

### บทที่ 3

## การศึกษาองค์ประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น

นอกจากลักษณะภายนอกและจุดลักษณะแล้ว การศึกษาทางพฤกษเคมียังสามารถใช้กำหนดเอกลักษณ์ของสมุนไพรได้เช่นกัน โดยเฉพาะวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography; TLC) เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของพืชสมุนไพร เนื่องจากทำได้ง่ายสะดวก รวดเร็ว และสามารถตรวจสอบเทียบกับสารมาตรฐานได้ โดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีของสารสำคัญในพืชกับสารตรวจสอบ หรือการใช้สีที่ปรากฏ หรือค่า  $R_f$  ของสารบนแผ่น TLC เพื่อเป็นตัวระบุเอกลักษณ์ของพืชชนิดนั้นๆ สำหรับการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบพืช 3 ชนิดในสกุลเดียวกันที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน และพืชชนิดเดียวกันแต่มีลักษณะผันแปรทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดของสารที่ตรวจสอบจึงเป็นการศึกษาเบื้องต้น (screening) และทำการบันทึกไว้เป็นข้อมูลเอกลักษณ์เบื้องต้นโดยละเอียดเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาต่อไป

### การทบทวนวรรณกรรม

#### 1. องค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล *Murdannia*

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องพบว่า การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุลนี้ยังมีการศึกษาน้อยมาก ได้แก่ *Murdannia bracteata* พบสารสำคัญ คือไฟโทสเตอรอลกลูโคไซด์ (phytosteryl glucoside) (Jirathariyakul et al., 1996) กลัยโคสฟิงโกไลปิด (glycosphingolipid) (Jirathariyakul et al., 1998) สารกลุ่มสเตียรอยด์ ไตรเทอร์ปีน แทนนิน ฟลาโวนอยด์ (ชารินี สืบปาละ และคณะ, 2550) และสารกลุ่ม hydroxybutaeanolide ได้แก่ แบลกทานโนไลด์เอ (bracteanolide A) แบลกทานโนไลด์บี (bracteanolide B) (+)-(R)-*p*-hydroxyphenyllactic acid ไอโซไวเทกซิน (isovitexin) (Wang et al., 2007) ส่วน *M. loriformis* และ *M. nudiflora* พบสารกลุ่มสเตียรอยด์ ไตรเทอร์ปีน แทนนินและฟลาโวนอยด์ (ชารินี สืบปาละ และคณะ, 2550; 2551) และจากการทบทวนองค์ประกอบเคมีของพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันนี้พบว่า

Cannon et al. (1979) รายงานไม่พบสาร alkaloids จากส่วนใบและลำต้นใน *Forrestia griffithii* Clarke และ *Pollia sorzogonensis* Endl.

Hegnauer (1963, 1986) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพืชวงศ์ Commelinaceae โดยรายงานไม่พบสาร saponins และ alkaloids ในพืชวงศ์นี้ ส่วนองค์ประกอบหลักที่พบโดยทั่วไปคือ flavonols, glycoflavones และ phenolic acid

Said (1986) รายงานไม่พบสาร alkaloids, steroid, triterpenoid และ saponin จากส่วนใบของ *Forrestia gracilis* และ *Forrestia marginata* แต่พบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ในสารสกัดที่ได้จากส่วนเปลือกต้นของ *Forrestia gracilis*

Paola et al. (2006) รายงานพบสารจำพวก alkaloides, esteroides และ lactonas sesquiterpénicas ในสารสกัดด้วยเมทานอลจาก *Commelina repens*

Yang et al. (2007) ได้ทำการทบทวนรายงานการศึกษายาองค์ประกอบเคมีของพืชสกุล *Commelina* คือ *C. undulate* R.Br. (Sharma, Tandon, 1982) *C. benghalensis* Linn (Stirton, Harborne, 1980; Batanical Institute of Jiangsu Province, 1991) และ *C. communis* Linn. (Goto et al., 1983; Tamura et al., 1986; Kim et al., 1999) ซึ่งพืชทั้ง 3 ชนิดพบสารจำพวก Steroids, terpenoids, iridoids และ flavonols

Mamyrbékova-Békro et al. (2008) รายงานการศึกษายาองค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วย 70 % เมทานอลจากส่วนรากของ *Palisota hirsute* (Thunb.) K. Schum. พบสารจำพวก polyphenols, flavonoids, tannins, coumarins, reducing sugar, proteins และ alkaloids

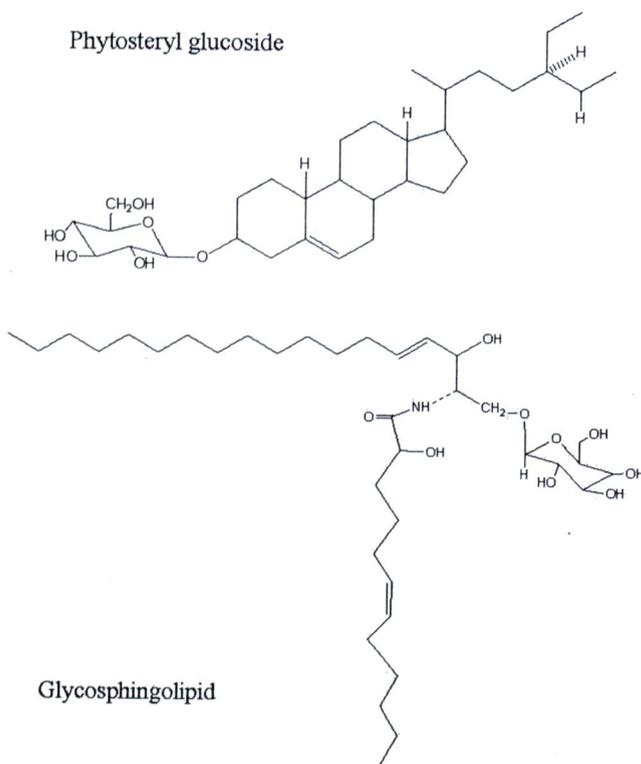
Parivuguna et al. (2008) รายงานพบสารในกลุ่ม flavonoids, saponins, tannins, phenolic compounds; cardiac glycoside และ terpenoids แต่ไม่พบ alkaloids และ oil ในสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใบของ *Rheo discolor* Hance. ส่วนสารสกัดด้วยน้ำพบเฉพาะสารในกลุ่ม saponins

นอกจากลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological) ที่ถูกนำมาใช้เป็นลักษณะจัดจำแนกชนิดของพืชแล้วการศึกษานุกรมวิธานเชิงเคมี (chemotaxonomy) ที่ศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีที่พืชสร้างขึ้นมา ซึ่งสารบางชนิดจะพบในพืชที่แตกต่างกันยังถูกนำมาใช้ในการจัดจำแนกเพื่อเพิ่มความถูกต้อง

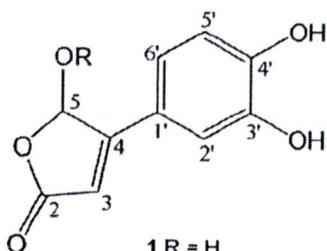
สำหรับพืชวงศ์ Commelinaceae สามารถนำเอาองค์ความรู้ทางด้านการศึกษานุกรมวิธานเชิงเคมีมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดพืชวงศ์นี้ได้ โดยเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Martinez, 1985; Martinez, Swain, 1985) ที่พบมากในพืชวงศ์นี้ได้แก่ flavone c-glycosides พบถึงร้อยละ 78 ของพืชทั้งหมด สาร flavonol o-glycoside พบร้อยละ 28 สาร quercetin ส่วนมากจะปรากฏเฉพาะในส่วน aglycone ส่วนสาร 6-hydroxyluteolin จะพบมากในสกุล *Tradescantia* สำหรับสาร tricin จะพบในส่วนสปอร์ของพืชซึ่งน้อยมากพบเพียงร้อยละ 5 ของพืชทั้งหมด (ศึกษาพืชจำนวน 152 ชนิด) (Martinez, Swain, 1985)

Stirton, Harbome (1980) ทำการสำรวจสารกลุ่ม anthocynins ในใบและดอกของพืชวงศ์ Commelinaceae จำนวน 10 สกุล 28 ชนิด พบว่าสาร cyanidin 3,7,3'-triglucoside และ acylated เป็นสารสำคัญหลักของสารในกลุ่ม anthocyanins และสาร delphinidin triglucoside พบได้เฉพาะในพืชสกุล *Gibasis* ขณะที่สาร p-coumaroyl-delphinidin 3,5-diglucoside พบได้เฉพาะในสกุล *Commelina* นอกจากนี้สามารถใช้ acylated glucoside เป็น chemical marker ในการแยกพืชวงศ์นี้จากพืชวงศ์อื่นๆ ในกลุ่มของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวด้วยกัน

Phytosteryl glucoside



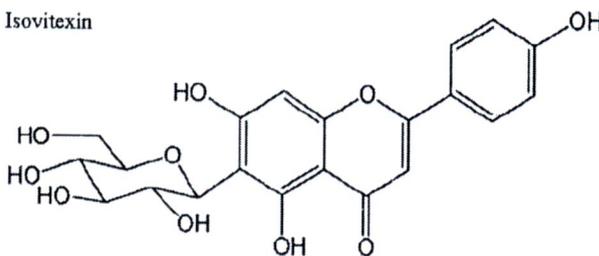
Glycosphingolipid



1 R = H  
2 R = CH<sub>3</sub>

Bracteanolide A (1), Bracteanolide B (2)

Isovitexin



ภาพที่ 9 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีในหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia bracteata*)

(Jirathariyakul et al., 1996; 1998; Wang et al., 2007)

## 2. ระบบทำลายที่ใช้แยกสารโดยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี ในพืชสกุล *Murdannia*

การศึกษาการแยกสารองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography, TLC) มีรายงานว่าระบบชุดทำลาย (solvent system) ที่เหมาะสมและแสดงความแตกต่างของโครมาโทแกรม (chromatogram) ได้อย่างชัดเจนสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการวินิจฉัยพืชในสกุลนี้ ได้แก่ ชุดทำลายที่ประกอบด้วย เอทิลแอซีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอซิดิก : น้ำ (ethyl acetate : formic acid : acetic acid : water) อัตราส่วน 125 : 11 : 11 : 13.5 ในการเปรียบเทียบ *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* (ธารินี สืบปาละ, 2551) ระบบชุดทำลายประกอบด้วย เฮกเซน : เอทิลแอซีเตต : เมทานอล : กรดแอซิดิก : น้ำ (hexane : ethyl acetate : methanol : acetic acid : water) อัตราส่วน 35 : 15 : 2.5 : 0.25

