ผลและอภิปรายผลการวิจัย

สารเมแทบอไลท์ของ *Emericella variecolor* ที่เพาะเลี้ยงในในอาหารเหลว Malt Czapek-Dox (MCzB)

การแยกสารสกัดหยาบ เอธิล แอซิเทต ของเส้นใยราที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน MCzB ด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ 312 ลำดับส่วนแยก ทำการแยกของแข็งจากส่วนแยก 23-44 ซึ่งได้จากการชะด้วย 15-20% เอธิล แอซิเทต (EtOAc) ในเฮกเซน โดยการล้างด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้สารประกอบ 1 เป็นของแข็งสีขาว:

m.p. 228-230 ^{o}C;

$[\alpha]_D^{25}$ +8 ($CHCl_3$, c 0.3);

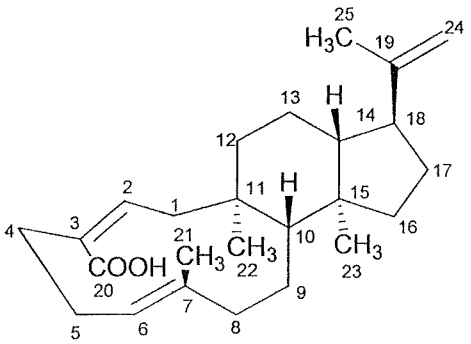
EIMS (EI 70 eV) *m/z* 370 [M^+, 53 %], 355 (23), 327 (32), 257 (12), 246 (15), 203 (29), 189 (100), 175 (24), 161 (40), 147 (52), 135 (40), 121 (45), 107 (60), 95 (50), 93 (48), 81 (42), 67 (28) and 55 (24);

λ_{max} ($CHCl_3$) (ε) 245 (5617) nm;

ν_{max} (KBr) 3435 (br.s), 2945 (w), 2855 (w), 1745 (m), 1649 (m), 1563 (m), 1411 (m), 1264 (w) and 1022 (w) cm^{-1};

δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz) 5.94 (1H, d, 4.4 Hz, 2-H), 4.97 (1H, dd, 4.8 and 4.8 Hz, 6-H), 4.75 (s, 1H, H-24), 4.73 (1H, s, 24-H), 2.89 (1H, d, 12.0 Hz, 4-H), 2.71 (1H, dd, 6.8 and 7.6 Hz, 1-H), 2.31 (1H, m, 5-H), 2.26 (1H, m, 18-H), 2.11 (1H, m, 5-H), 2.09 (1H, m, 1-H), 2.06 (1H, m, 8-H), 1.97 (1H, m, 8-H), 1.90 (1H, m, 16-H), 1.87 (1H, m, 4-H), 1.75 (3H, s, 25-H), 1.57 (1H, m, 13-H), 1.54 (1H, m, 16-H), 1.50 (1H, m, 9-H), 1.48 (1H, m, 17- H), 1.46 (1H, m, 12-H), 1.32 (3H, s, 21-H), 1.31 (1H, m, 13-H), 1.30 (1H, m, 17-H), 1.28 (1H, m, 12-H), 1.26 (1H, m, 10-H), 1.20 (1H, m, 12-H), 1.17 (1H, m, 14-H), 0.90 (s, 3H, 22-H) and 0.84 (3H, s, 23-H) ppm;

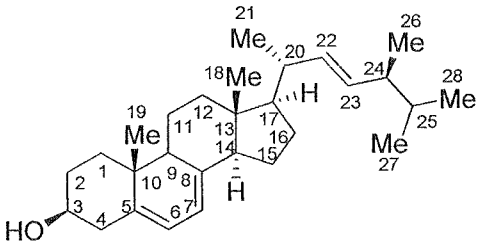
δ_C ($CDCl_3$, 100 MHz) 173.19 (20-CO), 150.16 (2-CH), 148.12 (19-C), 138.74 (7C), 125.28 (3-C), 123.68 (6-CH), 109.61 (24-CH_2), 54.43 (14-CH), 49.63 (10-CH), 47.59 (18-CH), 45.85 (15-C), 42.64 (1-CH_2), 41.15 (13-CH_2), 40.37 (8-CH_2), 39.17 (12-CH_2), 37.92 (11-C), 34.85 (4-CH_2), 27.69 (16-CH_2), 27.35 (5-CH_2), 24.13 (22-CH_3), 22.27 (9-CH_2), 21.03 (17-CH_2), 19.98 (25-CH_3), 15.98 (21-CH_3) and 15.57 (23-CH_3) ppm.



1

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 1 คือ stellatic acid ข้อมูลการหมุนระนาบแสงจำเพาะของ stellatic acid ที่แยกได้ $[\alpha]_D^{25}$ +10 (c 0.3, $CHCl_3$) ที่สอดคล้องกับรายงานไว้ก่อนหน้า [Quereshi et. al., 1980 $[\alpha]_D^{25}$ +13.5 ($CHCl_3$, c 0.3)] ทำให้ยืนยันได้ว่าสาร 1 คือ stellatic acid

การล้างของแข็งจากส่วนแยก 45-52 ซึ่งได้จากการชะด้วย 20-25% EtOAc ในเฮกเซน ด้วย 15-20% เอธิล แอซิเทต (EtOAc) ในเฮกเซน ด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้สารประกอบ 2 (15 mg) เป็นผลึกสีขาว:



2

m.p. 167-168 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -84($CHCl_3$, c 0.1);

ESIMS: $[M+H]^+$ 397.3421;

λ_{max} 325(967), 345 (864) nm;

ν_{max} (KBr) 3427 (br, s), 2956 (s), 2871 (s), 1654 (w), 1553 (w), 1459 (m), 1382 (m), 1370 (m), 1241 (w), 1158 (w), 1127 (w), 1111 (w), 1058 (m), 1039 (m), 983 (m), 969 (m), 834 (w), 802 (w) cm^{-1};

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 5.56 (1H, dd, *J* = 1, 5.2 Hz, H-6), 5.38 (1H,dd, *J* = 1, 5.2 Hz, H-7), 5.19 (1H, m, H-22), 5.18 (1H, m, H-23), 3.63 (1H, H-3), 2.47(1H, ddd, J = 2.8, 4.8,14.0 Hz, H-4), 2.27 (1H, dd, J =12.4, 13.6, m, H-4), 2.07(1H, m, H-12), 2.04 (1H, m, H-20), 1.98 (1H, m, H-9),1.92 (1H, m, H-2), 1.91 (1H, m, H-1), 1.90 (1H, m, H-14), 1.72 (1H, m, H-16), 1.64 (1H, m, H-11), 1.64 (1H, m, 15), 1.58 (1H, m, H-11), 1.50 (1H, m, H-2), 1.47(1H, m, H-25),1.35 (1H, m, H-15), 1.32 (1H, m, H-1), 1.28 (1H, m, H-16), 1.25 (1H, m, H-17), 1.24 (1H, m, H-12), 1.03 (3H, d, *J* = 6.4 HzH-27), 0.93(3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.82 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-26), 0.82 (3H, *J* = 6 Hz, H-21), 0.62 (3H, s, H-18) ppm;

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): 141.37 (s, C-8), 139.77 (s, C-5), 135.56 (d, C-23), 131.94 (d, C-22), 119.57 (d, C-6), 116.26 (d, C-7), 70.44 (d, C-3), 55.68 (d, C-17), 54.54 (d, C-14), 46.21 (d, C-9), 42.80(d, C-24), 42.80 (s, C-13), 40.73 (t, C-4), 40.45 (d, C-20), 39.05 (t, C-12), 38.35 (t, C-1), 37.00 (s, C-10), 33.07 (d, C-25), 31.93 (t, C-2), 28.30 (t, C-16), 22.99 (t, C-15), 21.09 (q, C-27), 21.09 (t, C-11), 19.96 (q, C-26), 19.65 (q, C-21), 17.61 (q, C-28), 16.27 (q, C-19), 12.04 (q, C-18) ppm.

