

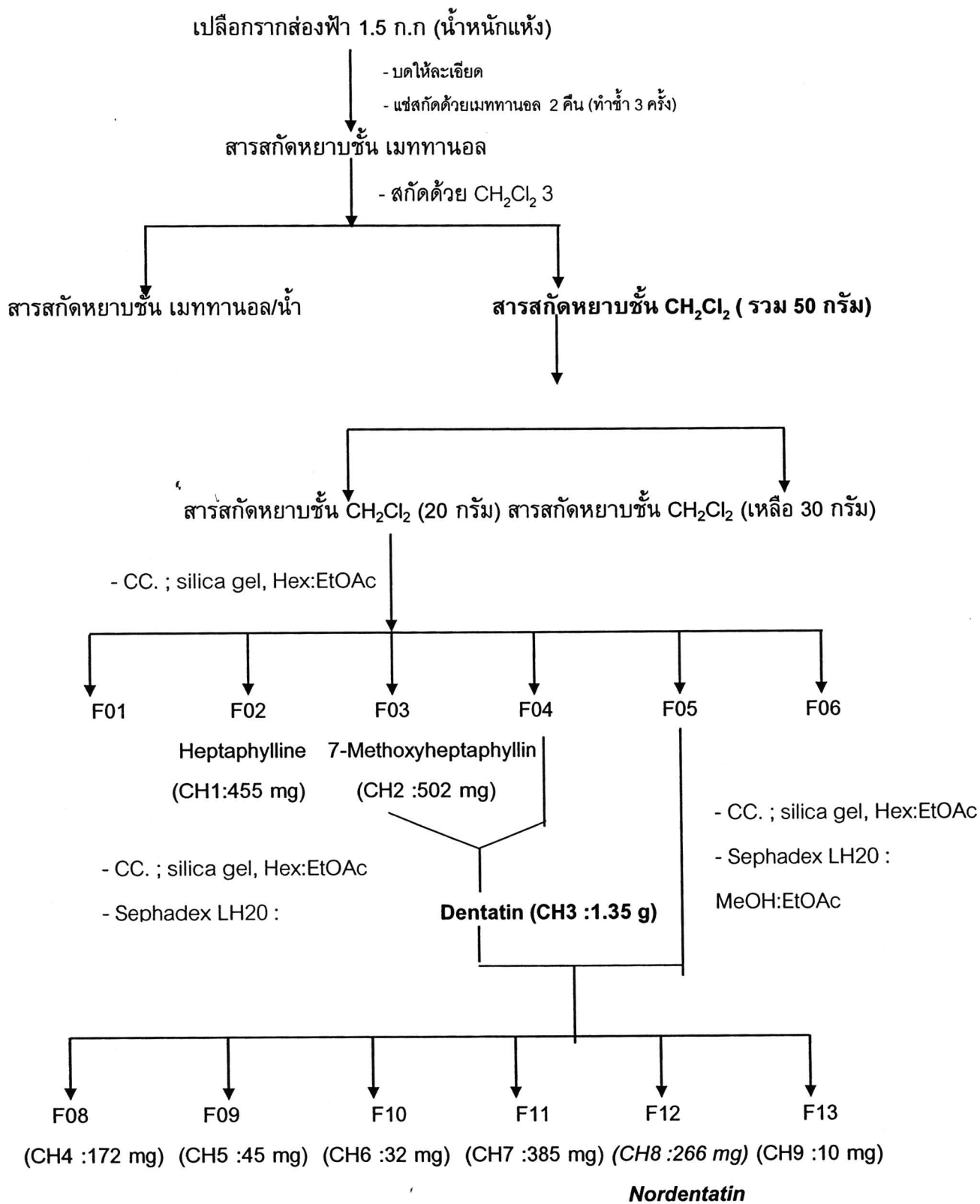
บทที่ 4 ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างต้นสอ่งฟ้าที่พบกระจายทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างต้นสอ่งฟ้า จากจังหวัดกาฬสินธุ์ โดยนำตัวอย่างต้นสอ่งฟ้าแบ่งย่อยออกเป็น 3 ส่วนได้แก่ ส่วนใบ ลำต้น และเปลือกราก จากนั้นนำมาทำการต้มสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ hexane dichloromethane และ methanol แต่ละตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมงตามลำดับ สุดท้ายจะได้สารสกัดหยาบทั้งสิ้น 9 ส่วนด้วยกัน จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้ง 9 ส่วนมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH โดยดูถึงความสามารถในการจับกับ DPPH radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร โดยสารดังกล่าวมีสีม่วง ในการทดลองหากสารสังเคราะห์สามารถจับกับ DPPH radical ได้สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองของ DPPH ซึ่งจะสามารถวัดค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 490 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ได้ผลการทดลองดังแสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดลองฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากต้นสอ่งฟ้าด้วยวิธี DPPH assay