เอทิลแอซีเตต : กรดฟอร์มิค : กรดแอซีติก : น้ำ อัตรารส่วน 40 : 3.4 : 3.4 : 4.2 และ เอทิลแอซีเตต : กรดฟอร์มิค : น้ำ : เมทานอล อัตรารส่วน 30 : 6 : 6 : 3 ในการแยกสารองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดิน (aerial parts) ของ *M. japonica*, *M. spectabilis* และ *M. vaginata* (Chaichumporn et al., 2008)

### 3. การพิสูจน์กลุ่มสารด้วยน้ำยาพ่นหรือชุบ (Spray or dip reagents)

(1) Dragendorff's spray reagent ใช้ทดสอบแอลคาลอยด์ ซึ่งสารกลุ่มแอลคาลอยด์จะดูดกลืนแสงที่ UV-254 นาโนเมตรและสะท้อนแสงสีน้ำเงินหรือเหลืองที่ UV-365 นาโนเมตร เมื่อตรวจสอบด้วย dragendorff's spray reagent โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำระหว่างไนโตรเจนในโมเลกุลของแอลคาลอยด์กับน้ำยาที่มีโลหะหนัก โดยแอลคาลอยด์ในรูปอิสระจะได้สีส้ม (Wagner et al., 1984) แต่สารบางชนิดก็อาจให้ false positive กับน้ำยานี้ได้ เช่น พวกที่มี conjugated carbonyl group (Ketone, aldehyde, lactone) ซึ่งจะเกิด false positive ได้ประมาณ 9% ในทางตรงกันข้ามอาจเกิดปรากฏการณ์ false negative ได้ คือ แอลคาลอยด์บางชนิดซึ่งมีไนโตรเจนอยู่นอกวง (พวกเอมีน หรือ โพรโตแอลคาลอยด์) และพวก purines มักไม่เกิดตะกอนกับน้ำยาทดสอบดังกล่าว (เอมอร์ โสมนะพันธ์ และคณะ, 2533)

(2) Anisaldehyde-sulphuric acid ใช้ตรวจสอบสารในกลุ่ม essential oils ซึ่งสารกลุ่ม essential oils จะดูดกลืนแสงที่ UV-254 นาโนเมตร คือจะปรากฏแถบสีดำนบนพื้นสีเขียวและจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีน้ำเงินที่ UV-365 นาโนเมตร ภายหลังจากการตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulphuric acid เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏสี น้ำเงินเข้ม เขียว แดง น้ำตาลและสารในกลุ่ม essential oils บางชนิดเมื่อสังเกตภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีน้ำเงิน เขียว แดง น้ำตาล เช่น สารกลุ่ม terpene เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏสีม่วงแดง ม่วงน้ำเงิน น้ำตาล สีเทาจาง-น้ำเงิน ภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร menthol จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดง cineole จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเขียว น้ำตาล menthyl acetate จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีฟ้าแดง menthone จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเหลือง-น้ำตาล เป็นต้น (Wagner et al., 1984) สารในกลุ่ม triterpenoids เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีน้ำตาล ม่วง ส้ม เทา และภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเหลือง แดง น้ำตาล ส้ม น้ำเงิน เทา (Martelanc et al., 2009)

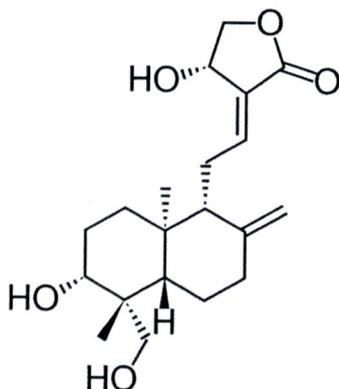
(3) Sulphuric acid สารในกลุ่ม essential oils เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีเหลือง และ ม่วงแดง สารในกลุ่ม glycosides จะปรากฏแถบสีน้ำตาล สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จะปรากฏแถบสีเหลืองเขียวและสะท้อนแสงสีเหลืองเขียว เหลืองน้ำตาล น้ำเงิน ที่ UV-365 นาโนเมตร (Wagner et al., 1984) สารกลุ่ม terpenoids เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีแดง ม่วงแดง น้ำตาลแดง เหลือง น้ำเงิน (Coscia, 1987; Harborne, 1984; Macek, 1972)

(4) 1% Aluminum chloride ตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จะดูดกลืนแสงที่ UV-254 นาโนเมตร เมื่อตรวจสอบด้วย 1% อลูมิเนียมคลอไรด์ โลหะหนักอลูมิเนียมคลอไรด์ที่มีประจุบวกจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มไฮดรอกซิลที่มีประจุลบของฟลาโวนอยด์ โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และกลุ่มไฮดรอกซิลตรงตำแหน่งคาร์บอนที่ 5 (Harborne, 1984; Macek, 1972) ทำให้เกิดสีเหลือง เหลืองเขียว น้ำตาลและภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีน้ำตาล น้ำเงิน เหลือง เหลืองเขียวและฟ้าขาว (Griffiths and Smith, 1972; Macek, 1972; Cooper and Rao, 1992; DeRijke et al., 2006)

(5) สารละลาย DPPH เป็นการตรวจสอบสารที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> โดยสารที่มีความสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> จะทำให้ความเข้มของสีสารละลาย DPPH ลดลงเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองอ่อน (Bondet et al., 1997)

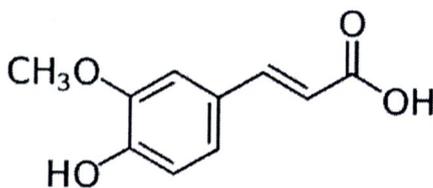
#### 4. สารมาตรฐานเปรียบเทียบ

แอนโดกราฟโฟไลด์ (andrographolide) มีลักษณะโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 10 เป็นสารกลุ่ม lactone diterpenoid ซึ่งได้นำมาใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบในการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากมีรายงานพบสารในกลุ่ม terpenoids ในพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน (Parivuguna et al., 2008)



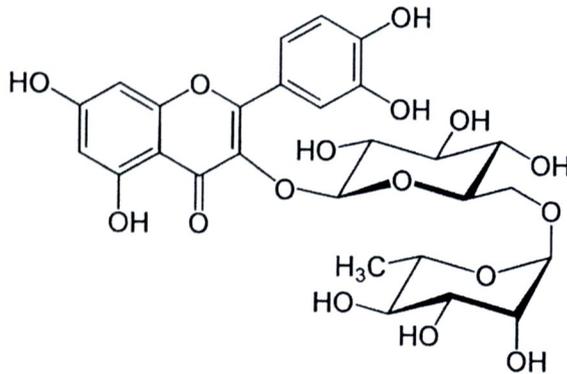
ภาพที่ 10 โครงสร้างของแอนโดกราฟโฟไลด์ (Andrographolide, n.d)

กรดเฟอร์รูลิก (ferulic acid) มีลักษณะโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 11 เป็นสารกลุ่ม โพลีฟีนอล (polyphenol) ในสารประกอบประเภทฟีนอลิก (phenolic compound) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวละลายน้ำได้ มีรายงานการศึกษาพบสารกลุ่มนี้ใน *Palisota hirsute* (Mamyrbékova-Békro et al., 2008) จึงได้นำมาใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ



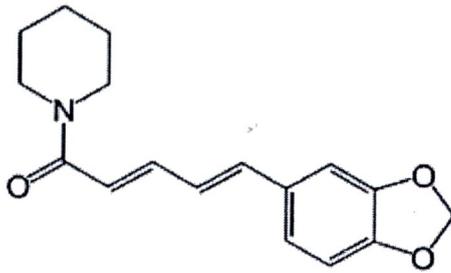
ภาพที่ 11 โครงสร้างของกรดเฟอร์รูลิก (Ferulic acid, n.d)

รูทีน (rutin) มีลักษณะโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 12 เป็นสารพฤษเคมีในกลุ่มของ flavonol glycoside มีรายงานว่าสารกลุ่มนี้พบได้ในพืชวงศ์ Commelinaceae (Martinez, Swain, 1985) และมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ ไอโซไวเทกซิน (isovitexin) ที่สกัดได้จาก *Murdannia bracteata* (Wang et al., 2007) ด้วยเหตุนี้จึงได้นำรูทีนมาใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ



ภาพที่ 12 โครงสร้างของรูทีน (Rutin, n.d)

ไปเปอริน (piperine) ลักษณะโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 13 เป็นสารกลุ่ม true alkaloids เป็นแอลคาลอยด์ที่มีชีวิตสังเคราะห์มาจากกรดอมิโน หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโนและมีไนโตรเจนอยู่ใน heterocyclic ring ซึ่งพบได้ในพริก จึงได้นำมาใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบในการตรวจสอบสารกลุ่ม alkaloids



ภาพที่ 13 โครงสร้างของไปเปอริน (Piperine, n.d)

## วิธีดำเนินการศึกษา

สำหรับการศึกษาค้างนี้ทำการศึกษเปรียบเทียบองค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของพริก 3 ชนิด ด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography; TLC) และการหาปริมาณรวมของสารสกัด

### 1. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา อุปกรณ์และสารเคมี

#### (1) ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

ตัวอย่างพริกที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบเคมีเบื้องต้น คือส่วนเหนือดินที่ไม่ใช้ในการสืบพันธุ์และส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea*, *M. macrocarpa* และ *M. simplex* รายละเอียดแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาพฤกษเคมีและอ้างอิง

Samples	Code	Color of flower /population	Locality	Collection date	Vouchers' no.
<i>M. gigantea</i>	Mg (wl)	white / larger plant	Tup Phaya Suea waterfall, Khon Kaen Province.	27/06/2009	SK, OC & TT 41
<i>M. gigantea</i>	Mg (ws)	white / smaller plant	Ban Chom Manee, Nakhon Phanom Province.	09/08/2009	SK, OC & TT 58
<i>M. gigantea</i>	Mg (pwm)	purplish white / moderate	Phu Rua forest, Loei Province.	27/07/2009	SK, OC & TT 54
<i>M. gigantea</i>	Mg (vm)	violet / moderate	Phu Phan forest, Sakon Nakhon Province.	20/08/2009	SK, OC & TT 66
<i>M. macrocarpa</i>	Mm	violet	Phu Kra dueng forest, Loei Province.	29/10/2009	TT, OC & SK 1205
<i>M. simplex</i>	Ms	violet	Doi Suthep-Pui forest, Chiang Mai Province.	15/08/2009	SK, OC & TT 59

