำแหน่ง	δ_C P-1* (ppm)	δ_C β-sitosterol** อ้างอิง (ppm)	ตำแหน่ง	δ_C P-1* (ppm)	δ_C β-sitosterol** อ้างอิง (ppm)
1	37.26	37.53	16	28.25	28.54
2	31.64	31.95	17	56.07	56.30
3	71.79	72.04	18	11.86	12.18
4	42.30	42.58	19	19.40	19.71
5	140.76	140.88	20	36.15	36.43
6	121.70	121.88	21	18.79	19.09
7	31.91	32.19	22	33.96	34.22
8	31.91	32.19	23	26.10	26.35
9	50.15	50.38	24	42.85	46.10
10	36.51	36.79	25	29.17	29.43
11	21.09	21.38	26	19.82	20.13
12	39.79	40.05	27	19.05	19.34
13	42.30	42.58	28	23.08	23.36
14	56.77	57.02	29	11.99	12.30
15	24.31	24.60			

* ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$)

** ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$)

4.1.2 สารบริสุทธิ์ที่ยังไม่ทราบโครงสร้าง P-2, P-3 และP-4

สาร P-2, P-3 และP-4 เป็นสารบริสุทธิ์ที่ทำการสกัดแยกได้ แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นสารชนิดใด ซึ่งต้องทำการพิสูจน์เอกลักษณ์จากข้อมูล ^{13}C-NMR และ ^{1}H-NMR ต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

5.1 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเพื่อสกัดสารสำคัญจากส่วนลำต้นของเถาเอ็นอ่อน ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการบรรเทาอาการปวดเมื่อย โดยนอกจากจะเป็นพืชที่มีการใช้ตามพื้นบ้านอย่างแพร่หลายแล้ว เถาเอ็นอ่อนยังถูกนำมาใช้เป็นหนึ่งในส่วนผสมของยาผสมโคคลาน ซึ่งเป็นยารับประทานในกลุ่มยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณสำหรับรักษากลุ่มอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูก[2] และมีรายงานจากงานวิจัยที่ผ่านมาว่า สารสกัดเอทานอลของลำต้นเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการอักเสบผ่านการยับยั้งการทำงานของ thromboxane B2 (TXB_2) และ leukotriene B4 (LTB_4)[13] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดเมทานอลของเถาเอ็นอ่อนมีฤทธิ์ในการลดอาการบวมบริเวณหูและเท้าของหนูซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยสารเคมี รวมถึงสามารถลดการตอบสนองของหนูที่กระตุ้นให้เกิดอาการเจ็บปวดได้[9]

จากการดำเนินการวิจัย พบว่า สารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้จากลำต้นเถาเอ็นอ่อนแห้ง คือ β-sitosterol ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม phytosterol ที่พบได้มากในพืชหลายชนิด โดยเป็นสารที่มีโครงสร้างหลักเหมือนกับคอเลสเตอรอล จากงานวิจัยก่อนหน้าที่มีการศึกษาถึงฤทธิ์ของ β-sitosterol พบว่า β-sitosterol ที่สกัดแยกได้จากสารสกัดเอทานอลของใบสะระแหน่[18] (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mentha cordifolia* Opiz ในวงศ์ Labiatae) และ β-sitosterol ที่สกัดแยกได้จากสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของใบกรรณิการ์[19] (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nyctanthes arbortristis* ในวงศ์ Verbenaceae) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการระงับปวดและต้านการอักเสบ และต่อมา ได้มีรายงานว่า β-sitosterol ที่สกัดแยกได้จากสารสกัดไฮโดรแอลกอฮอล์ของพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ Rutaceae สามารถต้านการอักเสบได้ โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ[20]

นอกจากนี้ จากการศึกษางานวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับเถาเอ็นอ่อน มีรายงานว่าพบสารกลุ่ม alkaloid จากสารสกัดเอทานอลของส่วนลำต้น คือ buchananine หรือ 6-*O*-nicotinoyl-**α**-D-glucopyranose[6] และ 1,3,6-*O*-trinicotinoyl-**α**-D-glucopyranose[7] ซึ่งไม่พบสารเหล่านี้ดังกล่าวในการวิจัยครั้งนี้ ทางผู้จัดทำคาดว่าอาจมีสาเหตุมาจากแหล่งของพืชที่นำมาทำการวิจัยแตกต่างกันซึ่งสามารถส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของพืช รวมถึงกระบวนการในการดำเนินการวิจัยที่มีเทคนิคแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีหลักฐานเชิงประจักษ์ที่ยืนยันถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารดังกล่าว