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 2 คือ ergosterol จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^{13}C NMR กับที่รายงานไว้โดย Abraham และ Monasterios, 1974 และ $[\alpha]_D^{21}$ -130.7° ซึ่งรายงานไว้โดย Pruess, Peterson, และ Fred, 1932 ทำให้ยืนยันได้ว่าสารประกอบ 2 คือ ergosterol

ในระหว่างการระเหยส่วนแยก 53-63 ซึ่งได้จากการชะด้วย 25 % EtOAc ในเฮกเซน สารประกอบ 3 ตะกอนออกมา หลังจากการกรอง ได้สารประกอบ 3 (15 mg) เป็นของแข็งสีเหลือง

m.p. 219-220°C;

$[\alpha]_D^{20}$ -38 (c 0.1, $CHCl_3$);

EIMS *m/z* 494 [M^+, 8%], 451 (6), 434 (16), 423 (16), 363(100), 347 (12), 333 (14), 307 (10), 293 (8);

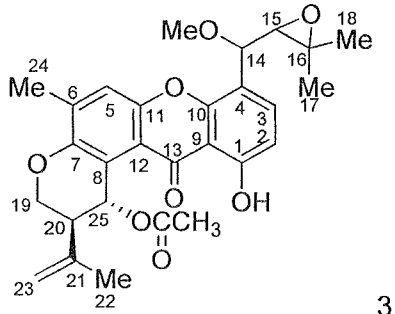
λ_{max} ($CHCl_3$): (ε) 385 (10167), 294 (12953), 270 (42563), 250 (36428) nm;

ν_{max} (KBr) cm^{-1}: 3447 (OH), 2921, 1746 (C=O), 1637, 1559, 1470, 1423, 1369, 1236, 1077, 1018, and 828 cm^{-1}:

^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz) δ_H (ppm): 1.23 (3H, s, CH_3 -17), 1.31 (3H, s, CH_3-18), 1.89 (3H, s, CH_3 -23), 2.08 (3H, s, OAc-25), 2.35 (3H, s, CH_3-24), 2.72 (1H, s, H-20), 3.17 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-15), 4.31 (1H, dd, *J* = 3.2, 11.2 Hz, H-19b),4.55 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-19a), 4.63, (1H, d, *J* = 8.0 Hz,H-14b), 4.76 (1H, s, H-22b), 4.81 (1H, s, H-22a), 6.83(1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 6.90 (1H, s, H-25), 7.26 (1H, s,H-5), 7.66 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 13.14 (1H, s, 1-OH) ppm;

^{13}C-NMR (100 MHz, CDCl) δ_C (ppm):183.2 (C-13), 170.0(-O*C*CH$_3$), 162.2 (C-1), 152.5 (C-10), 151.6 (C-11), 150.3 (C-7), 141.4 (C-21), 138.0 (C-6), 135.1 (C-3), 120.3 (C-5), 116.2 (C-12), 115.5 (C-9), 114.9 (C-8), 112.8 (C-22), 110.8 (C-2), 109.1 (C-4), 76.1 (C-14), 66.7 (C-15), 65.5 (C-25), 63.8 (C-19), 57.8 (C-16), 42.4 (C-20), 24.8 (C-17), 22.4 (C-23), 21.3 (-OC*C*H$_3$), 19.8 (C-18), 17.4 (C-24) ppm.

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 3 คือ 14-methoxy tajixanthone 25-actate จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^{1}H และ ^{13}C NMR กับที่รายงานไว้โดยคณะผู้วิจัย (Pornpakakul, S และคณะ 2005) ทำให้ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ 3 ได้



3

ในระหว่างการระเหย ของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 71-75 ซึ่งได้จากการชะด้วย 25-30 % EtOAc ในเฮกเซน ล้างด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ทำให้ได้สารประกอบ 4 (10 mg) เป็นของแข็งสีส้ม

m.p. 207-208 °C;

ESIMS *m/z* 321.08 [M+Na]$^+$, 619.16 [2M+Na]$^+$, 917.25 [3M+Na]$^+$;

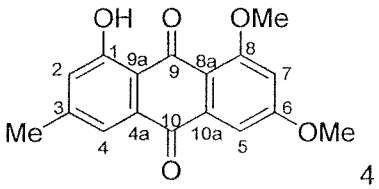
λ_{max} ($CHCl_3$): (ε) 270 (9611), 280 (9387), 303 (4865)420.07 (3859) nm;

ν_{max} (KBr) 3430 (br), 3087 (w), 2933(w), 2845(w), 1665 (w), 1625(s), 1598(s), 1558(m), 1493(m), 1456(m),1363(m), 1327(s), 1263(s), 1226(s), 1167(w), 1131(w), 1054(w), 1011(w), 941(w), 882(w), 842(w) cm^{-1};

^{1}H-NMR (400 MHz) 13.08 (1H, s, OH-1), 7.56 (1H, s, H-4), 7.45 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-7), 7.06 (1H, s, H-2), 6.78 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 4.02 (3H, s, OCH_3-6), 3.98 (3H, s, OCH_3-8), 2.42 (3H, s, CH_3-3)

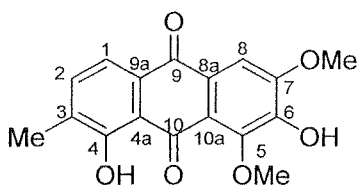
^{13}C-NMR (100 MHz) 187.48 (s, C-9), 182.98 (s, C-10), 165.25 (s, C-8), 162.94 (s, C-6), 162.61 (s, C-1), 146.93 (s, C-3), 137.67 (s, C-10a), 132.30 (s, C-4a), 124.80 (d, C-2), 120.00 (d, C-4), 115.20 (s, C-8a), 114.76 (s, C-9a), 104.71 (d, C-7), 103.93 (d, C-5), 56.61 (q, OCH_3-6), 56.05 (q, OCH_3-8), 21.97 (q, CH_3-3)

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 4 คือ 1-hydroxy-6,8-dimethoxy-3-methyl-9,10-anthraquinone ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีรายงานไว้ก่อนหน้าโดย Waser, และคณะ, 2005 และจากการเปรียบเทียบข้อมูล ^{1}H กับที่รายงานไว้พบว่าสอดคล้องกัน



4

ในระหว่างการระเหยส่วนแยก 101-125 ซึ่งได้จากการชะด้วย 30-35 % EtOAc ในเฮกเซน สารประกอบ 5 ตกตะกอนออกมา กรองตะกอนและล้างด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ทำให้ได้สารประกอบ 5 (38 mg) เป็นของแข็งสีส้ม



5

m.p. 224-225 °C;

HRESIMS *m/z* 315.0843 $[M+H]^+$, 651.1464 $[2M+Na]^+$ (calcd 315.0868 $[M+H]^+$, 651.1478 $[2M+Na]^+$);

λ_{max}($CHCl_3$): (ε) 282.96 (12984), 308 (3890), 408.97 (2685);