SK = Sureerut Khaewsart, OC = Orasa Chaichumporn and TT = Thaweesak Thitimetharoch

## (2) อุปกรณ์และเครื่องมือ

Hot air oven, Automatic TLC sampler (Version 2.13 CAMAG, Switzerland), TLC tank (CAMAG, Switzerland), แผ่น TLC สำเร็จรูป Aluminum sheet 60 F254 เครื่องปั่นบด เครื่องระเหิดแห้ง (Lyophilizer) เครื่องระเหยแห้ง (Evaporator) และเครื่องแก้วสำหรับทดลอง

## (3) สารเคมี

Chloroform, Ethyl acetate, Methanol, Ethanol, Formic acid, Acetic acid, Hexane, Anisaldehyde spraying reagent, Ethanolic 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ethanolic 1% AlCl<sub>3</sub> reagent, Andrographolide, Ferulic acid, Rutin และ Piperine

### 2. การหาปริมาณรวมของสารสกัด (% Yield)

โดยนำส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินของพืชทั้ง 3 ชนิด มาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-4 วัน หลังจากนั้นทำการบด นำผงตัวอย่างมาชั่งอย่างละ 5 กรัม ทำการสกัดด้วยเมทานอลและน้ำอย่างละ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaker) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองเอาตะกอนออก นำส่วนที่เป็นของเหลวที่สกัดด้วยน้ำมาระเหยเอาน้ำออกด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (lyophilizer) ส่วนของเหลวที่สกัดด้วยเมทานอลนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้ง (evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการชั่งสารสกัดแล้วหาปริมาณสุทธิของสารสกัดคิดเป็นร้อยละของพืชแต่ละชนิดทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย (Jirawongse, 2000) นำสารสกัดที่ได้เก็บในหม้อดูดความชื้นเพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อไป

### 3. วิธีทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-layer chromatography; TLC)

คัดแปลงวิธีจาก ชารินี สืบปาละ และคณะ (2550), Macek (1972) และ Fried and Sherma (1986) โดยนำตัวอย่างบดเป็นผง 1 กรัม ของพืชแต่ละชนิดมาสกัดด้วยเมทานอล 5 มิลลิลิตร เขย่า 15 นาที จากนั้น นำสารสกัดแต่ละชนิดและสารมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร มาหยดบนแผ่น TLC Silica Gel F254 ขนาด 10 x 20 ด้วยเครื่อง automatic TLC sampler ที่ความเร็ว 5 วินาที/ไมโครลิตร ความยาวสารที่หยด 0.7 มิลลิเมตร จากนั้นนำ แผ่น TLC ที่หยดแล้วมาใส่ใน tank ที่มีระบบทำละลาย (mobile phase) 3 ชุด ได้แก่

ระบบทำละลาย I ประกอบด้วย เฮกเซน : เอทิลแอซีเตต : เมทานอล : กรดแอซีติก (hexane : ethyl acetate : acetic acid) อัตราส่วน 70 : 30 : 5 : 0.5 โดยใช้กรดเฟอร์รูลิก (ferulic acid, Fa) ไพเปอร์รีน (piperine, Pr), และแอนโดกราฟีโพลไซด์ (andrographolide, Al) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล เป่าด้วยลมร้อน 10 นาที แล้วบันทึกภาพและคำนวณหาค่า  $R_f$  จากนั้นสังเกตภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet light, UV) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 366 นาโนเมตร ตรวจสอบด้วย dragendorff's reagent โดยใช้สารไพเปอร์รีนเป็นสารมาตรฐาน บันทึกภาพและคำนวณหาค่า  $R_f$

ระบบทำละลาย II ประกอบด้วย เอทิลแอซีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอซีติก : น้ำ (ethyl acetate : formic acid : acetic acid : water) อัตราส่วน 125 : 11 : 11 : 13.5 โดยใช้กรดเฟอร์รูลิกและรูทีน (rutin, Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล เป่าด้วยลมร้อน 10 นาที ตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminum chloride) ในเอทานอล โดยใช้รูทีนเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ เป่าด้วยลมร้อน 10 นาที จากนั้นสังเกตภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นประมาณ 366 นาโนเมตร และตรวจสอบด้วย 0.5 มิลลิโมลลาร์ DPPH ในเมทานอล บันทึกภาพและคำนวณหาค่า  $R_f$

ระบบทำละลาย III ประกอบด้วย คลอโรฟอร์ม : เอทิลแอซีเตต : เมทานอล : กรดฟอร์มิก : น้ำ (chloroform : ethyl acetate : methanol : formic acid : water) อัตราส่วน 45 : 12.5 : 7.5 : 1.25 : 1.25 โดยใช้กรดเฟอร์รูลิกและแอนโดกราฟีโพลไซด์เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอลเป่าด้วยลมร้อน 10 นาที แล้วบันทึกภาพและคำนวณหาค่า  $R_f$  จากนั้นสังเกตภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นประมาณ 366 นาโนเมตร ตรวจสอบด้วย Anisaldehyde-sulphuric acid บันทึกภาพและคำนวณหาค่า  $R_f$

## ผลการศึกษาและอภิปรายผล

### 1. การหาปริมาณรวมของสารสกัด (% Yield)

พบว่าปริมาณร้อยละของสารที่สกัดด้วยเมทานอลและสารสกัดด้วยน้ำของ *M. gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) พืชดังกล่าวมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และสารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารสกัดมากกว่าทั้งส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดิน โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณร้อยละของสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำที่ได้ต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างพืชแต่ละชนิด

ตัวอย่างที่ใช้ ศึกษา	สารสกัดด้วยเมทานอล		สารสกัดด้วยน้ำ	
	ส่วนเหนือดิน	ส่วนใต้ดิน	ส่วนเหนือดิน	ส่วนใต้ดิน
Mg (wl)	4.3 ± 0.24	3.7 ± 0.13	8.9 ± 0.46	6.1 ± 0.38
Mg (ws)	5.9 ± 0.31	4.2 ± 0.23	7.6 ± 0.34	5.9 ± 0.24
Mg (pwm)	4.5 ± 0.27	4.1 ± 0.18	6.8 ± 0.29	5.1 ± 0.21
Mg (vm)	7.0 ± 0.43	4.3 ± 0.22	7.8 ± 0.32	6.2 ± 0.34
Mm	6.3 ± 0.33	4.0 ± 0.21	8.1 ± 0.44	4.2 ± 0.18
Ms	4.6 ± 0.23	4.1 ± 0.20	8.4 ± 0.47	6.2 ± 0.34

## 2. โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดิน

### (1) ลักษณะ โครมาโทแกรมในระบบทำละลาย I (ภาพที่ 14, ตารางที่ 7)

จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร สารสกัดพืชแต่ละชนิดจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.98, 0.73, 0.46 และ 0.41 เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่ใน Ms จะไม่ปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.73 ใน Mg (vm) พบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.14 ส่วนสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิกจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.55

เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล จะปรากฏแถบสีชมพูของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิกและแถบสีน้ำตาลม่วงของสารมาตรฐานแอนโดกราฟโฟไลด์ ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.55 และ 0.39 ตามลำดับและจะเห็นแถบสีที่ค่า  $R_f$  ต่าง ๆ ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดคล้ายคลึงกัน แต่จะพบแถบสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.73 ใน Mg (pwm) และ Mm ส่วนที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.52 พบเฉพาะใน Mm แถบสีน้ำตาลม่วงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.33 จะปรากฏชัดเจนใน Mg (pwm), Mg (vm) และ Mm สำหรับแถบสีเหลืองอมน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16, 0.08 พบเฉพาะใน Mg (wl)

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะเห็นแถบสะท้อนแสงสีแดง ม่วง ชมพูของพืชแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ต่าง ๆ ของแถบสารในแต่ละสีใกล้เคียงกัน แต่จะพบแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.52 เฉพาะใน Mm แถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16 และ 0.08 ใน Mg (wl) แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.14 ใน Mg (vm) และแถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.05 ใน Ms

เมื่อตรวจสอบด้วย dragendorff's reagent จะพบแถบสีส้มของสารมาตรฐานไปเปอร์รีนที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.92 และจะพบแถบสีส้มในสารสกัดแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.06 แต่ที่ 0.17 และ 0.09 จะพบเฉพาะใน Mm

### (2) ลักษณะ โครมาโทแกรมในระบบทำละลาย II (ภาพที่ 15, ตารางที่ 8)

จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV-254 นาโนเมตร จะพบแถบดูดกลืนแสงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.52 ของสารมาตรฐานรูทีน ส่วนสารสกัดแต่ละชนิดจะพบแถบดูดกลืนแสงแตกต่างกัน คือที่ค่า  $R_f$

ประมาณ 0.87 จะพบเฉพาะใน Mg (wl), 0.39 พบใน Mg (vm) และ 0.23 ใน Mg (pwm) เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร ที่ค่า  $R_f$  ดังกล่าวจะปรากฏแถบดูดกลืนแสงและสารสกัดพืชแต่ละชนิดยังปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.98 แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่ที่ต่างกัน คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าเขียวชัดเจนที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16 และ 0.11 เฉพาะใน Mg (vm) และ Mm แต่ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.57 พบแถบหนาเฉพาะใน Mg (vm)

เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล จะปรากฏแถบสีเหลืองของสารมาตรฐานรูทีน แถบสีชมพูอมม่วงของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิก ส่วนสารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสีเขียวดำ สีม่วงและสีน้ำตาล ที่ค่า  $R_f$  ต่าง ๆ ใกล้เคียงกัน แต่จะไม่พบแถบสีน้ำตาลดำหนาที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.23 ใน Ms และจะเห็นแถบสีเหลืองในพืชแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ แตกต่างกัน ซึ่งเป็นค่า  $R_f$  เดียวกันกับแถบดูดกลืนแสงเมื่อสังเกตภายใต้แสง UV-254 นาโนเมตร