การที่พบว่าเถาเอ็นอ่อนมี β-sitosterol เป็นองค์ประกอบทางเคมี มี %yield = 0.01% ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ที่พบมากที่สุดจากการวิจัยครั้งนี้ จึงอาจสรุปได้ว่า ฤทธิ์ในการบรรเทาอาการปวดเมื่อยของเถาเอ็นอ่อนส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากฤทธิ์ของ β-sitosterol

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

5.2 ข้อเสนอแนะ

แม้ว่าการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ จะสามารถสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากลำต้นของเถาเอ็นอ่อนได้ แต่ก็ยังไม่สามารถระบุถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในมนุษย์ของสารบริสุทธิ์ได้อย่างแน่ชัด จึงควรมีการศึกษาถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษของสารบริสุทธิ์ดังกล่าวเพิ่มเติม และยังมีสารบริสุทธิ์ที่สกัดแยกได้ ที่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสารชนิดใด ซึ่งต้องทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป นอกจากนี้อาจมีสารบริสุทธิ์ชนิดอื่นที่ยังไม่สามารถสกัดแยกออกมาได้สำเร็จ จึงอาจต้องมีการศึกษาและดำเนินการวิจัยเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รายการอ้างอิง

1. พรทิพย์ เติมวิเศษ, บุษราภรณ์ ธนสีสังกูร, ธนาธิป ฉิมแพ, ขวัญเรือน จันที, บรรณาธิการ. ประมวลสรรพคุณสมุนไพร. กรุงเทพ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์ องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2555.
2. กระทรวงสาธารณสุข. บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2560 [อินเทอร์เน็ต]. 2560 [สืบค้นเมื่อวันที่ 14 พ.ค. 2560] จาก: www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF
3. Shah B, Khare M. *Cryptolepis buchanani* Roem and Schult., a new source of sarmentogenin. Journal of Nepal Chemical Society. 1981;1:103-7.
4. Venkateswara R, Sankara Rao K, Vaidyanathan CS. Cryptosin - a new cardenolide in tissue culture and intact plants of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. Plant cell reports. 1987;6(4):291-3.
5. Purushothaman KK, Vasanth S, Connolly JD, Rycroft DS. New sarverogenin and isosarverogenin glycosides from *Cryptolepis buchanani* (Asclepiadaceae). Revista Latinoamericana de Quimica. 1988;19(1):28-31.
6. Dutta SK, Sharma BN, Sharma PV. Buchananine, a novel pyridine alkaloid from *Cryptolepis buchanani*. Phytochemistry. 1978;17(11):2047-8.
7. Sunil K, Batuk D, Sharma N, Sharria PV. A new nicotinoyl glucoside from *Cryptolepis buchanani*. Phytochemistry. 1980;19(6):1278.
8. Pande M, Dubey VK, Yadav SC, Jagannadham MV. A novel serine protease cryptolepain from *Cryptolepis buchanani*: purification and biochemical characterization. Journal of agricultural and food chemistry. 2006;54(26):10141-50.
9. Hanprasertpong N, Teekachunhatean S, Chaiwongsa R, Ongchai S, Kunanusorn P, Sangdee C, et al. Analgesic, anti-inflammatory, and chondroprotective activities of *Cryptolepis buchanani* extract: *in vitro* and *in vivo* studies. BioMed research international. 2014;2014.
10. Sittiwet C, Puangpronpitag D. Anti-bacterial activity of *Cryptolepis buchanani* aqueous extract. International Journal of biological chemistry. 2009;3(2):90-4.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

รายการอ้างอิง (ต่อ)