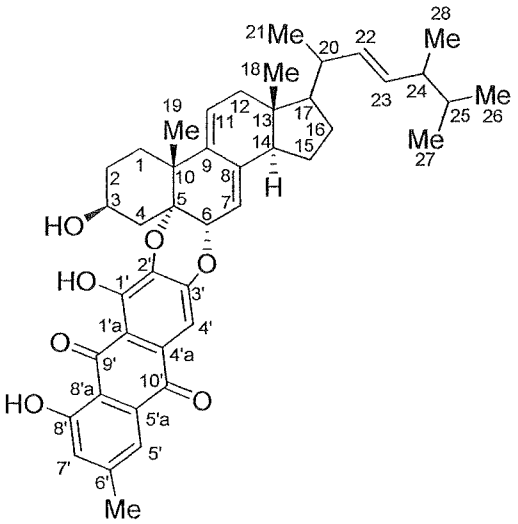
ν_{max} (KBr) 3432(brs), 3004 (w), 2921(w), 2851(w), 1732, 1632(s), 1592(m), 1552(m), 1486(w), 1420 (w), 1340(m), 1270(m), 1217(w), 1154(w),1117(s), 875(w), 795(w) nm;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) 12.88(1H, s, OH-4), 7.69 (1H, s, H-8), 7.58 (1H, s, H-1), 7.07 (1H, s, H-3), 4.09 (3H, OCH_3-7), 4.03 (3H, OCH_3-5), 2.44 (3H,s, CH_3-2) ppm;

^{13}C-NMR ($CDCl_3$) 187.56 (s, C-10), 182.03 (s, C-9), 162.60 (s, C-4), 151.90 (s, C7), 147.65 (s, C-2 and s, C-5), 144.94 (s, C-6), 132.47 (C-9a), 127.78 (s, C-8a), 124.32(d, C-3), 120.23 (d, C-1 and s, C-10a), 114.62 (s, C4a), 106.58 (d, C-8), 61.89 (q, OCH_3-5), 56.69 (q, OCH_3-7), 29.70 (q, CH_3-2) ppm.

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 5 คือ 4,6-dihydroxy-5,7-dimethoxy-2-methylanthraquinone สารนี้รายงานไว้โดย Barba et. al., 1994 ซึ่งแยกได้จากรากและเปลือก *Chamaecrista greggii*

ส่วนแยก 143-165 ซึ่งได้จากการชะด้วย 35-45 % EtOAc ในเฮกเซน ทำการแยกต่อให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วย reverse phase HPLC โดยใช้เมธานอลเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ทำให้ได้สารประกอบ **6** (12 mg) เป็นของแข็งอสัณฐานที่เวลาการกักเก็บ (retention time) 17 นาที



6

m.p. 229-230 °C;

$[\alpha]^{20}_{D}$ +171° (c 0.1, $CHCl_3$);

HREIMS *m/z* 679.3629 $[M+H]^+$ (calcd 679.3635 for $C_{43}H_{51}O_7$);

λ_{max} ($CHCl_3$) (ε) (287.98, 22971.4), (434.99, 8848.5) nm:

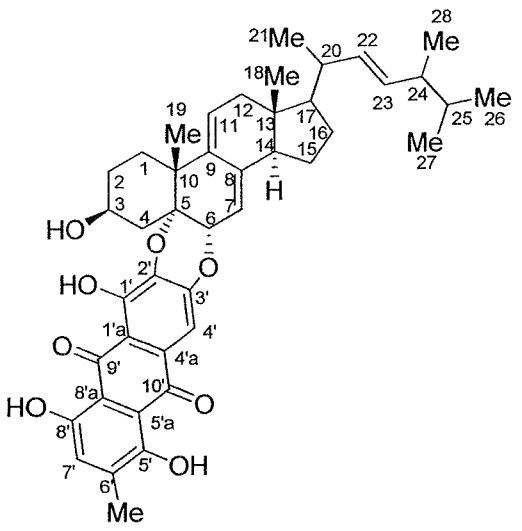
ν_{max} (KBr) 3549(br), 3473 (br, s), 3415(br), 3233(br), 2957(m), 2924(m), 2866(w), 1718(w), 1665(w), 1616(s), 1569(w), 1443(m), 1412(m), 1378(m), 1311(m), 1278(s), 1200(w), 1164(w), 1098 (w),1040(w) cm^{-1};

^{1}H-NMR ($CDCl_3$,400 MHz) δ_H: 12.32 (1H, s, 1'-OH), 12.01 (1H, s, 8'-OH), 7.57(1H, s, H-5'), 7.37(1H, s, H-4'), 7.03(1H, s, H-7'), 5.72(1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-11), 5.21(1H, dd, *J* = 7.2, 15.2 Hz, H-23), 5.12(1H, dd, *J* = 8.0, 15.2 Hz, H-22), 5.03(1H, s, H-7), 4.77(1H, s, H-6), 4.00(1H, m, H-3), 2.43(3H, s, 6'-CH_3) , 2.33(2H, m, H-12), 2.26(1H, m, H-1), 2.21(1H, d, *J* = 14.8, H-14), 2.21(1H, m, H-12), 2.17(1H, dd, *J* = 1.6, 11.6 Hz, H-4), 2.08(1H, m, H-2), 2.01(1H, m, H-20), 1.90(1H, brd, *J* = 13.6 Hz, H-1), 1.82(1H, dd, *J* = 6.8, 13.2 Hz, H-24), 1.71(1H, m, H-16), 1.68(1H, m, H-2), 1.66(1H, m, H-15), 1.63(1H, dd, *J* = 11.2, 14.0 HZ, H-4), 1.45(1H, dt, *J* = 7.2, 12.8 Hz, H-25), 1.33(2H, m, H-15), 1.31(1H, m, H-16), 1.23(3H, d, J = 9.2 Hz, H-19), 1.29(1H, m, H-17), 1.00(3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.89(3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-28), 0.81(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.79(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 0.55(3H, s, H-18) ppm.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C : 193.42(s, C-9'), 181.19(s, C-10'), 162.38(s, C-8'), 153.54(s, H-1'), 148.57(s, C-6'), 147.41(s, C-3'), 140.99(s, C-8), 139.32(s, C-9),135.94(s, C-2'), 135.24(d, C-22), 133.40(s, C-5a'), 132.24(d, C-23), 126.03(s, C-4a'), 124.20(d, C-11), 123.98(d, C-7'), 121.09(d, C-5'), 115.09(d, C-7), 113.77(s, C-8a'), 110.89(d, C-4'), 110.89(s, C-1a') 78.05(s, C-5), 73.62(d, C-6), 66.42(d, C-3), 55.87(d, C-17), 50.87(d, C-14), 42.78(d, C-24), 42.53(s, C-13), 42.00(t, C-12), 42.00(s, C-10), 40.30(d, C-20), 35.40(t, C-4), 33.04(d, C-25), 30.51(t, C-2), 29.45(t, C-1), 28.64(t, C-16), 24.20(q, C-19), 22.88(t, C-15), 22.19(q, CH_3-C6'), 20.68(q, C-21), 19.94(q, C-27), 19.60(q, C-26), 17.62(q, C-28), 11.62(q, C-18) ppm.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

และได้สารประกอบ 7 (8 mg) เป็นของแข็งสีที่เวลาการกักเก็บ 26 นาที



7

m.p. 242-243 °C;

m/z 695.3594 $[M+H]^+$ (calcd 695.3584 for $C_{43}H_{51}O_8$);

$[\alpha]_D^{20}$ +172° (c 0.1, $CHCl_3$);

λ_{max} ($CHCl_3$): (ε) (274.95, 15975), 292.06, 18424.5), 493.06, 9443), 515.04, 8094), 529, 6837) nm;