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเขียวของสารมาตรฐานรูทีน แถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิกที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.96 และแถบสะท้อนแสงสีแดง สีชมพูของพืชแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่แถบสะท้อนแสงสีเขียวและสีฟ้าจะพบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.26 เฉพาะใน Mg (ws) ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16 และ 0.11 ใน Mm แถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.87 ใน Mg (wl) ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.39 ใน Mg (vm) และพบแถบสะท้อนแสงสีเขียวอมฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.65 ใน Mm

เมื่อตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ในเอทานอลและสังเกตภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเขียวของสารมาตรฐานรูทีน แถบสะท้อนแสงสีฟ้าของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิก ซึ่งในพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสะท้อนแสงสีเขียวและสีฟ้าแตกต่างกัน คือ Mg (ws) จะพบแถบหนาสะท้อนแสงสีเขียวอมฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.57 Mg (wl) จะพบแถบสะท้อนแสงสีเขียวอมฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.93 และ 0.87 Mg (pwm) จะพบแถบสะท้อนแสงสีเหลืองเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.23 และ Mm พบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16 และ 0.11

เมื่อตรวจสอบด้วย DPPH จะพบแถบสีเหลืองของสารมาตรฐานรูทีนและแถบสีเหลืองในสารสกัดพืชแต่ละชนิด ซึ่งจะพบมากใน Mg (wl) และ Mg (ws)

### (3) ลักษณะ โครมาโทแกรมในระบบทำละลาย III (ภาพที่ 16, ตารางที่ 9)

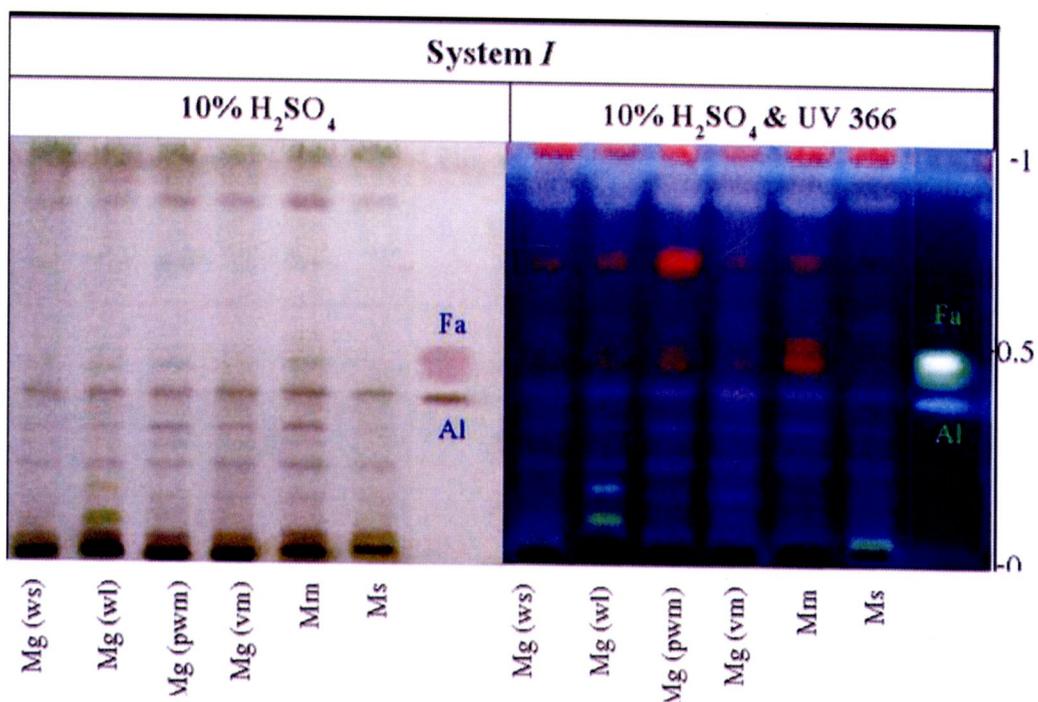
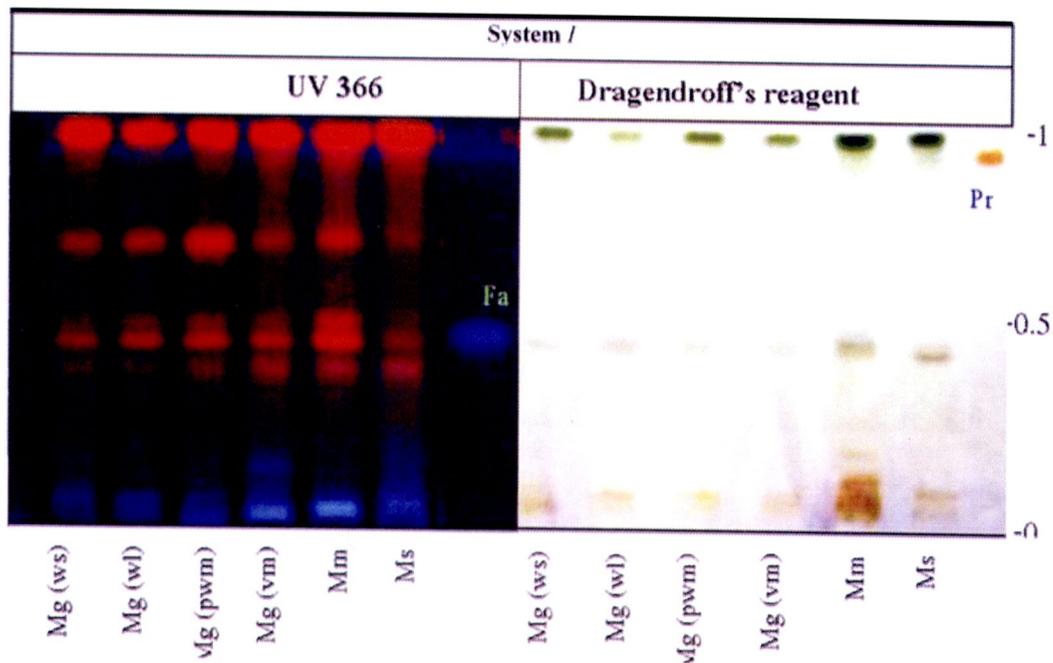
จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV-254 นาโนเมตร จะพบแถบดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิกและแอนโดกราฟีโฟไลด์ ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.18 และ 0.08 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดพืชแต่ละชนิดจะพบแถบดูดกลืนแสงที่ค่า  $R_f$  ต่าง ๆ ใกล้เคียงกันแต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบดูดกลืนแสงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.13 เฉพาะใน Mg (pwm) และ Mm และจะไม่พบแถบดูดกลืนแสงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.83 และ 0.22 ใน Mg (vm) และ Ms

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร จะพบแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกันแต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.89 พบเฉพาะใน Mg (vm) และ Ms และที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.46 พบเฉพาะใน Mm

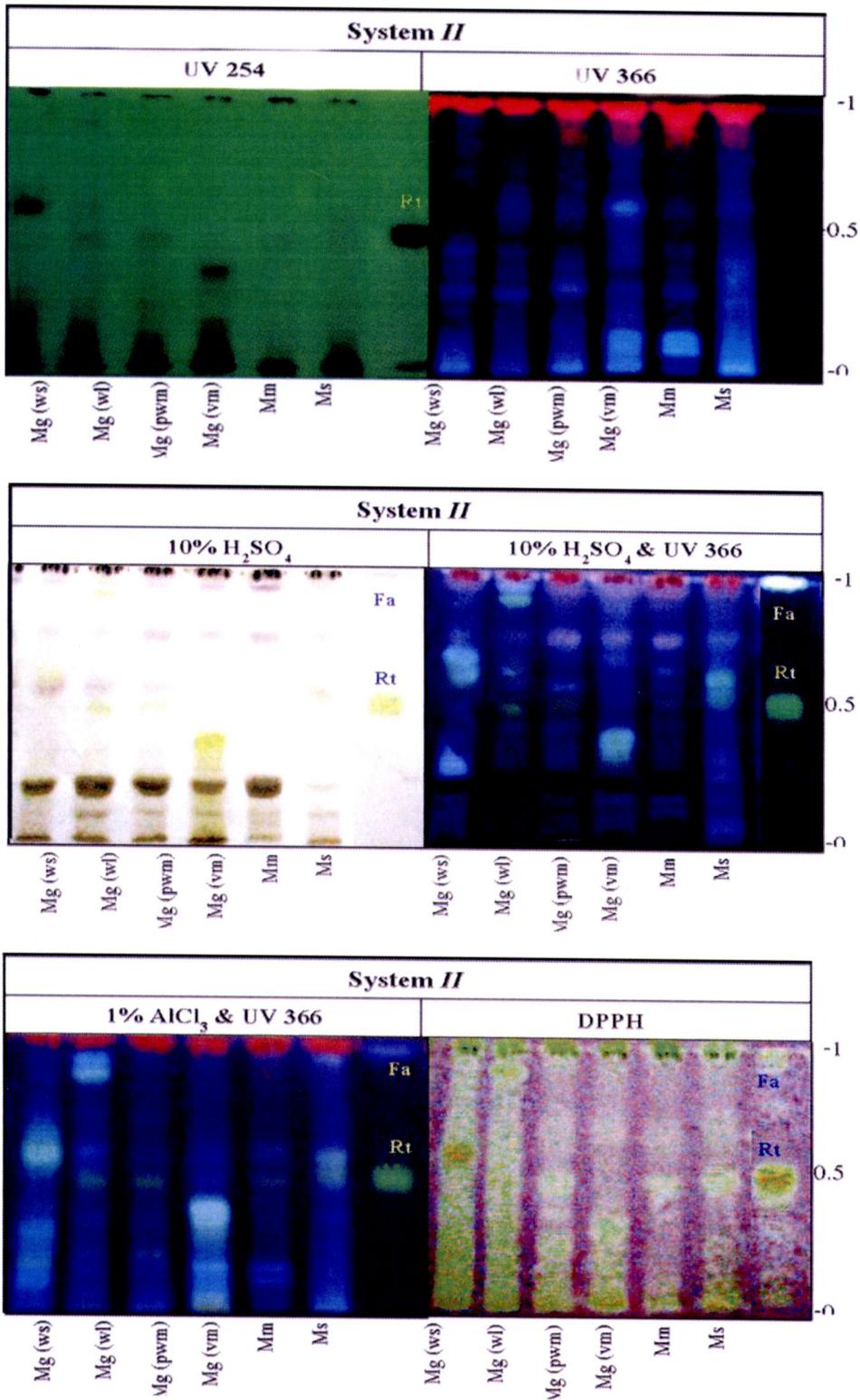
เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล จะพบแถบสีม่วงอมชมพูของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูติกและแถบสีน้ำตาลของแอนโดกราฟโฟไลด์ ส่วนสารสกัดพืชแต่ละชนิดจะปรากฏแถบสีเขียวและแถบสีม่วงที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือจะไม่พบแถบสีเขียวใน Mg (vm) และ Ms ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.83 และพบแถบสีเขียวใน Mm ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.46 และ 0.11

