

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสกัดแยกและศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร flavonoids ใน  
สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี วงศ์ Leguminosae

Purification and structure elucidation of flavonoids from  
Ubonratchathani medicinal plants in the family Leguminosae

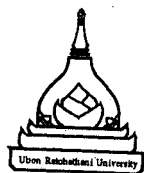
โดย

นางสาวระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์

คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

มีนาคม 2551



รายงานการวิจัยรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์  
การสกัดแยกและศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร flavonoids ใน  
สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี วงศ์ Leguminosae  
Purification and structure elucidation of flavonoids from  
Ubonratchathani medicinal plants in the family Leguminosae

โดย

นางสาวระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์

คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานประมาณแผ่นดิน  
ประจำปีงบประมาณ 2547-2548

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รายงานการวิจัยเรื่อง	การสกัดแยกและศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร flavonoids ใน สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี วงศ์ Leguminosae
หัวหน้าโครงการวิจัย	นางสาวระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์
ผู้ร่วมโครงการวิจัย	-
ปีงบประมาณ	2547-2548
งบประมาณที่ได้รับ	500,000 บาท
คำสำคัญ	Fabaceae, flavonoids, flavonols, <i>Bauhinia malabarica</i>

#### บทคัดย่อ

เตรียมสารสกัดจำนวน 34 ชนิดจากส่วนต่างๆของพืชสมุนไพรวงศ์ Fabaceae (Leguminosae) ของจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 10 ชนิด ด้วย 90% และ 10% methanol จากนั้นตรวจวัดปริมาณ flavonoids พบว่าสารสกัด 90% methanol จากใบส้มเสี้ยวให้ปริมาณ flavonoids สูงที่สุด  $25 \pm 0.01$  % นำสารสกัดนี้มาทำการแยกสารจนได้สารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟี สารที่แยกได้เป็นฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้ UV, MS and NMR spectroscopy ได้แก่ kaempferol, 6,8-dimethyl kaempferol, 3-methyl ether, 6-hydroxy kaempferol, afzelin, quercetin, isoquercitrin, quercitrin และ hyperoside

Research report name    Purification and structure elucidation of flavonoids from  
   Ubonratchathani medicinal plants in the family Leguminosae  
Head of project            Miss rawiwun Kaewamatawong  
Co-researcher            -  
In Finance Year          2547-2548 for 500,000.- Baht  
Keyword                  Fabaceae, flavonoids, flavonols, *Bauhinia malabarica*

### **Abstract**

Thirty-four extracts from various parts of ten fabaceae (leguminosae) medicinal plants of Ubonratchani province were prepared. Each extracts were investigated for flavonoids contents. Among these extracts, 90% methanol extract of *B. malabarica* leaves contained the highest yield of flavonoid  $25\pm0.01\%$ . From this result, this extract was further isolated by chromatographic techniques. Eight flavonoids were purified and their structures were identified by using UV, MS and NMR spectroscopy techniques. There were kaempferol, 6,8-dimethyl kaempferol, 3-methyl ether, 6-hydroxy kaempferol, afzelin, quercetin, isoquercitrin, quercitrin และ hyperoside

## กิตติกรรมประกาศ

ในโครงการวิจัยเรื่องการสกัดแยกและศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร flavonoids ในสมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานีวงศ์ Leguminosae นี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาบดีคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ สำหรับทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกฝ่ายที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยเฉพาะนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกด้านในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆของห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ให้ทุนในการดำเนินงานในโครงการวิจัยจนเสร็จสิ้น

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ในการศึกษา	2
1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มเสี้ยว	4
1.3 องค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล <i>Bauhinia</i>	5
บทที่ 2 วิธีและผลการศึกษา	
2.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง	23
2.2 เทคนิคทั่วไป	23
2.3 วิธีเตรียมสารสกัดจากพืช	25
2.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์	25
2.5 การแยกสารบริสุทธิ์และการศึกษาสูตรโครงสร้าง ของสารบริสุทธิ์จากใบส้มเสี้ยว	26
2.6 ผลการเตรียมสารสกัดพืชที่นำมาศึกษา 10 ชนิด	27
2.7 ผลการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัด พืชที่นำมาศึกษา 10 ชนิด	28
2.8 ผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีด้วยสเปกโตรเมทรี ของสารบริสุทธิ์	30
บทที่ 3 อภิปรายและสรุปผลการศึกษา	
3.1 การศึกษาปริมาณ flavonoids ของสารสกัด	32
3.2 การศึกษาสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบส้มเสี้ยว	32

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารบริสุทธิ์ที่แยกได้	
3.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-1 .....	33
3.3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-2 .....	35
3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-3 .....	36
3.3.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-4 .....	37
3.3.5 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-5 .....	39
3.3.6 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-6 .....	41
3.3.7 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-7 .....	43
3.3.8 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-8 .....	45
3.4 สรุปผลการศึกษา .....	48
บรรณานุกรม .....	64
ภาคผนวก	

