

บทที่ 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การศึกษาของ Maxwell (2007) พบพืชที่บริเวณดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย มากกว่า 1,013 ชนิด และพืชส่วนใหญ่ไม่เคยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพมาก่อน ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและความเป็นพิษต่อโรหะเลของพืชจำนวน 18 ชนิด จากดอยตุง (Tanamatayarat, 2011) ได้แก่ *Strobilanthes erectus*, *Acer chiangdaoense*, *Mitrephora wangii*, *Hydrocotyle javanica*, *Begonia* sp., *Garcinia propingua*, *Diospyros winitii*, *Diospyros martabanica*, *Trigonostemon thyrsoideus*, *Lespedeza parviflora*, *Lespedeza sulcata*, *Colebrookia oppositifolia*, *Broussonetia papyrifera*, *Eriobotrya salwinesis*, *Heritier macrophylla*, *Pterospermum grande*, *Pterospermum semisagittatum* และ *Premna racemosa* พบว่าสารสกัดเมทานอลของใบลำตวนดอย (*Mitrephora wangii* Hu) แสดงความเป็นพิษต่อโรหะเลค่อนข้างสูง ($LC_{50} = 14.8 \mu\text{g/ml}$) คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมทางด้านพิษวิทยาของพืชนี้

ลำตวนดอย (*Mitrephora wangii* Hu) เป็นพืชในวงศ์ Annonaceae ที่ประกอบด้วยไม้ยืนต้น ไม้เถา ไม้เลื้อย และไม้พุ่ม ตัวอย่างเช่น น้อยหน่า กระจ่าง ในประเทศไทยประกอบด้วยพืช 41 สกุล จำนวน 195 ชนิด กระจายอยู่ตามพื้นที่ต่าง ๆ โดยพบในภาคใต้มากที่สุดประมาณร้อยละ 28 สำหรับสกุล *Mitrephora* พบพืชทั่วโลก 40 ชนิดและในประเทศไทย 6 ชนิด (ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2544) คือ *M. alba* (พรหมขาว), *M. keithii* (กลาย), *M. maingayi* (นางแดง), *M. tomentosa* (มะป่วน), *M. wangii* (ลำตวนดอย), และ *M. winitii* (มหาพรหม) ลำตวนดอยเป็นไม้ยืนต้น สูง 20-25 เมตร ลำต้นตรง เปลือกสีเทาอมน้ำตาลมีลายสีขาวตามยาว ใบรูปรี โคนใบมน ปลายใบเรียวยาว มีติ่ง ใบบางเป็นมัน ขอบใบเรียบ ดอกเมื่อเริ่มบานมีสีขาว และค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มขึ้น มีกลิ่นหอม กลีบดอกโค้งงอขึ้น ผลเป็นผลกลุ่ม ผลแก่สีเขียวอมเหลือง เมล็ดกลมแบน ออกดอกเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม พบได้ที่ภาคเหนือของไทยที่ระดับความสูงเหนือน้ำทะเล 1,000-1,350 เมตร ขึ้นบนภูเขาหินปูน (สุธรรม อารีกุล, 2552)

เนื่องจากยังไม่พบงานวิจัยเกี่ยวกับลำตวนดอย แต่พบงานวิจัยของพืชอื่นในสกุล *Mitrephora* เช่นเดียวกัน ดังนี้ เปลือกของต้น *M. celebica* Scheff พบ diterpenes 4 ชนิด คือ *ent-trachyloban-19-oic acid*, *ent-kaur-16-en-19-oic acid*, *8(14),15-pimaradien-18-oic acid*, and *7,15-pimaradien-18-oic acid* และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสาร *ent-trachyloban-19-oic acid* ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mycobacterium smegmatis* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยค่า minimum inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ $6.25 \mu\text{g/ml}$ (Zgoda-Pols et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่ม polyacetylene carboxylic acids คือ 13(E),17-octadecadiene-9,11-