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังจากสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะพบแถบสะท้อนแสงสีเขียวขาวของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูติก และฟ้าขาวของแอนโดกราฟโฟไลด์ ส่วนสารสกัดพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสะท้อนแสงสีแดง สีส้มแดง สีม่วงอมชมพูที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.87 เฉพาะใน Ms แถบสะท้อนแสงสีส้มแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.46 เฉพาะใน Mm แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.15 พบเฉพาะใน Mg (wl)

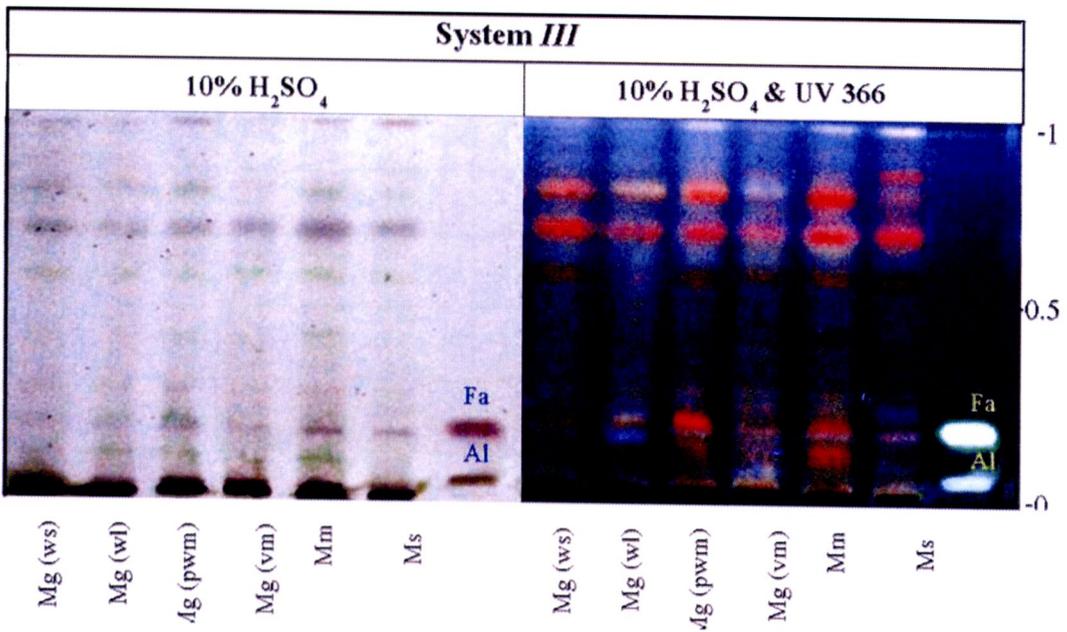
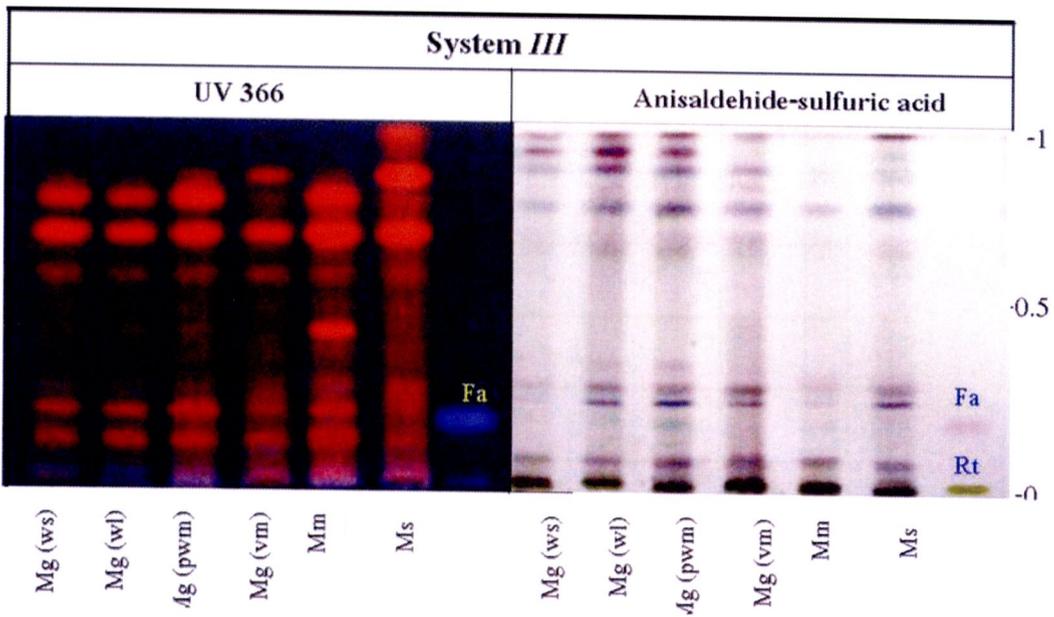
เมื่อตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulfuric acid จะพบแถบสีชมพูของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูติก แถบสีเหลืองของสารมาตรฐานรูตินและแถบสีน้ำเงิน และม่วง ที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกันในพืชแต่ละชนิด แต่ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.95 จะพบใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mg (pwm) แถบสีน้ำเงินแต่ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.25 พบเฉพาะใน Mg (pwm)



ภาพที่ 14 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบทำละลาย I โดยใช้ Ferulic acid (Fa), Piperine (Pr) และ Andrographolide (Al) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ



ภาพที่ 15 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบท่าละลาย II โดยใช้ Ferulic acid (Fa) และ Rutin (Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ



ภาพที่ 16 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบทำลาย III โดยใช้ Ferulic acid (Fa) และ Andrographolide (Al) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ

ตารางที่ 7 แสดงค่า  $R_f$  ของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของพืชแต่ละชนิด ในระบบที่ละลายย I

$R_f$	UV 254						UV 366						10% $H_2SO_4$						10% $H_2SO_4$ & UV 366						
	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	
0.98	D	D	D	D	D	D	R	R	R	R	R	R	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	R	R	R	R	R	R	R
0.88													V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B
0.73	D	D	D	D	D	D	R	R	R	R	R				Gr				R	R	R	R	R	R	R
0.52							R	R	R	R	R													R	
0.48	D	D	D	D	D	D	R	R	R	R	R				Gr				R	R	R	R	R	R	
0.46																									
0.41	D	D	D	D	D	D	R	R	R	R	R	R	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br
0.33													V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	B	B	B	B	B	B	
0.26	D	D	D			D																			
0.23													V	V	V	V	V	V	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br	V-Br
0.16		D											Y-BR												
0.14																B									
0.08		D											Y-BR												
0.05	D	D	D	D	D	D	B	B	B	B	B		V	V	V	V	V	V						Gr	
0	D	D	D	D	D	D	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	D	D	D	D	D	D

B: blue, Br: brown, D: dark, G: gray, Gr: green, L: light, O: orang, P: pink, R: red, S: strong, W: weak, V: violet, Y: yellow.

ตารางที่ 8 แสดงค่า  $R_f$  ของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของพืชแต่ละชนิด ในระบบทำละลาย II

$R_f$	10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>						10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> & UV 366						1% AlCl <sub>3</sub> & UV 366						
	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	
0.98	Gr-D	Gr-D	Gr-D	Gr-D	Gr-D	Gr-D	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
0.93	V	V	V	V	V	V	P-V	Gr-B	P-V	P-V	P-V	P-V	Gr-B	Gr-B					
0.87		Y						Gr						Gr-B					
0.76	V	V	V	V	V	V	P-V	P-V	P-V	P-V	P-V	P-V							
0.72																			
0.68							Gr-B												
0.65																			
0.60							Gr			Gr-B									
0.57	V	V	V			V	P-V	P-V	P-V				Gr-B	B-Br					Gr-Y
0.51		Y	Y	Y	Y			Gr	Gr	Gr	Gr			Y-Gr	Y-Gr		Y-Gr		Y-Gr
0.39				Y							Gr					Gr-B			
0.34																Gr-B			
0.26																			
0.23	G-D(S)	G-D(S)	G-D(S)	G-D(S)	G-D(S)	G(W)	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R				Y-Gr				
0.16																			
0.11		Br	Br	Br	Br	Br										Gr-B			B
0.70				Br	Br														B
0.00	Br	Br	Br	Br	V-Br	V-Br	Br	Br	Br	Br	Br	Br	B-Br	B-Br	B-Br	Gr-Br	B-Br	B-Br	B-Br

ตารางที่ 9 แสดงค่า  $R_f$  ของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของพืชแต่ละชนิด ในระบบทำละลาย III

$R_f$	10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>						10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> & UV 366						Anisaldehyde-sulfuric acid					
	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms
0.99	Br-P		Br-P		Br-P	Br-P	Br-O	Br	Br-O	Br	B-O	B-O	V-R	V-R	V-R	V-R		V-R
0.95													V-R	V-R	V-R			
0.90													Gr-Br	V-Gr	V-Gr	V-R		Gr
0.87						R												
0.85													Br	Br	Br			
0.83	Gr	Gr	Gr		Gr		R	O-P	R		R							
0.79																		
0.73	Gr-B	Gr-B	Gr-B	Br	B	B	R-V	R-V	R-V	R-V	R-V	R-V	V-P	V-P	V-P	B	B	B
0.71																		
0.67																		
0.61	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	O-R	O-R	O-R	O-R	O-R	O-R		Gr	Gr			
0.46					Gr	Gr												
0.35																V	V	
0.28																		
0.25													Br	V-Br	V-Br	V-Br	P	V-Br
0.22								P-O	R				V	V	B	V	V-P	V
0.19										R								
0.17	V	V	V	V	V	V	V-P	V-P	V-P	V-P	V-P	V-P			Gr			
0.15								B										
0.13																		
0.11				Gr				R-V	R			P-R						
0.08																		
0.00	Br	Br	V	Br	V	V	Br	Br	V	Br	V	V	Br-D	Br-D	Br-D	V	V	V
																	Br-D	Br-D