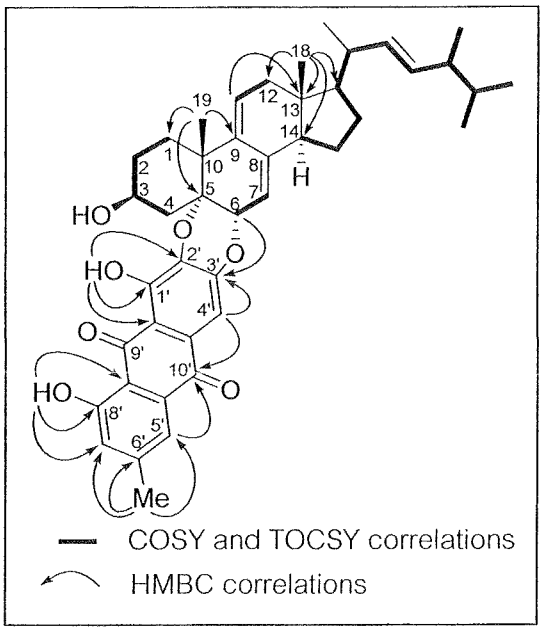
ν_{max} (KBr) 3546(br), 3476(br), 3412(br), 3236(br), 2951(s), 2924(s), 2863(m), 1723(w), 1595(s), 1415(s), 1336(s), 1308(s), 1263(s), 1194(m), 1161(m), 1122(m), 1092(m), 1034(m) cm^{-1};

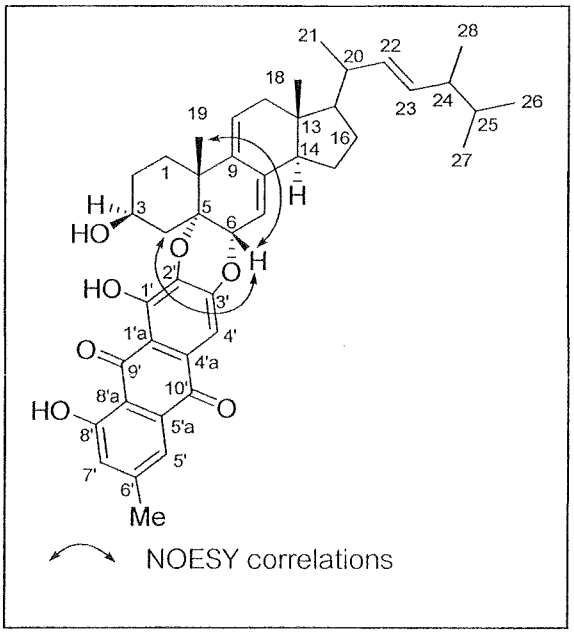
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 13.48(s, OH-5'), 12.48(1H, s, OH-1'), 12.25(1H, s, OH-8'), 7.43(1H, s, H-4'), 7.06(1H, s, H-7'), 5.72(1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-11), 5.17(1H, dd, *J* = 7.2, 15.2 Hz, H-23), 5.13 (1H, dd, *J* = 7.6, 15.2 Hz, H-22), 5.03 (1H, s, H-7) , 4.78(1H, s, H-6), 3.99(1H, ddd, H-3), 2.37 (3H, s, Me-6'), 2.25(1H, m H-12), 2.15 (1H, m, H-12), 2.15 (1H, m, H-14), 2.06(2H, m, H-4), 2.04(1H, m, H-2), 1.92(1H, m, H-20), 1.83 (1H, m, H-1), 1.75 (1H, m, H-24), 1.45 (1H, sept, J = 6.4 Hz, H-25), 1.36 (2H, m, H-16), 1.28 (2H, m, H-15), 1.25 (1H, m, H-1),1.24 (1H, m H-17), 1.23 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-21), 0.88 (, 0.81 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27) , 0.79 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-26), 0.55 (3H, s, H-18) ppm;

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C (ppm): 189.50 (s, C-9'), 185.85 (s, C-10'), 157.46 (s, C-5'), 157.11 (s, C-8'), 153.51 (s, C-1'), 147.28 (s, C-3'), 141.07 (s, C-8), 140.91 (s, C-6'), 139.29 (s, C-9), 136.17 (s, C-2'), 135.23 (d, C-22), 132.25 (d, C-23), 128.51 (d, C-7'), 125.76 (s, C-4a'), 124.26 (d, C-11), 115.03 (d, C-7), 111.72 (s, C-5a'), 111.32 (s, C-1a'), 110.80 (s, C-8a'), 110.24 (d, C-4'), 78.17 (s, C-5), 73.61 (d, C-6), 66.41 (d, C-3), 55.87 (d, C-17), 50.87 (d, C-14), 42.78 (d, C-24), 42.53 (s, C-13), 41.99 (t, C-12), 40.30 (s, C-10), 35.42 (t, C-4), 33.03 (d, C-25), 30.56 (t, C-2), 29.41 (t, C-1), 28.62 (t, C16), 24.20 (q, C-19), 22.87 (t, C-15), 20.67 (q, C-21), 19.92 (q, C-27), 19.59 (q, C-26), 17.61 (q, 28), 16.52 (q, Me-C-6'), 11.62 (q, C-18) ppm.

ข้อมูล ^{1}H, ^{13}C NMR ของสารประกอบ 6 บ่งชี้ว่าโครงสร้างของสารประกอบควรประกอบด้วยส่วนของโมเลกุลที่เป็นแอนธราควิโนน (anthraquinone) และที่เป็นสเตียรอยด์ ส่วนแอนธราควิโนนมีลักษณะคล้ายกับ 7-hydroxyemodin ข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY สามารถเชื่อมต่อโมเลกุลของสารประกอบได้ดังรูปข้างล่างนี้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 17 ส.ค. 2555
เลขทะเบียน 245216
เลขเรียกหนังสือ