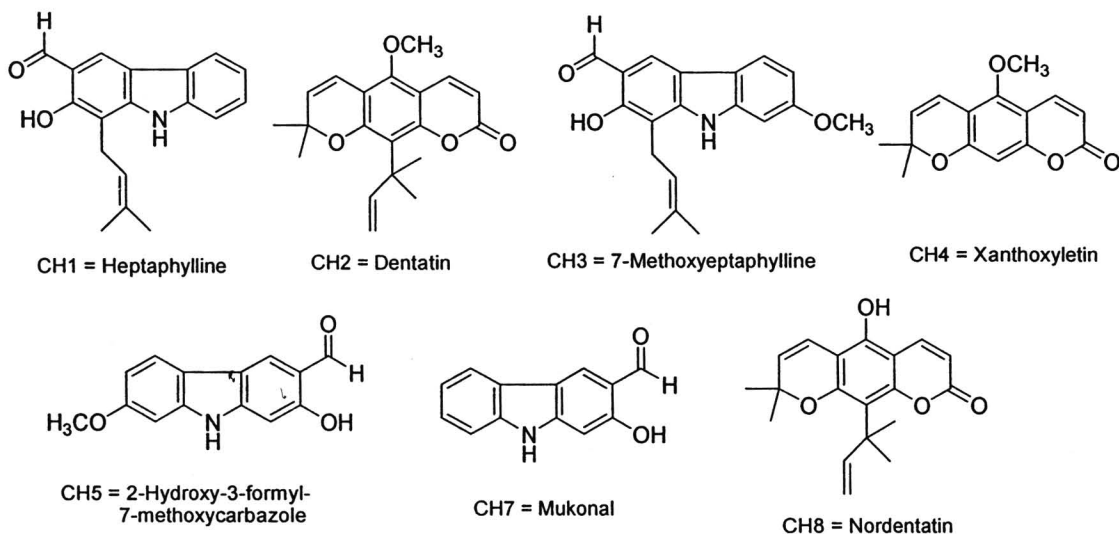
สารสกัด หยาบ	ใบ			ลำต้น			เปลือกราก		
	Hexane	CH ₂ Cl ₂	Methanol	Hexane	CH ₂ Cl ₂	Methanol	Hexane	CH ₂ Cl ₂	Methanol
IC ₅₀ (µg/mL)	852.8	352.5	53.8	872.3	527.5	300.0	88.3	178.9	511.4