### 3. โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดิน

(1) ลักษณะ โครมาโทแกรมในระบบตัวทำละลาย I (ภาพที่ 17, ตารางที่ 10)

จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร สารสกัดพืชแต่ละชนิดจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.97, 0.44 และ 0.03 เหมือนกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือใน Ms จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.25 และ 0.21 ใน Mg (vm) และ Mm พบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.15 และแถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.07

เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอลจะปรากฏแถบสีชมพูของสารมาตรฐาน กรดเฟอร์รูลิกที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.55 และจะเห็นแถบสีที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดคล้ายคลึงกัน คือจะพบแถบสีน้ำตาลแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.97 แถบสีม่วงน้ำเงินที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.89 แถบสีน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.37 และ 0.15 แต่แถบสีน้ำตาลแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.86 จะพบเฉพาะใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mg (pwm) และแถบสีชมพูม่วงที่ค่า 0.25 จะพบเฉพาะใน Mg (vm) และ Mm

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะเห็นแถบสะท้อนแสงสีชมพูแดงของพืชแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ของแถบสารในแต่ละสีใกล้เคียงกัน แต่จะพบแถบสะท้อนแสงสีแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.25 เฉพาะใน Mg (pwm), Mg (vm) และ Mm แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.21 เฉพาะใน Ms และแถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.07 ใน Mg (vm) และ Mm

เมื่อตรวจสอบด้วย Dragendorff's reagent จะพบแถบสีส้มของสารมาตรฐาน ไปเปอร์รีนที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.92 และจะพบแถบสีส้มที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.03 ใน Mg (ws), Mg (wl), Mg (pwm), Mg (vm) และ Mm

(2) ลักษณะ โครมาโทแกรมในระบบทำละลาย II (ภาพที่ 18, ตารางที่ 11)

จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV-254 นาโนเมตร จะพบแถบสะท้อนแสงสีม่วงอมน้ำเงินที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.2 ใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mg (pwm) แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.12 ใน Mg (vm) และ Mm เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV-366 นาโนเมตร ที่ค่า  $R_f$  ดังกล่าวจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีน้ำเงินและสีฟ้าขาวตามลำดับ ส่วนแถบสะท้อนแสงสีเหลืองเขียวที่ค่า  $R_f$  0.46 พบใน Mg (ws) และ Mg (wl) แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.61 พบใน Mg (vm) แถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.95, 0.76, 0.37 และ 0.29 พบใน Ms

เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล จะปรากฏแถบสีเหลืองของสารมาตรฐานรูทีนแถบสีชมพูอมม่วงของสารมาตรฐานกรดเฟอร์รูลิก ส่วนสารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสีม่วงแดง สีม่วงและสีน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ต่าง ๆ ใกล้เคียงกัน แต่จะไม่พบแถบสีน้ำตาลดำหนาทึบที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.05 ใน Ms และ Mb2 และจะเห็นแถบสีม่วงน้ำเงินที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.76 พบใน Ms ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.46 พบใน Mg (wl) และที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.39 พบใน Mg (wl), Mg (pwm) และ Mg (vm) แถบสีชมพูน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.54 พบใน Mg (pwm)

เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเขียวของสารมาตรฐานรูทีน แถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวของสารมาตรฐาน

กรดเพอร์รูติกและแถบสะท้อนแสงสีส้มแดง สัมชมพู สีนํ้าตาลส้มของพืชแต่ละชนิดที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.95 ใน Ms ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.61 ใน Mg (vm) ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.55 ใน Mg (vm) และ Mm และที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.29 ใน Ms แถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.95 ใน Mm แถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.73

เมื่อตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ในเอทานอลและสังเกตรายได้แสง UV-366 นาโนเมตร จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเขียวเหลืองของสารมาตรฐานรูทีน ซึ่งในพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสะท้อนแสงสีเหลืองเขียวและสีฟ้าแตกต่างกัน คือจะพบแถบหนาสะท้อนแสงสีฟ้าขาวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.12 เฉพาะใน Mg (vm) และ Mm แถบสะท้อนแสงสีฟ้าขาวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.95 ใน Ms

เมื่อตรวจสอบด้วยสารละลาย DPPH จะพบแถบสีเหลืองของสารมาตรฐานรูทีนและแถบสีเหลืองในสารสกัดทุกชนิด

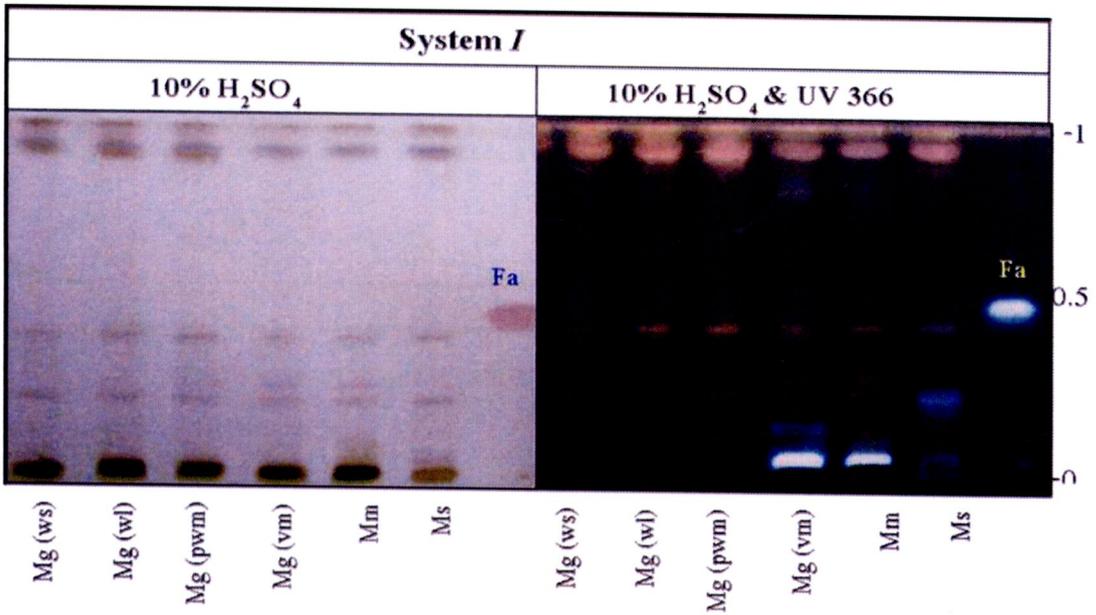
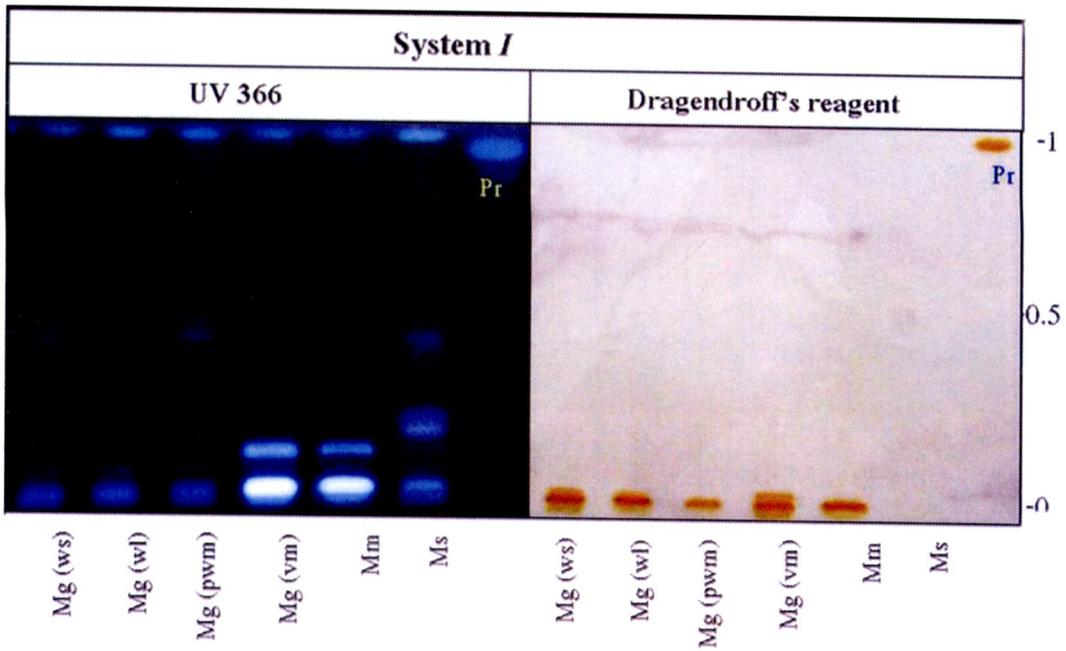
(3) ลักษณะโครมาโทแกรมในระบบตัวทำละลายชุด III (ภาพที่ 19, ตารางที่ 12)

จากผลการทดลองพบว่าภายใต้แสง UV-254 นาโนเมตร จะพบแถบดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดเพอร์รูติกและแอนโดกราฟโฟไลด์ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.18 และ 0.08 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดพืชแต่ละชนิดจะพบแถบดูดกลืนแสงที่ค่า  $R_f$  ณ จุดเริ่มต้น เมื่อสังเกตรายได้แสง UV-366 นาโนเมตร จะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ดังกล่าว และที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.75