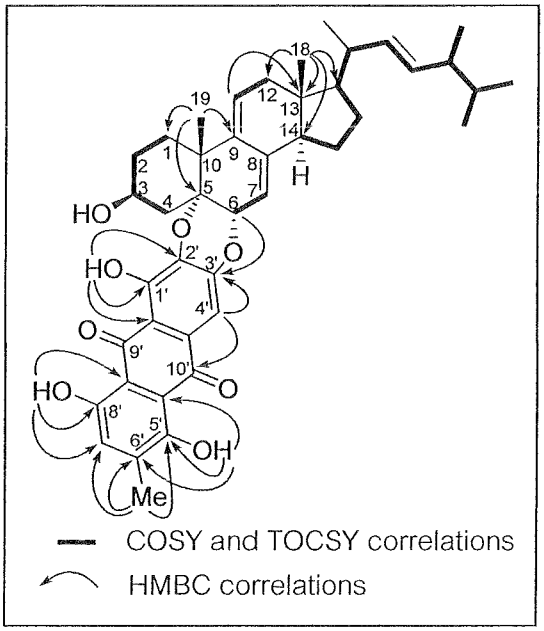


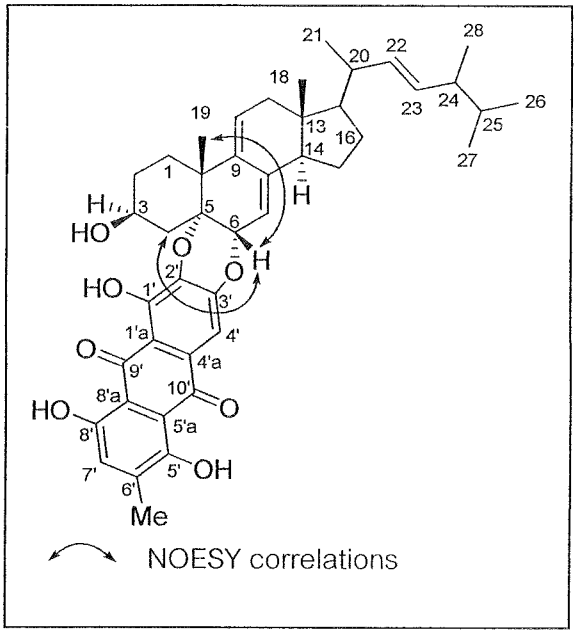


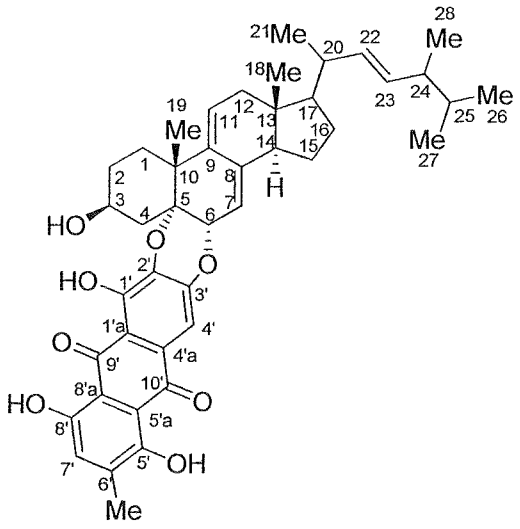
HRMS *m/z* 679.3629 $[M+H]^+$ ทำให้ทราบสูตรโมเลกุลของสารประกอบ 6 คือ $C_{43}H_{50}O_7$ ^{13}C NMR แสดงให้เห็นว่าสารประกอบ 6 มี 43 คาร์บอนประกอบด้วย 7 เมธิลคาร์บอน, 6 sp^3-เมธิลีนคาร์บอน, 7 sp^3-เมไธน์คาร์บอน, 3 sp^3-ควอเทอร์นารีคาร์บอน, 7 sp^2-เมไธน์คาร์บอน, 11 sp^2-ควอเทอร์นารีคาร์บอน, และ 2 คาร์บอนิลคาร์บอน (ที่ 193.42 and 181.19 ppm) การคำนวณจำนวนพันธะคู่จาก ^{13}C NMR ได้ 11 พันธะคู่ แต่สูตรโมเลกุลของสารประกอบ 6 บ่งชี้ว่ามี 19 จำนวนที่สมมูลพันธะคู่ ดังนั้นสรุปได้ว่าสารประกอบ 6 ประกอบด้วยวงทั้งหมด 8 วง ซึ่งประกอบด้วย 3 วงของแอนธราควิโนน, 4 วงของสเตียรอยด์ และอีกหนึ่งวงที่เกิดจากการเชื่อมกันระหว่างแอนธราควิโนนและสเตียรอยด์ ข้อมูล HMBC พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 ของส่วนสเตียรอยด์และ 3' ของส่วนแอนธราควิโนน ทำให้ทราบว่ากับ C-5 และ C-6 ของสเตียรอยด์เชื่อมต่อเข้ากับ C-2' และ C-3' ของแอนธราควิโนนเกิดเป็นวงโดยผ่านอะตอมออกซิเจน นอกจากนี้ ข้อมูล NOESY พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 และ 4-H_{ax} และ ระหว่าง H-6 และ Me บน C-10 ทำให้สามารถระบุสเตริโอเคมีของสารประกอบ 6 ได้ดังแสดงในรูปข้างบน จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี สามารถสรุปได้ว่าสารประกอบ 6 เป็นสารใหม่ โดยจะตั้งชื่อว่า evanthrasterol A การเชื่อมต่อกันของส่วนแอนธราควิโนนและส่วนสเตียรอยด์นี้มีลักษณะคล้ายคลึงกับ sirosterol ซึ่งแยกได้มาจากรา *Sirococcus* sp. (Ayer and Ma, 1992)

HRMS *m/z* 679.3629 $[M+H]^+$ ทำให้ทราบสูตรโมเลกุลของสารประกอบ 7 คือ $C_{43}H_{50}O_8$ ^{13}C NMR แสดงให้เห็นว่าสารประกอบ 7 มี 43 คาร์บอนประกอบด้วย 7 เมธิลคาร์บอน, 6 sp^3-เมธิลีนคาร์บอน, 7 sp^3-เมไธน์คาร์บอน, 3 sp^3-ควอเทอร์นารีคาร์บอน, 6 sp^2-เมไธน์คาร์บอน, 12 sp^2-ควอเทอร์นารีคาร์บอน, และ 2 คาร์บอนิลคาร์บอน (ที่ 193.42 and 181.19 ppm) การคำนวณจำนวนพันธะคู่จาก ^{13}C NMR ได้ 11 พันธะคู่ แต่สูตรโมเลกุลของสารประกอบ 7 บ่งชี้ว่ามี 19 จำนวนที่สมมูลพันธะคู่ ดังนั้นสรุปได้ว่าสารประกอบ 7 ประกอบด้วยวงทั้งหมด 8 วง ซึ่งประกอบด้วย 3 วงของแอนธราควิโนน, 4 วงของสเตียรอยด์ และอีกหนึ่งวงที่เกิดจากการเชื่อมกันระหว่างแอนธราควิโนนและสเตียรอยด์ ข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของสารประกอบ 7 มี

ลักษณะคล้ายกับสารประกอบ 6 ยกเว้นในส่วนของแอนธราควิโนนที่มีหมู่ไฮดรอกซิเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งหมู่ ข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY สามารถเชื่อมต่อโมเลกุลของสารประกอบได้ดังรูปข้างล่างนี้







7

ข้อมูล HMBC พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 ของส่วนสเตียรอยด์และ 3' ของส่วนแอนธราควิโนน ทำให้ทราบว่ากับ C-5 และ C-6 ของสเตียรอยด์เชื่อมต่อเข้ากับ C-2' และ C-3' ของแอนธราควิโนนเกิดเป็นวงโดยผ่านอะตอมออกซิเจน นอกจากนี้ ข้อมูล NOESY พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 และ 4-H_{ax} และ ระหว่าง H-6 และ Me บน C-10 ทำให้สามารถระบุสเตริโอเคมีของสารประกอบ 7 ได้ดังแสดงในรูปข้างบน จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี สามารถสรุปได้ว่าสารประกอบ 7 เป็นสารใหม่ โดยจะตั้งชื่อว่า evanthrasterol B

ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 181-214 ซึ่งได้จากการชะด้วย 50 % EtOAc ในเฮกเซน ด้วย เอธิล แอซิเทต เย็น ได้สารประกอบ 8 (110 mg) เป็นของแข็งสีเหลือง

m.p. 194-195 °C;

$[\alpha]^{20}_{D}$ -76° (c 0.23, $CHCl_3$);

λ_{max} ($CHCl_3$): (ε) 245 (26928), 255 (33475), 270 (45646), 280 (39579), 300 (13253), and 400 (9002) nm;

ν_{max} (KBr) cm^{-1}: 3486 (OH), 3073, 2976, 2883, 1797 and 1738 (C=O), 1645, 1571, 1474, 1345, 1244, 1046 and 1026 (C-O-C), 898 and 820 cm; EI MS m/z+440 [M, 14%], 409 (14), 398 (8), 371 (44), 333 (100), 283(46), 271 (22), 255 (56), 242 (8), 225 (56), and 59 (39) nm;