11. Sk A, R K, Kv S, S J S, Kekuda Tr P, Ks V, et al. Insecticidal and in vitro antioxidant potency of extracts of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult2010. 418-25 p.
12. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี [อินเทอร์เน็ต]. [สืบค้นเมื่อวันที่ 7 มี.ค. 2561] จาก: http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_28_1.html
13. Laupattarakasem P, Wangsrimongkol T, Surarit R, Hahnvajanawong C. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*. Journal of ethnopharmacology. 2006;108(3):349-54.
14. พรรณเพ็ญ อัศวกุล, โอทอง สวัสดีมงคล, บรรณาธิการ. Liquid Chromatography ในงานวิเคราะห์. กรุงเทพ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
15. แม้น อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพ: ชวนพิมพ์; 2539.
16. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Principles of instrumental analysis. Philadelphia: Saunders College Pub; 2006.
17. Kim D-H, Bang M-H, Song M-C, Kim S-U, Chang Y-J, Baek N-I. Isolation of β-sitosterol, Phytol and Zingerone 4-O-β-D-glucopyranoside from *Chrysanthemum Boreale* Makino. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 2005;13(5):284-7.
18. Villaseñor IM, Angelada J, Canlas AP, Echegoyen D. Bioactivity studies on β-sitosterol and its glucoside. Phytotherapy Research. 2002;16(5):417-21.
19. Nirmal SA, Pal SC, Mandal SC, Patil AN. Analgesic and anti-inflammatory activity of β-sitosterol isolated from *Nyctanthes arbortristis* leaves. Inflammopharmacology. 2012;20(4):219-24.
20. Liz R, Zanatta L, dos Reis GO, Horst H, Pizzolatti MG, Silva FR, et al. Acute effect of beta-sitosterol on calcium uptake mediates anti-inflammatory effect in murine activated neutrophils. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2013;65(1):115-22.

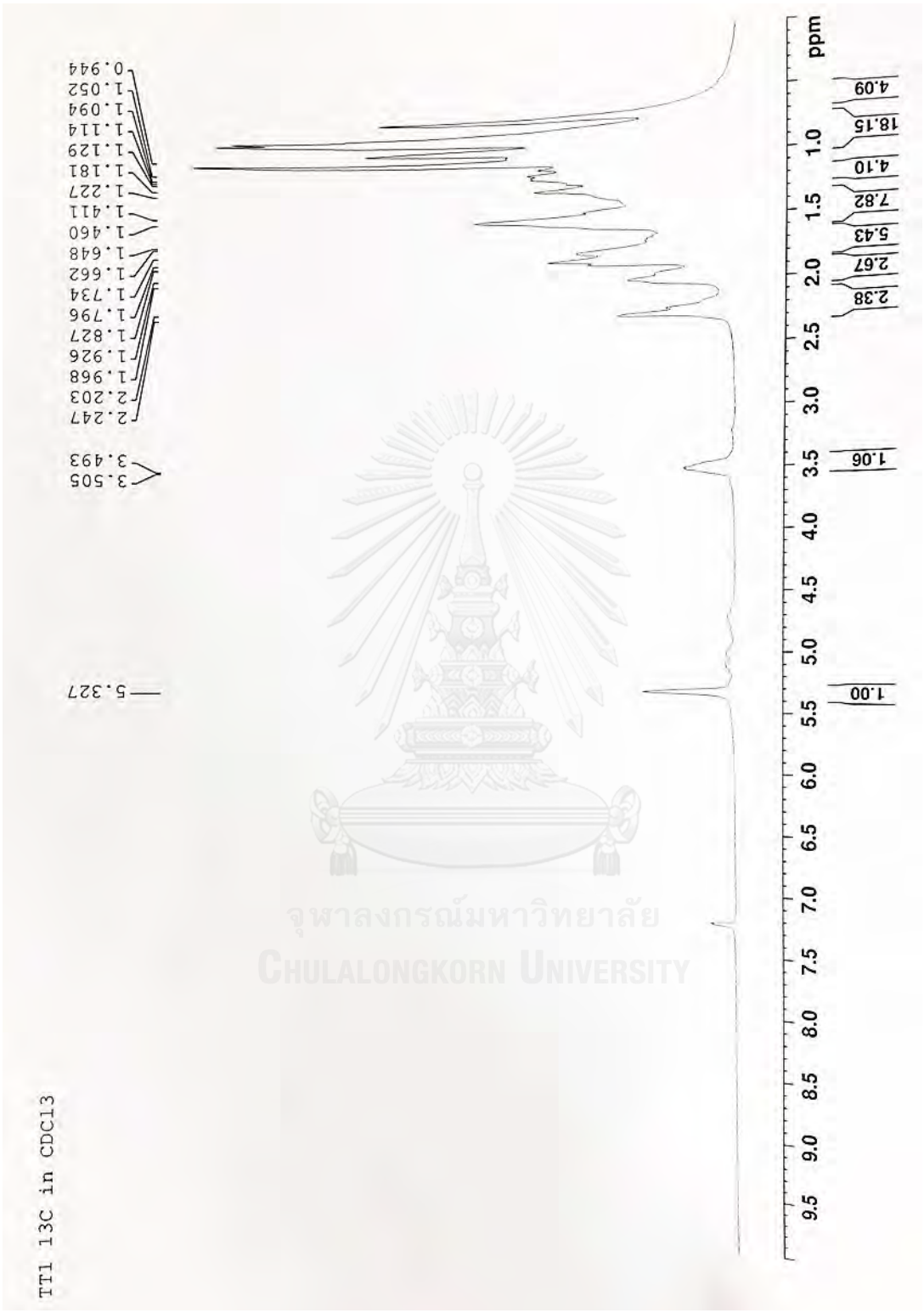
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ภาคผนวก