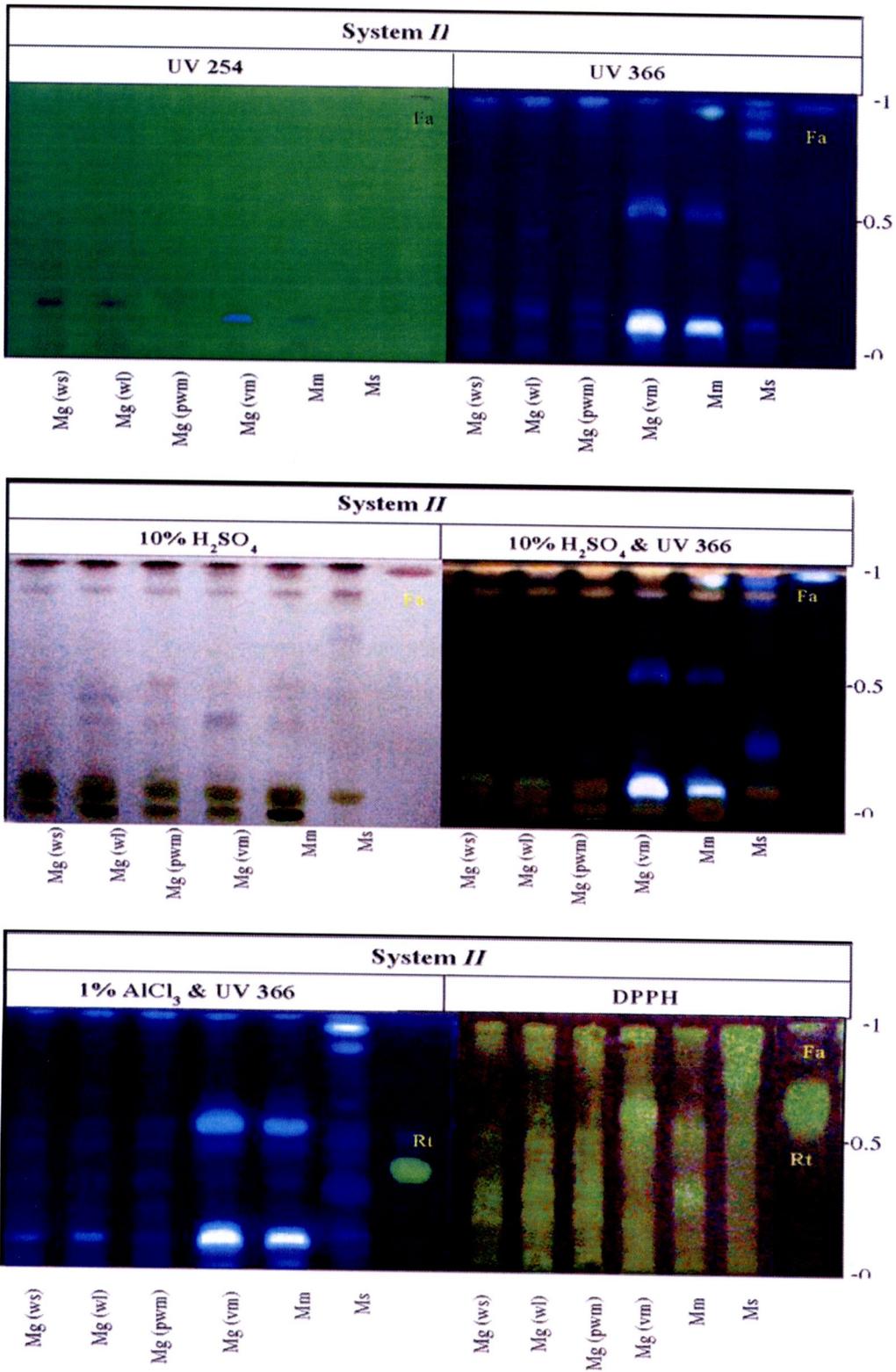
เมื่อตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulfuric acid จะพบแถบสีม่วงอมชมพูของสารมาตรฐานกรดเพอร์รูติกและแถบสีม่วงแดงของแอนโดกราฟโฟไลด์ ส่วนสารสกัดพืชแต่ละชนิดจะปรากฏแถบสีม่วงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.72 และ 0.34 เหมือนกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสีม่วงแดงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.68 เฉพาะใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mg (pwm)

เมื่อตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล พืชแต่ละชนิดจะปรากฏแถบสีม่วง น้ำเงินที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.72 แถบสีนํ้าตาล 0.34 เหมือนกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสีนํ้าตาลที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.68 เฉพาะใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mg (pwm)

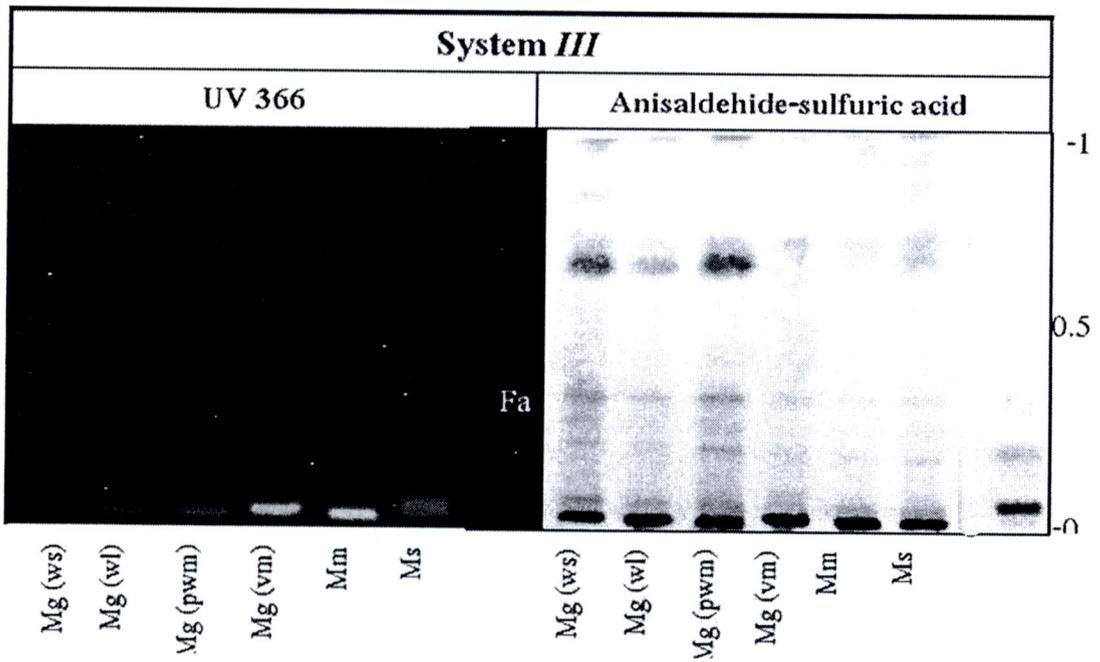
เมื่อสังเกตรายได้แสง UV - 366 นาโนเมตร ภายหลังสเปรย์ด้วย 10 % กรดกำมะถันในเอทานอลจะพบแถบสะท้อนแสงสีม่วงอมชมพูที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน ในพืชแต่ละชนิด แต่ที่แตกต่างกัน คือจะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.55 เฉพาะใน Ms แถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.47 เฉพาะใน Mg (vm)



ภาพที่ 17 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบทำละลาย I โดยใช้ Ferulic acid (Fa) และ Piperine (Pr) เป็นสารมาตรฐาน



ภาพที่ 18 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบท่าละลาย II โดยใช้ Ferulic acid (Fa) และ Rutin (Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ



ภาพที่ 19 โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ในระบบทำละลาย III โดยใช้ Ferulic acid (Fa) และ Andrographolide (Al) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ

ตารางที่ 10 แสดงค่า  $R_f$  ของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของพืชแต่ละชนิด ในระบบท่าละลาย I

$R_f$	UV 366						10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>						10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> & UV 366							
	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms	Mg (ws)	Mg (wl)	Mg (pwm)	Mg (vm)	Mm	Ms		
0.97	B	B	B	B	B	B	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	
0.89							V-B	V-B	V-B	V-B	V-B	V-B	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	
0.86							Br-R	Br-R	Br-R											
0.44	B	B	B	B	B	B														
0.37							Br	Br	Br	Br	Br	Br	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	
0.36																				
0.27																				
0.25						B				P-V	P-V					R	R		R	
0.21					B	B							P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	P-R	B	
0.15							Br	Br	Br	Br	Br	Br				B			Br	
0.07																	B-L	B-L		B-L
0.03	B	B	B	B	B	B	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	Br-D	Br-O	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-R	Br-B

B: blue, Br: brown, D: dark, F: faint, G: gray, Gr: green, L: light, O: orange, P: pink, R: red, S: strong, W: weak, V: violet, Y: yellow.





## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินของ *M. gigantea* [Mg (wl), Mg (ws), Mg (pwm) และ Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms) ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่าปริมาณร้อยละของสารที่สกัดด้วยเมทานอลและสารสกัดด้วยน้ำของพืชแต่ละชนิดมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่สารสกัดด้วยน้ำจะให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าทั้งจากส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินและจากการศึกษาลักษณะ โครมาโทแกรมของสารสกัดดังกล่าวพบว่า

### 1. ผลการศึกษาเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดิน

พืชกลุ่มนี้มีสารองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ได้แก่ สารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) ดังแสดงในภาพที่ 16 และตารางที่ 9 เมื่อแยกด้วยระบบตัวทำละลาย *III* จะปรากฏแถบสารสีม่วง ม่วงแดง น้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ คล้ายกัน ในพืชแต่ละชนิด [สารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ เมื่อตรวจสอบด้วย 10%  $H_2SO_4$  จะปรากฏแถบสีแดง ม่วงแดง น้ำตาลแดง เหลือง น้ำเงิน (Coscia, 1987; Harborne, 1984; Macek, 1972) ตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulfuric acid จะปรากฏแถบสีน้ำตาล ม่วง ส้ม เทา (Martelanc et al., 2009)] สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ดังแสดงในภาพที่ 15 และตารางที่ 8 เมื่อแยกด้วยระบบตัวทำละลาย *II* โดยใช้กรดเพอร์คลอริกและรูทีนเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์สังเคราะห์ด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีเหลืองบางชนิดไม่ปรากฏสีและภายใต้แสง UV-366 จะปรากฏแถบแสงสะท้อนสีเหลือง เขียว น้ำเงิน (Griffiths, Smith, 1972; Macek, 1972; Cooper, Rao, 1992; DeRijke et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลการศึกษาพืชสกุลเดียวกันในก่อนหน้านี (ธารินี สืบปาละ และคณะ, 2551; Chaichumporn et al., 2008; Kaewsaart et al., 2008) แต่ผลการศึกษาครั้งนี้พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์เป็นรายงานครั้งแรกในพืชสกุลนี้ ดังแสดงในภาพที่ 14 เมื่อแยกด้วยระบบตัวทำละลาย *I* โดยใช้ไปเปอร์รีน (piperine) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย dragendorff's reagent สังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีส้ม (Wagner et al., 1984) ซึ่งพบในพืชทุกชนิด