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 1.34 (3H, s, CH_3-17), 1.39 (3H, s, CH_3-18), 1.82 (3H, s, CH_3-23), 2.28 (3H,s, CH_3-24), 2.37 (1H, s, 16-OH), 2.44 (1H, s, 15-OH), 2.63 (1H, dd, *J* = 10.8, 14.0 Hz, H-14b), 2.69 (1H, s, H-20), 3.16 (1H, dd, *J* = 1.2, 14.0 Hz, H-14a), 3.70 (1H, d, *J* =10.8 Hz, H-15), 4.31 (1H, dd, *J* = 2.8, 10.8 Hz, H-19b), 4.41 (1H, dd, J = 2.0, 10.8 Hz, H-19a), 4.53 (1H, s, H-22b), 4.77 (1H, s, H-22a), 4.98 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, 25-OH),5.34 (1H, s, H-25), 6.72 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 7.19 (1H,s, H-5), 7.49 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3), 12.54 (1H, s, 1-OH) ppm;

^{13}C-NMR (100 MHz, CDCl) δ_C (ppm): 184.3 (C-13), 160.3(C-1), 153.1 (C-10), 151.9 (C-11), 149.5 (C-7), 142.5 (C-21), 138.5 (C-6), 138.3 (C-3), 120.8 (C-8), 119.1 (C-5),116.8 (C-12), 116.3 (C-9), 112.3 (C-22), 109.9 (C-2),109.2 (C-4), 77.7 (C-15), 72.9 (C-16), 64.5 (C-19), 63.2(C-25), 44.8 (C-20), 32.0 (C-14), 26.5 (C-17), 23.6 (C-18),22.6 (C-23), 17.4 (C-24) ppm.

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ 8 คือ tajixanthone hydrate จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^{1}H และ ^{13}C NMR กับที่รายงานไว้โดยคณะผู้วิจัย (Pornpakakul, S และคณะ 2005) ทำให้ยืนยันโครงสร้างสารประกอบ 8 ได้

แยกสารสกัดหยาบ เอธิล แอซิเทต ของน้ำเลี้ยง MCzB ด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ 330 ลำดับส่วนแยก ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 34-48 ซึ่งได้จากการชะด้วย 20-25 % EtOAc ในเฮกเซน ด้วยของผสม เฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้สารประกอบ 9 (4 mg) เป็นของแข็งสีส้ม

m.p. 239-240;

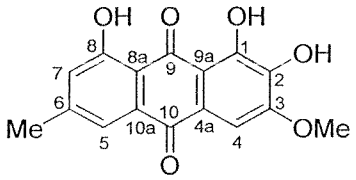
HRTOFMS *m/z* 299.0561 $[M-H]^-$ (calcd for $[M-H]^-$ 299.0557);

λ_{max} ($CHCl_3$)(ε): 278 (20085), 307 (7888), 435 (8448); ν_{max} (KBr) 3430(br), 2954 (w), 2924 (w), 2851(w), 1732 (w), 1625 (s), 1566 (m), 1486 (w), 1456(w), 1397(s), 1263(m), 1208(w), 1156(w), 1125(w), 1046(m), 970 (w), 760(m), 717(m) nm;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) 12.43 (1H, s, OH-8), 12.05 (1H, s, OH-1), 7.52 (1H, s, H-5), 7.28 (1H, s, H-4), 7.00 (1H, s, H-7), 3.96 (3H, s, OCH_3-3), 2.37 (3H, s, CH_3-6)

^{13}C-NMR($CDCl_3$) (125 MHz) 191.06 (s, C-9), 181.96 (s, C-10), 161.99 (s, C-8), 156.75 (s, C-2), 148.37 (s, C-6), 139.68 (s, C-3), 133.08 (s, C-1, C10a), 129.50 (s, C-4a), 124.13 (d, C-7), 121.10 (d, C-5), 113.66 (s,C-8a), 110.52 (s, C-9a), 109.50 (d, C-4), 60.67 (q, OCH_3-3), 21.93 (q, CH_3-6)

จากข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY ทำให้ระบุได้ว่าสารประกอบ **9** คือ 1,2,8-Trihydroxy-3-methoxy-6-methylanthraquinone (หรือชื่อสามัญคือ dermoglaucin)



9

ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 49-52 ซึ่งได้จากการชะด้วย 25-30 % EtOAc ในเฮกเซน ด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ทำให้ได้สารประกอบ **5** (4 mg) เป็นของแข็งสีส้ม

ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 81-110 ซึ่งได้จากการชะด้วย 50 % EtOAc ในเฮกเซน ด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ทำให้ได้สารประกอบ **10** (7 mg) เป็นผลึกสีขาว

m.p. 201-202 °C (dec);

$[\alpha]_D^{20}$ -72 ($CHCl_3$, c 0.24);

HRESIMS *m/z* 427.2050 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{25}H_{31}O_6$ 427.2120);

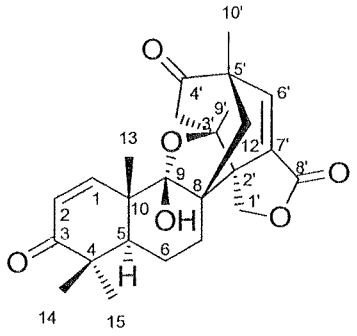
ν_{max} (KBr) 3418 (br,s), 2961 (s), 2929 (s), 2874 (m), 1711 (s), 1668 (s), 1457 (m), 1385 (m), 1376 (m), 1243 (s), 1222 (s), 1151 (s), 1108 (s), 1094 (s), 1055 (s), 964(m), 939 (m), 903 (m) nm;

^{1}H-NMR (400 MHz): 7.26 (1H, d, *J* = 10 Hz, H-1), 7.00 (1H, s, H-6') , 5.87 (1H, d, *J* = 10 Hz, H-2), 4.65 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H-1'), 4.02 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H-1'), 2.65 (1H, d, J = 19.2 Hz, H-11), 2.48 (1H, d, J = 19.2 Hz, H-11), 2.31 (1H, d, J = 10.4 Hz, H-5), 2.20 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-12) , 1.62 (1H, m, H-7), 1.59 (2H, m, H-6), 1.45 (1H, d, J= 15.6 Hz, H-12), 1.43 (3H, s, H-9'), 1.29 (3H, s, H-10'), 1.23 (1H, m, H-7), 1.20 (3H, s, H-13), 1.11 (3H, s, H-15), 1.06 (3H, s, H-14)

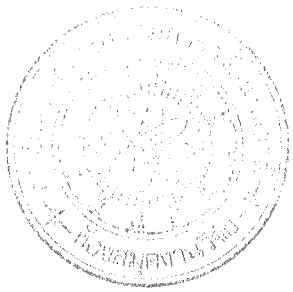
^{13}C-NMR (100 MHz): 204.52 (s, C-3), 200.54 (s, C-4'), 167.79 (s, C-8'), 155.61 (d, C-1), 147.88 (d, C-6'), 129.91 (s, C-7'), 126.37 (d, C-2), 110.00 (s, C-9), 84.20 (s, C-3'), 67.32 (t, C-1'), 55.76 (s, C-2'), 53.72 (s, C-8), 51.33 (t, C-11), 51.33 (s, C-5'), 46.59 (d, C-5), 44.50 (s, C-4), 41.71 (s, C-10), 38.27 (t, C-12), 31.00 (t, C-7), 28.40 (q, C-15), 27.80 (q, C-9'), 22.36 (q, C-10'), 21.34 (q, C-14), 19.04 (q, C-13), 18.63 (t, C-6)