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าส่วนของเปลือกราก และ ใบแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด แต่ในส่วนของใบพบว่าชั้น methanol ซึ่งเป็นชั้นสารที่มีขี้วมากเป็นส่วนที่แสดงฤทธิ์ดี ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งสนใจในส่วนของสารสกัดจากส่วนของ เปลือกรากต้นสอ่งฟ้า จากการทดลองข้างต้นได้ทำการต้มสกัด พบว่าส่วนที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือส่วนของชั้น hexane แต่ในการทดลองต่อมาต้องทำการสกัดสารเป็นจำนวนมากจึงทำแค่การแช่สกัด ดังนั้นจึงได้ใช้ Dichloromethane เป็นตัวแช่สกัดแทน ขั้นตอนต่อไปจึงได้ทำการเก็บตัวอย่างต้นสอ่งฟ้า โดยสามารถเก็บเปลือกรากต้นสอ่งฟ้ารวมน้ำหนักแห้งทั้งสิ้น 1.5 กิโลกรัม จากนั้นทำการแช่สกัดด้วย ตัวทำละลาย Dichloromethane เป็นเวลา 3 คืน รวมทั้งสิ้น 3 ครั้ง จากนั้นทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกสุดท้ายได้สารสกัดหยาบ 50 กรัม ขณะนี้กำลังดำเนินการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ ด้วยวิธี Chromatography โดยใช้สารผสมระหว่าง hexane และ ethyl acetate เป็นตัวชะ ดังแสดงตามแผนภาพที่ 1



แผนภาพที่ 1. แสดงขั้นตอนการแช่สกัด และการแยกสกัดสารบริสุทธิ์ จากเปลือกกรากต้นส่องฟ้า

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีสเปกโตรสโคปีและเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยมีการ
รายงานแล้ว พบว่าสารที่แยกได้ในครั้งนี้ประกอบด้วย Dentatin, Nordentatin, Xanthoxyletin,
Heptaphylline, 7-methoxyheptaphylline, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole และ
Mukonal ดังแสดงตามรูปที่ 2



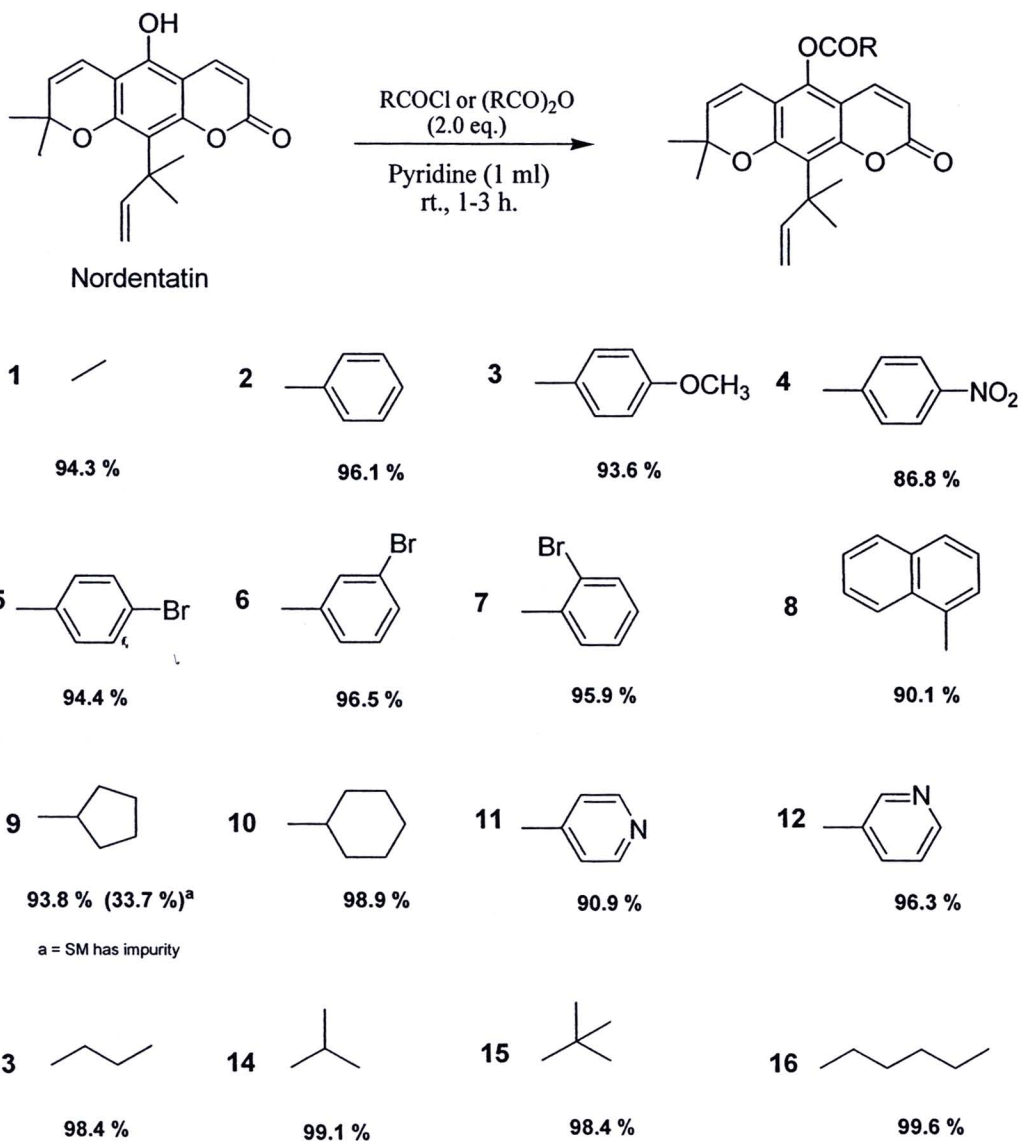
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเปลือกรากต้นสอ้งฟ้าจากงานวิจัยครั้งนี้