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระบบตัวทำละลายในการแยกความแตกต่าง โครมาโทแกรม จะเห็นว่าระบบตัวทำละลายที่สามารถแสดงความแตกต่างของโครมาโทแกรมได้เป็นอย่างดี คือระบบตัวทำละลายที่ *II* เป็นระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะแยกสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (ภาพที่ 15, ตารางที่ 8) โดยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แยกได้ในพืชดังกล่าวมีความแตกต่างกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชสกุลเดียวกัน และต่างสกุลในวงศ์เดียวกันนี้ ได้แก่ *M. bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* (ธารินี สืบปาละ และคณะ, 2550) *M. japonica*, *M. spectabilis* และ *M. vaginata* (Chaichumporn et al., 2008) *Cyanotis arachnoidea*, *C. axillaris*, *C. thwaitesii* และ *C. vaga* (Kaewsaart et al., 2008) สนับสนุนรายงานการวิจัยอนุกรมเชิงเคมีของพืชวงศ์ Commelinaceae ทั้งหมดที่ผ่านมาที่ใช้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารสำคัญในการจัดจำแนกชนิด (Stirton, Harborne, 1980; Martinez, 1985; Martinez, Swain, 1985; Martinez MADP, Martinez AJ, 1993; ธารินี สืบปาละ และคณะ, 2551; Chaichumporn et al., 2008; Kaewsaart et al., 2008) ดังนั้นจึงสามารถใช้สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในการจัดจำแนกพืชกลุ่มนี้ได้โดยเฉพาะ *M. gigantea* ดอกสีม่วงที่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปคล้ายคลึงกับ *M. macrocarpa* ซึ่งการจำแนกเพื่อระบุชนิดพันธุ์มีปัจจัยจำกัด โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนโครงสร้างช่อดอก ดอก ผลและเมล็ด อันเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ (Reproductive part) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยจำกัดของฤดูกาลและเวลาบานของดอก (Thitimetharoch et al., 2004) แต่การศึกษาครั้งนี้แสดงความแตกต่างโครมาโทแกรมของ

สารสกัดดังกล่าวได้อย่างชัดเจน เมื่อตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์และสังเกตภายใต้แสง UV - 366 นาโนเมตร โดย *M. Macrocarpa* จะพบแถบสะท้อนแสงสีฟ้าชัดเจนที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.16 และ 0.11 ซึ่งต่างจาก *M. gigantea* และ *M. simplex* จึงอาจสรุปได้ว่าสามารถใช้วิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีในการแยกชนิดของพืชกลุ่มนี้ ซึ่งสนับสนุนข้อมูลการจัดจำแนกพืชในสกุล *Murdannea* ที่จำแนก *M. macrocarpa* ออกจาก *M. gigantea* (Hong, De Filipps, 2000; Thitimetharoch et al., 2004)

นอกจากนี้ยังพบว่าใน *M. gigantea* ซึ่งมีลักษณะผันแปรทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันยังแสดงโครมาโทแกรมที่แตกต่างกันด้วย กล่าวคือ กลุ่มดอกสีขาวต้นขนาดเล็ก [Mg (ws)] จะพบแถบหนาสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.57 ส่วนกลุ่มดอกสีขาวต้นขนาดใหญ่ [Mg (wl)] และกลุ่มดอกสีขาวโคนม่วง [Mg (pwm)] จะปรากฏแถบสะท้อนแสงคล้ายคลึงกัน แต่ต่างกันตรงที่ Mg (wl) พบแถบสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.93 และ 0.87 ส่วนกลุ่มดอกสีม่วง [Mg (vm)] จะพบแถบหนาสะท้อนแสงสีเขียวที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.39 และความแตกต่างของแถบสารที่ปรากฏเหล่านี้อาจนำมาใช้เป็น chemical marker ของพืชแต่ละชนิดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นโอกาสในการจำแนกพืชกลุ่มนี้ระดับสายพันธุ์ (variety)

เมื่อนำโครมาโทแกรมของพืชแต่ละชนิดที่แยกในระบบตัวทำละลายที่ II ไปตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> โดยสารที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> จะเปลี่ยนสีม่วงของสารละลาย DPPH ไปเป็นสีเหลือง จากผลการทดสอบจะสังเกตพบแถบสารสีเหลืองมากใน Mg (ws), Mg (wl) และ Mb1 (ภาพที่ 15) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของพืชกลุ่มนี้

สำหรับระบบชุดทำละลายที่ I และ III แสดงโครมาโทแกรมของพืชแต่ละชนิดคล้ายคลึงกัน และพบแถบสีม่วงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.88, 0.33 และ 0.23 (ภาพที่ 14: ระบบทำละลายที่ I ตรวจสอบด้วย H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) พบแถบสีน้ำเงินและสีม่วงที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.79 และ 0.08 (ภาพที่ 16: ระบบทำละลายที่ III ตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulfuric acid) เป็นสารประกอบหลัก (main compound) ของพืชกลุ่มนี้ ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นสารในกลุ่มเทอร์ปีนอยด์เช่นเดียวกับที่พบใน *Murdannia bracteata*, *M. loriformis* และ *M. nudiflora* (ชารินี สืบปาละ และคณะ, 2550; 2007) จึงอาจนำมาใช้เป็น chemical marker ของพืชสกุลนี้ได้

## 2. ผลการศึกษาเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดิน

ผลการศึกษาพบว่า พืชกลุ่มนี้มีสารองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ได้แก่ สารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ โดยจะปรากฏแถบสารที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ คล้ายกัน ในพืชแต่ละชนิด (ภาพที่ 17, 19 และ ตารางที่ 10, 12 : แยกด้วยระบบตัวทำละลาย I ตรวจสอบด้วย 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> จะปรากฏแถบสีม่วง น้ำตาล แยกด้วยระบบตัวทำละลาย III ตรวจสอบด้วย anisaldehyde-sulfuric acid จะปรากฏแถบสีม่วง สีน้ำตาล) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (ภาพที่ 18, ตารางที่ 11: แยกด้วยระบบตัวทำละลาย II ตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ สังเกตภายใต้แสง UV-366 จะปรากฏแถบแสงสะท้อนสีเหลือง เขียว น้ำเงิน โดยใช้กรดเฟอรูริกและรูทีนเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ) และสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ซึ่งพบเฉพาะใน *M. gigantea* และ *M. macrocarpa* แตกต่างจากส่วนเหนือดินที่พบในพืชทุกชนิด (ภาพที่ 17: แยกด้วยระบบทำละลาย I ตรวจสอบด้วย dragendorff's reagent สังเกตด้วยตาเปล่าจะปรากฏแถบสีส้มโดยใช้ไปเปอร์รีนเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ) ซึ่งมีรายงานการศึกษาว่าพืชชนิดเดียวกันแต่ส่วนที่นำมาใช้ศึกษาแตกต่างกันจะพบองค์ประกอบทางเคมีในส่วนต่างๆ แตกต่างกันได้ เช่น Said (1986) รายงานไม่พบ

สาร alkaloids steroid triterpenoid และ saponin จากส่วนใบของ *Forrestia gracilis* แต่พบสารกลุ่ม steroid triterpenoid ในสารสกัดที่ได้จากส่วนเปลือก (bark) แสดงให้เห็นว่าพืชมีการสะสมสารเคมีในส่วนต่างๆ แตกต่าง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระบบทำละลายในการแยกความแตกต่างโครมาโทแกรมจะเห็นว่าระบบทำละลายที่ II สามารถแสดงความแตกต่างของโครมาโทแกรมระหว่างพืชแต่ละชนิดและยังแสดงความแตกต่างในพืชที่มีลักษณะค้นแปรทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันได้เป็นอย่างดี ซึ่งสนับสนุนผลการศึกษาโครมาโทแกรมจากส่วนเหนือดิน กล่าวคือ เมื่อทำการตรวจสอบด้วยครดกัมอะธันสารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะพบแถบสีม่วงแดง สีม่วงและสีน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ ใกล้เคียงกัน แต่ที่แตกต่างกัน คือ ไม่พบแถบสีน้ำตาลดำหนาที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.05 ใน Ms และ Mb2 และจะเห็นแถบสีม่วงน้ำเงินที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.76 ใน Ms ที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.46 ใน Mg (wl) และที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.39 ใน Mg (wl), Mg (pwm) และ Mg (vm) แถบสีชมพูน้ำตาลที่ค่า  $R_f$  ประมาณ 0.54 ใน Mg (pwm) (ภาพที่ 18, ตารางที่ 11) ซึ่งกลุ่มสารที่ปรากฏน่าจะเป็นคนละชนิดกับที่พบในส่วนเหนือดิน คือ ไม่พบกลุ่มสารที่ทำปฏิกิริยากับครดกัมอะธันแล้วปรากฏแถบสีเหลืองหรือกลุ่มสารที่สะท้อนแสงสีเหลืองเขียวเมื่อตรวจสอบ 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ ที่ค่า  $R_f$  เดียวกันกับที่พบในส่วนเหนือดิน

เมื่อนำโครมาโตแกรมของพืชแต่ละชนิดที่แยกในระบบตัวทำละลายที่ II ไปตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH $\cdot$  โดยสารที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH $\cdot$  จะเปลี่ยนสีม่วงของสารละลาย DPPH $\cdot$  ไปเป็นสีเหลือง จากผลการทดสอบพบแถบสารสีเหลืองในพืชทุกชนิด (ภาพที่ 18) โดย *M. gigantea* กลุ่มดอกสีขาวและสีขาวโคนม่วงจะพบแถบสารสีเหลืองหนาที่ค่า  $R_f$  ต่างๆ คล้ายคลึงกัน ( $R_f = 0.31$  และ  $0.20$ ) ซึ่งแตกต่างกับ *M. gigantea* กลุ่มดอกสีม่วง ( $R_f = 0.63$ ) *M. macrocarpa* ( $R_f = 0.57$  และ  $0.31$ ) และ *M. simplex* ( $R_f = 0.91$  และ  $0.77$ ) และคาดว่าเป็นสารคนละชนิดกับที่พบในส่วนเหนือดิน

อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ยังเป็นการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น แต่ยังคงแสดงให้เห็นว่าพืชสกุลนี้มีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีความหลากหลายและแตกต่างกันในแต่ละชนิด ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเกี่ยวกับอนุกรมวิธานทางเคมีเชิงลึกต่อไปได้ เช่น การแยกสกัดและตรวจสอบเอกลักษณ์หาสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะสารที่แตกต่างกันสามารถนำมาใช้เป็น chemical marker ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของพืชแต่ละชนิดในขั้นต่อไป