HRMS *m/z* 427.2050 $[M+H]^+$ ทำให้ทราบสูตรโมเลกุลของสารประกอบ **10** คือ $C_{25}H_{28}O_6$ ^{1}H-NMR ของสารประกอบ **10** แสดงให้เห็นสัญญาณสำคัญซึ่งประกอบด้วย 3 โปรตอนโอเลฟินที่ δ_H 7.26, 7.00 และ 5.87 ppm, ห้าหมู่เมธิลที่ δ_H 1.43, 1.29, 1.20, 1.11 และ 1.06 ppm, โปรตอนของเมธิลีนที่ต่อกับออกซิเจนที่ δ_H 4.65 และ 4.02 และโปรตอนของเมธิลีนที่อยู่ใกล้ชิดกับ Csp^2 ที่ δ_H 2.65 และ 2.48 ppm

^{13}C NMR ของสารประกอบ **10** แสดงให้เห็นว่ามี 25 คาร์บอน ซึ่งประกอบด้วย 3 คาร์บอนิลคาร์บอน ที่ δ_C 204.52, 200.54 และ 167.79 ppm, 4 คาร์บอนของโอเลฟินที่ δ_C 155.61, 147.88, 129.91 และ 126.37, ppm, 4 คาร์บอนเมธิลที่ δ_C 28.40, 27.80, 22.36, 21.34 and 19.04 ppm, 5 คาร์บอนเมธิลีนที่ δ_C 67.32, 51.33, 38.27, 31.00 และ 18.63 ppm, หนึ่งคาร์บอนเมไธน์ที่ δ_C 46.59 ppm, และ 8 ควอเทอร์นารีคาร์บอนที่ δ_C 110.00 (OC-OH), 84.20, 55.76, 53.72, 2x 51.33, 44.50 และ 41.71ppm. ข้อมูล ^{1}H, ^{13}C, gHSQC, gHMBC, gCOSY, TOCSY และ NOESY สามารถเชื่อมต่อโมเลกุลของสารประกอบได้ดังรูปข้างล่างนี้



10



สารเมแทบอไลท์ของ *Emericella variecolor* ที่เพาะเลี้ยงในในอาหารเหลว Czapek-Dox (CzB)

ตัดต้นเชื้อ *Emericella variecolor* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Czapek-dox ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 mm จากนั้นใส่ห้าชิ้นที่ตัดไว้ลงในขวดเพาะเลี้ยง 250 ml ที่มี CzB อยู่ 100 ml (x 211) เพาะเลี้ยงราโดยตั้งอยู่กับที่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง. กรองแยกน้ำเลี้ยงและเส้นใยออกจากกันโดยใช้กระดาษกรอง Whatman no.1 ได้น้ำเลี้ยง (14 L) และเส้นใย (1.30 กก. ของน้ำหนักเปียก)

ระเหยน้ำเลี้ยงให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแบบเยือกแข็งได้กากของแข็งสีน้ำตาลดำ (87.45 g) สกัดกากด้วย เอธิล แอซิเทต (2L x 5) ในอ่างอัลตราโซนิก ระเหยสารสกัด เอธิล แอซิเทต ภายใต้การลดความดัน ได้ของแข็งสีน้ำตาลดำ (790 mg) การที่เหลืออยู่ (85.38 g) สกัดต่อด้วยเมธานอล (2 L x 5) ในอ่างอัลตราโซนิก หลังจากการระเหยเมธานอล) ได้กาก (56.68 g)

สกัดเส้นใย (1.30 กก. ของน้ำหนักเปียก) ด้วยเมธานอล (2 L x 5) แล้วระเหยตัวทำละลายได้ของแข็งสีน้ำตาลดำ (41.95 g) สกัดของแข็งสีน้ำตาลดำด้วย เอธิล แอซิเทต (2 L x 5) และ เมธานอล (2 L x 5), โดยลำดับ หลังจากการระเหยตัวทำละลายออกไป, ได้สารสกัดหยาบ เอธิล แอซิเทต (26.27 g) และกากสกัดหยาบเมธานอล (13.46 g)

แยกสารสกัดหยาบ เอธิล แอซิเทต ของเส้นใยราที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน CzB ด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ 280 ลำดับส่วนแยก การระเหยส่วนแยก 36-48 ซึ่งได้จากการชะด้วย 20-25% EtOAc ในเฮกเซน ทำให้สารประกอบ **1** ตกตะกอนออกมา หลังจากการกรองและล้างตะกอนด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้ สารประกอบ **1** (12 mg) เป็นของแข็งสีขาว ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยก 49-56 ซึ่งได้จากการชะด้วย 25 % EtOAc ในเฮกเซน ด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้สารประกอบ **2** (10 mg) เป็นผลึกไม่มีสี

การแยกสารเมแทบอไลท์เห็ดเผาะ (*Astraeus odoratus*)

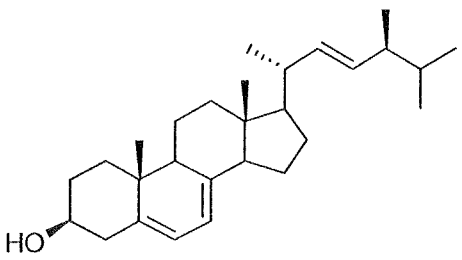
ราในกลุ่ม *Astraeus* เป็นเชื้อราตระกูลหนึ่งของ ectomycorrhizal ซึ่งอยู่ในสภาวะแวดล้อมภูมิอากาศแบบอบอุ่นและร้อนชื้น พบได้ทั่วไปทั่วโลก ในเอเชีย พบ 3 สปีชีส์และ 1 variety : *Astraeus odoratus* Phosri, Watling, M. P. Martin & Whalley (syn. *A. thailandicus*; Phosri และคณะ, 2004); *A. asiaticus* Phosri, M. P. Martin & Watling (Phosri et al. 2007); *A. hygrometricus* (Pers.) Morgan (Morgan 1889; Ito 1959) และ *A. hygrometricus* var. *koreanus* V. J. Stenek (Stenek, 1958; Kreisel, 1976; Imazeki และ Hongo, 1989). ในภูมิประเทศอื่นๆ *A. hygrometricus* (อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ ยุโรป แอฟริกา และ ออสเตรเลีย) และ *A. pteridis* (อเมริกาเหนือ และ Canary Islands) (Robert 2003; Baseia and Galvao 2001; De Roman et al, 2005; Phosri et al. 2007). โดยต้นไม้ที่อยู่อาศัยของ *Astraeus hygrometricus* และ *A. pteridis* ได้แก่ *Pinus*, *Pseudotsuga*, *Alnus*, *Eucalyptus* และ *Castanea* ส่วน *A. odoratus* และ *A. asiaticus* รายงานว่าพบได้ในป่า *Dipterocarp* (Trappe 1967; Malajczuk และคณะ, 1982; Phosri และคณะ, 2007).