การดัดแปลงโครงสร้างทางเคมี :

เบื้องต้นได้นำสาร nordentatin มาดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีโดยการทำให้อยู่ในรูปอนุพันธ์
ของ ester ต่างๆ โดยสารทั้งหมดที่เตรียมได้สามารถปรับให้ใช้สภาวะเดียวกันคือการนำสาร
nordenatin มาทำปฏิกิริยากับ acid chloride ต่างๆ โดยมี pyridine เป็นตัวทำละลายและเร่ง
ปฏิกิริยาในเวลาเดียวกันด้วย จากนั้นสารละลายที่ได้จะนำมาสกัดด้วย 1N HCl, 5 % NaHCO₃ และ
Brine ตามลำดับ จากนั้นจะทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ ด้วย column chromatography จะได้สาร
อนุพันธ์และปริมาณแต่ละตัว ตั้งแต่ 90-100 % ดังแสดงในรูปที่ 3 และอนุพันธ์ของสาร Nordentatin
ทั้งหมดที่เตรียมได้ได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี ด้วย NMR-spectroscopy ดังข้อมูลแสดงใน
ภาคผนวก

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ :

จากนั้นจึงได้ทำการศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นด้วยวิธี
DPPH และ TBAR ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารอนุพันธ์ Nordentatin ที่เตรียมได้ทั้งหมด



ตารางที่ 2 แสดงค่า IC₅₀ ของสารที่แยกได้จากต้นสอ่งฟ้าและอนุพันธ์

compounds	DPPH assay IC₅₀ (μM)	TBAR assay (% inhibition at 500 μM)	TBAR assay IC₅₀ (μM)
Heptaphylline	>1000	92.42	5.62
7-mehtoxy heptaphylline	810.74	76.58	1.98
Acetate Heptaphylline	264.86	93.20	4.55
Acetate 7-mehtoxy heptaphylline	915.00	84.05	4.22
Mukonal	>1000	ND	ND
2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole	>1000	ND	ND
Xanthoxyletin	ND	71.36	166.01
Dentatin	>1000	37 % (1000 μM)	ND
Nordentatin	84.32	95.83	1.69
1	ND	88.40	2.86
2	ND	28.00	>150
3	ND	48.48	ND
4	ND	95.98	4.30
5	ND	34.02	ND
6	ND	19.29	ND
7	ND	20.69	ND
8	ND	76.50	36.23
9	ND	87.90	10.61
10	ND	15.74	ND
11	ND	98.26	4.38
12	ND	97.60	3.81
13	ND	55.63	22.50
14	ND	57.49	9.50
15	ND	ND	ND
16	ND	57.11	7.83
Vit E	17.90	97.73	75.94