NMR spectrum

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

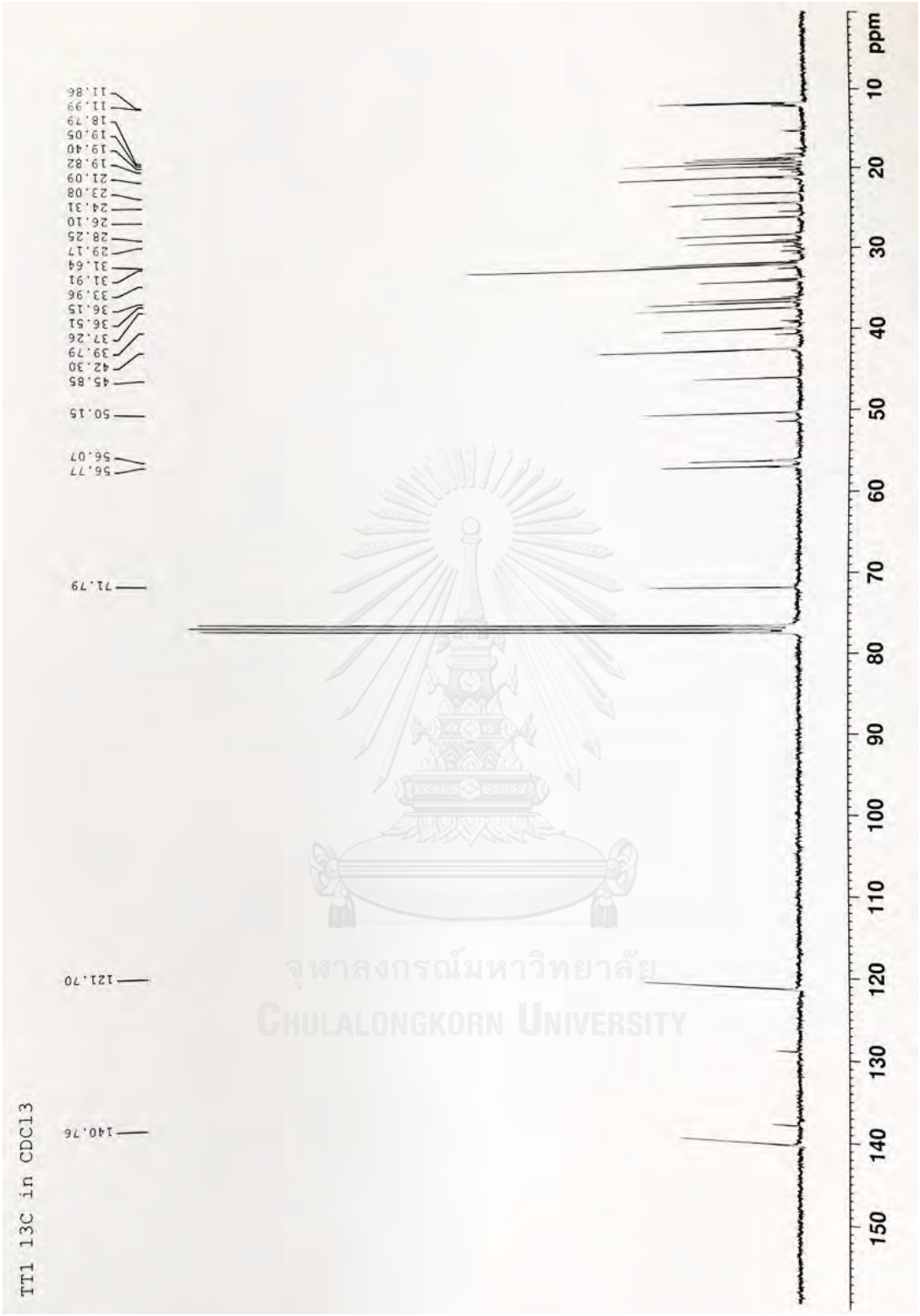
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 6 ^{1}H-NMR spectrum ของสาร P-1 (300 MHz, $CDCl_3$, δ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 7 ^{13}C-NMR spectrum ของสาร P-1 (75 MHz, $CDCl_3$, δ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานปริญญานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.