diynoic acid (13,14-dihydrooropheic acid) และ 17-octadecene-9,11,13-triynoic acid (oropheic acid) ซึ่งสารทั้ง 2 ตัวเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ชนิดดื้อต่อยา methicillin (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Mycobacterium smegmatis* แสดงค่า MIC คือ 25 และ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ขณะที่ยา vancomycin ซึ่งเป็นสารควบคุมให้ค่า 0.8 $\mu\text{g/ml}$ และสารทั้งสองชนิดแสดงค่า MIC เท่ากับ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ ต่อเชื้อ *M. smegmatis* เมื่อมี isoniazid เป็นสารควบคุมที่ให้ MIC อยู่ในช่วง 0.8-1.6 $\mu\text{g/ml}$ (Zgoda et al., 2001)

สารสกัดส่วนเอทิลอะซิเตตของเปลือกต้น *M. cylindrocarpa* Burck หรือ *Meiogyne* cf. *M. cylindrocarpa* (Burck) Heusden หรือ *Polyaulax cylindrocarpa* (Burck) Backer พบสารกลุ่ม dimeric sesquiterpenoids คือ meiogynin A และ 1-*epi*-meiogynin A โดย Meioygnin A แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB cell line ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.0 μM โดยมี taxotere เป็นสารควบคุม (Litaudon et al., 2009)

สารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทนและเมทานอลของ *M. diversifolia* (Span.) Miq. พบอัลคาลอยด์กลุ่ม azafluorenone 2 ชนิด คือ 5-hydroxy-6-methoxyonychine และ 5,8-dihydroxy-6-methoxyonychine สาร 5-hydroxy-6-methoxyonychine แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ชนิด 3D7 และ Dd2 ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 9.9 และ 11.4 μM ตามลำดับ และแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง human embryonic kidney cell line (HEK193) ด้วยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ความเข้มข้น 120 μM ได้ 96% (Mueller et al., 2009)

สารสกัดจากชั้นเฮกเซนและคลอโรฟอร์มของใบและเปลือกต้นของ *M. maingayi* Hook. f. & Thomson หรือ *M. teysmannii* Scheff หรือนางแดง พบ 5-oxonoraporphine alkaloids ได้แก่ 1,2,3-trimethoxy-5-oxonoraporphine และ 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxonoraporphine ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง P-388 ด้วยค่า IC_{50} มากกว่า 30 mg/ml (Lee et al., 1999) นอกจากนี้ยังพบอัลคาลอยด์จากกิ่งอ่อน ได้แก่ dicentrinine, dicentrinone, maingayinine (Yu et al., 2005) และสารอื่น ๆ ที่พบจากกิ่ง คือ (-)-16-kauren-19-oic-acid, (+)-epieudesmin, eudesmin, magnon A, didymooblongin, (+)-pimaric acid, liriodenine และ oxostephanine (Deepralard et al., 2007)

สารสกัดเมทานอลของเปลือกต้น *M. tomentosa* Hook. f. & Thomson หรือ *Pseuduvaria rugosa* (Blume) Merr หรือดงตำขาว พบ diterpenes คือ (-)-8 β -hydroxypimar-15-en-18-oic acid และ (-)-kaur-16-en-19-oic acid (Supudompol et al., 2004)

ในพืช *M. glabra* พบสารในกลุ่ม *ent*-trachylobane diterpenes คือ mitrephorone A, B, C โดย mitrephorone A แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB, MCF-7, H460 และ SF-268 ด้วย

ค่า IC₅₀ 8.0, 15.7, 23.3 และ 30.9 µg/ml ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย mitrephorone C แสดงฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) กว้างกว่าสารอื่นๆ แต่ยังมีน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (Li et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบ 4-*epi*-kaurenic acid, mitrekaurenone, octadeca-9,11,13-trienoic acid, oropheolide, liriodenine ซึ่งสารทั้งหมดแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB, MCF-7, NCI-H460 ตั้งแต่ 5 ถึง 40 µM และแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ที่ระดับความเข้มข้น 6.3-250 µg/ml (Li et al., 2009)