มีรายงานว่า *Astraeus* พบสารประกอบในกลุ่ม steroids (Takaishi, Y. และคณะ, 1987), triterpenoids (Takaishi, Y และคณะ, 1987; Stanikunaite, R. และคณะ, 2008), , glucans (Chakraborty, I. และคณะ, 2004; Maiti, D และคณะ, 2008; Chakraborty, I. และคณะ, 2007), และ proteins (Maiti, S. และคณะ, 2008) และ volatile compounds (Kakumyan, P และ Matsui, K. 2009)

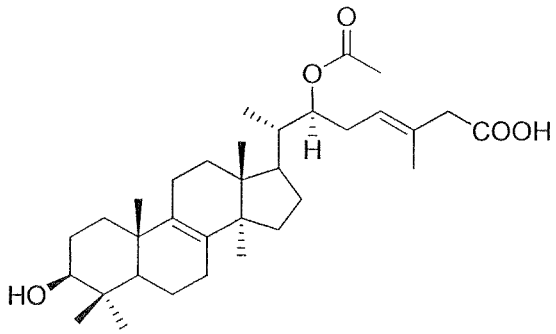
ในการวิจัย นำเห็ดเผาะจากจังหวัดน่าน 2.20 กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)มาบดให้ละเอียดแล้วนำไปแช่ในตัวทำละลายต่างๆ ดังนี้ ได้แก่ เฮกเซน เอธิล แอซิเทต และ เมทานอล ตามลำดับ ระเหยตัวทำละลายที่แช่เห็ดเผาะจนแห้ง ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน 9.49 กรัม สารสกัดหยาบเอธิล แอซิเทต 16.27 กรัม และสารสกัดหยาบเมธานอล 119.46 กรัม วิเคราะห์สารประกอบโดยใช้ TLC และ ^{1}H-NMR

แยกส่วนสกัดหยาบเอธิล แอซิเทตโดยใช้ซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ Hexane, Hexane : EtOAc, EtOAc, EtOAc: MeOH, MeOH ตามลำดับ ได้ 130 ลำดับส่วนแยก นำมาวิเคราะห์โดยใช้ TLC และ ^{1}H NMR จากนั้นลำดับส่วนแยกที่มีสารประกอบคล้ายคลึงกันนำมารวมเข้าด้วยกัน ได้ 23 ส่วนแยก ล้างของแข็งที่ได้จากส่วนแยกที่ 15-22 ซึ่งได้จากการชะด้วย 25 %EtOAc ในเฮกเซน ด้วยของผสมเฮกเซน-เอธิล แอซิเทต ได้ Ergosterol เป็นตะกอนสีขาว

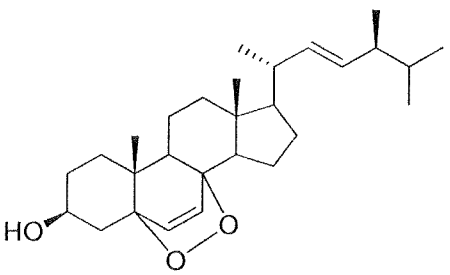
ส่วนแยก 27-30 ซึ่งได้จากการชะด้วย 30% EtOAc ในเฮกเซน นำมาแยกโดย semi-preparative reverse phase HPLC โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่แบบเกรเดียนท์ H_2O:MeOH (20:80) ไปจนถึง MeOH อัตราการไหล 3.0 ml/min และตรวจวัดโดยใช้ UV ที่ช่วงคลื่น 220 และ 254 nm ได้สาร Triterpene 1 ที่เวลาการกักเก็บ 21.5 นาที, ergosterol peroxide ที่เวลาการกักเก็บ 27.5 นาที และ 5,8-epidioxy-(3β,5*a*,8*a*,24*R*)-ergosta-6-en-3-ol ที่เวลาการกักเก็บ 29 นาที



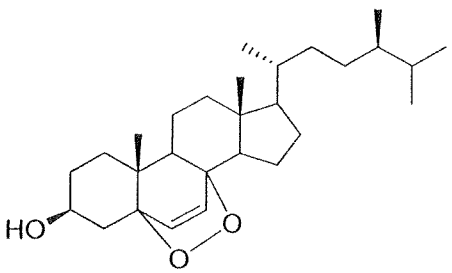
Ergosterol



Triterpene 1

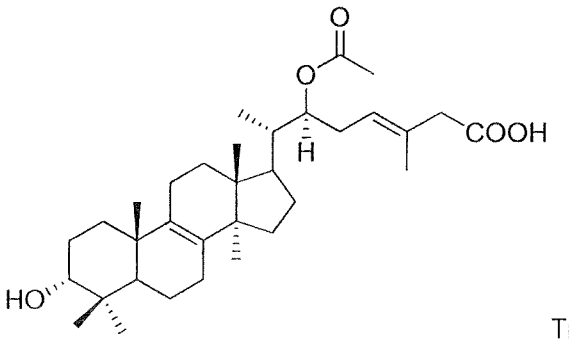


Ergosterol peroxide



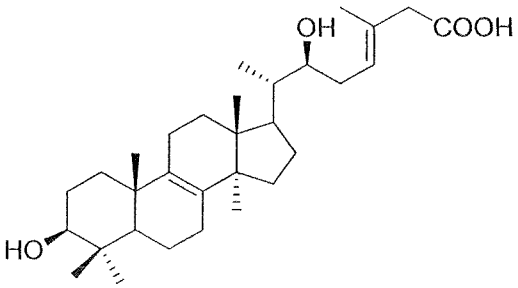
5,8-Epidioxy-(3β,5*a*,8*a*,24*R*)-ergosta-6en-3-ol

ส่วนแยก 31-34 ซึ่งได้จากการชะด้วย 40% EtOAc ในเฮกเซน นำมาแยกโดย semi-preparative reverse phase HPLC โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่แบบเกรเดียนท์ H_2O:MeOH (30:70) ไปจนถึง MeOH อัตราการไหล 3.0 ml/min และตรวจวัดโดยใช้ UV ที่ช่วงคลื่น 220 และ 254 nm ได้สาร Triterpene 2 ที่เวลาการกักเก็บ 19.5 นาที และ Triterpene 1 ที่เวลาการกักเก็บ 23 นาที

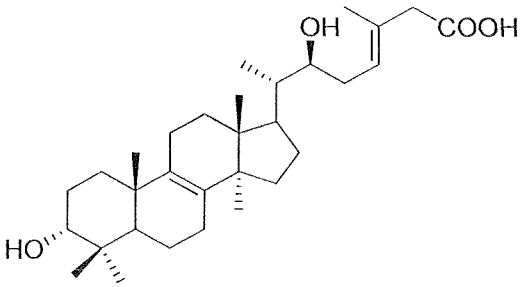


Triterpene 2

ส่วนแยก 43-46 ซึ่งได้จากการชะด้วย 50% EtOAc ในเฮกเซน นำมาแยกโดย semi-preparative reverse phase HPLC โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่แบบเกรเดียนท์ H_2O:MeOH (30:70) ไปจนถึง MeOH อัตราการไหล 3.0 ml/min และตรวจวัดโดยใช้ UV ที่ช่วงคลื่น 220 และ 254 nm ได้สาร Triterpene 3 ที่เวลาการกักเก็บ 25.0 นาที และ Triterpene 4 ที่เวลาการกักเก็บ 30 นาที



Triterpene 3



Triterpene4

ด้วยเหตุที่ระยะเวลาของโครงการได้สิ้นสุดลงก่อนที่จะทำการแยกสารเมแทบอไลท์ของเห็ดเผาะให้เสร็จสมบูรณ์ จึงยังคงมีงานที่ต้องทำต่อไปอีกอีกมากเพื่อจะได้ข้อมูลครบถ้วนสมบูรณ์ ดังนั้นผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะได้รับการสนับสนุนเงินทุนต่อไปเพื่อให้สามารถศึกษาสารที่เห็ดเผาะสร้างขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งจะได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้เหล่านั้นด้วย