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาทางพฤกษเคมีของลำตวนดอย โดยการสกัดไปด้วยเมทานอลและเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารสกัดเมทานอลเพื่อแยกหาส่วนสกัดหรือสารบริสุทธิ์ที่น่าสนใจหรือแสดงความเป็นพิษต่อโรทะเล โดยการใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ และวิธีการทางโครมาโทกราฟี รวมทั้งการอธิบายโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่ได้ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี คือ อัลตราไวโอเลต อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แมสสเปกโทรสโกปี และนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี ซึ่งผลการวิจัยนี้จะทำให้ทราบเกี่ยวกับประเภทกลุ่มสาร ชนิดของสารบริสุทธิ์ในใบของลำตวนดอยและอาจค้นพบสารสำคัญที่แสดงความเป็นพิษต่อโรทะเล ซึ่งใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่มีประสิทธิภาพจากพืชต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเมทานอลของใบลำตวนดอย โดยวิธีทางโครมาโทกราฟี
2. เพื่ออธิบายโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี
3. เพื่อค้นพบส่วนสกัด/สารบริสุทธิ์ที่น่าสนใจหรือแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมา โดยนำสารสกัดเมทานอลจากใบของลำตวนดอยที่แสดงความเป็นพิษต่อโรทะเลมาศึกษาเชิงลึกเพื่อสกัดแยกหาสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี และอธิบายโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

ประเภท/สาขาวิชาที่ทำการศึกษา การวิจัยประยุกต์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบประเภทกลุ่มสารในใบของลำตวนดอย
2. ค้นพบสารบริสุทธิ์หรือสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ
3. ทราบความเหมือนหรือความแตกต่างของสารบริสุทธิ์ที่พบในลำตวนดอยกับพืชอื่น ๆ ในสกุลเดียวกันที่มีรายงานมาก่อน

1. Die Aufgabe ist zu lösen, indem man die gegebenen Informationen in die Formel einsetzt. Die Formel lautet:
$$A = \frac{1}{2} \cdot (a + b) \cdot h$$
 wobei a die obere Basis, b die untere Basis und h die Höhe ist. In diesem Fall sind $a = 10$, $b = 20$ und $h = 5$ gegeben. Einsetzen ergibt:
$$A = \frac{1}{2} \cdot (10 + 20) \cdot 5 = \frac{1}{2} \cdot 30 \cdot 5 = 15 \cdot 5 = 75$$
 Die Fläche beträgt also 75.

2. Die Aufgabe ist zu lösen, indem man die gegebenen Informationen in die Formel einsetzt. Die Formel lautet:
$$V = \frac{1}{3} \cdot A \cdot h$$
 wobei A die Grundfläche und h die Höhe ist. In diesem Fall sind $A = 100$ und $h = 12$ gegeben. Einsetzen ergibt:
$$V = \frac{1}{3} \cdot 100 \cdot 12 = \frac{1}{3} \cdot 1200 = 400$$
 Das Volumen beträgt also 400.

3. Die Aufgabe ist zu lösen, indem man die gegebenen Informationen in die Formel einsetzt. Die Formel lautet:
$$S = \frac{1}{2} \cdot (a + b) \cdot h$$
 wobei a die obere Basis, b die untere Basis und h die Höhe ist. In diesem Fall sind $a = 15$, $b = 25$ und $h = 8$ gegeben. Einsetzen ergibt:
$$S = \frac{1}{2} \cdot (15 + 25) \cdot 8 = \frac{1}{2} \cdot 40 \cdot 8 = 20 \cdot 8 = 160$$
 Die Fläche beträgt also 160.

4. Die Aufgabe ist zu lösen, indem man die gegebenen Informationen in die Formel einsetzt. Die Formel lautet:
$$V = \frac{1}{3} \cdot A \cdot h$$
 wobei A die Grundfläche und h die Höhe ist. In diesem Fall sind $A = 150$ und $h = 18$ gegeben. Einsetzen ergibt:
$$V = \frac{1}{3} \cdot 150 \cdot 18 = \frac{1}{3} \cdot 2700 = 900$$
 Das Volumen beträgt also 900.