# สารบัญตาราง

Table		หน้า
1	รายชื่อพืชในวงศ์ Fabaceae ที่นำมาศึกษา .....	3
2	องค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล <i>Bauhinia</i> .....	5
3	น้ำหนักของส่วนสกัด 90% methanol ของใบส้มเสี้ยว หลังจากการแยกด้วย column chromatography ครั้งที่ 1 .....	26
4	น้ำหนักสารสกัดแห้งจากพืชวงศ์ Fabaceae และ % yield .....	28
5	ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดแห้งชั้น 90% และ 10% methanol จากพืชวงศ์ Fabaceae .....	29
6	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-1 in acetone- $d_6$ .....	34
7	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-2 in acetone- $d_6$ .....	35
8	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-3 in acetone- $d_6$ .....	36
9	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-4 in acetone- $d_6$ .....	38
10	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-5 in acetone- $d_6$ .....	40
11	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data in DMSO- $d_6$ and the $^1\text{H}$ NMR datum of compound B-6 in methanol- $d_4$ .....	42
12	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-7 in acetone- $d_6$ .....	44
13	The $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR data of compound B-8 in DMSO- $d_6$ .....	46



# สารบัญรูปภาพ

Figure		หน้า
1	ส้มเสี้ยว ( <i>B. malabarica</i> Roxb.)	4
2	NOE difference effect of compound B-1	33
3	HMBC correlation of compound B-5	39
4	HMBC correlation of compound B-6	41
5	HMBC correlation of compound B-7	43
6	HMBC correlation of compound B-8	45
7	EI mass spectrum of compound B-1	49
8	$^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz) of compound B-1 (acetone- $d_6$ )	49
9	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-1 (acetone- $d_6$ )	50
10	NOE difference spectrum of compound B-1 (acetone- $d_6$ )	50
11	EI mass spectrum of compound B-2	51
12	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-2 (acetone- $d_6$ )	51
13	EI mass spectrum of compound B-3	52
14	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-3 (acetone- $d_6$ )	52
15	EI mass spectrum of compound B-4	53
16	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )	53
17	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )	54
18	$^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )	54
19	FAB mass spectrum of compound B-5	55
20	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz) of compound B-5 (acetone- $d_6$ )	55
21	$^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz) of compound B-5 (acetone- $d_6$ )	56
22	HMBC spectrum of compound B-5 (acetone- $d_6$ )	56
23	EI mass spectrum of compound B-6	57
24	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-6 (DMSO- $d_6$ )	57
25	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-6 (methanol- $d_4$ )	58
26	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz) of compound B-6 (methanol- $d_4$ )	58
27	$^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz) of compound B-6 (DMSO- $d_6$ )	59
28	HMBC spectrum of compound B-6 (methanol- $d_4$ )	59

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

Figure		หน้า
29	FAB mass spectrum of compound B-7	..... 60
30	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz) of compound B-7 (acetone- $d_6$ )	..... 60
31	$^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz) of compound B-7 (acetone- $d_6$ )	..... 61
32	HMBC spectrum of compound B-7 (acetone- $d_6$ )	..... 61
33	EI mass spectrum of compound B-8	..... 62
34	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz) of compound B-8 (DMSO- $d_6$ )	..... 62
35	$^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz) of compound B-8 (DMSO- $d_6$ )	..... 63
36	HMBC spectrum of compound B-8 (DMSO- $d_6$ )	..... 63

## คำอธิบายสัญลักษณ์

<i>br</i>	=	Board (for NMR spectra)
<sup>13</sup> C NMR	=	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
$\delta$	=	Chemical shift
<i>d</i>	=	Doublet (for NMR spectra)
<i>dd</i>	=	Doublet of doublet (for NMR spectra)
EIMS	=	Electron Impact Mass Spectrometry
FABMS	=	Fast atom Bombardment Mass Spectrometry
<i>g</i>	=	Gram
<sup>1</sup> H NMR	=	Proton Nuclear Magnetic Resonance
HMBC	=	<sup>1</sup> H-detected Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	=	<sup>1</sup> H-detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	=	Heteronuclear single quantum correlation
<i>J</i>	=	Coupling constant
<i>m</i>	=	Multiplet (for NMR spectra)
mg	=	Miligram
ml	=	Mililiter
$\mu$ g	=	Microgram
$\mu$ l	=	Microliter
M <sup>+</sup>	=	Molecular ion
[M+H] <sup>+</sup>	=	Protonated molecular ion
MPLC	=	Medium Pressure Liquid Chromatography
<i>m/z</i>	=	Mass to charge ratio
NOE	=	Nuclear Over Hauser effect
nm	=	Nanometer
l	=	Liter
ppm	=	Part per million
TLC	=	Thin layer chromatography
UV-VIS	=	Ultraviolet Visible spectrophotometry

## บทที่ 1

### บทนำ (Introduction)

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มสารธรรมชาติที่พบในพืช สามารถจำแนกเป็นกลุ่มย่อยได้อีกหลายกลุ่ม เช่น ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) หรือเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลได้เป็นกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (flavonoid glycosides) (Torssell, 1997) บทบาทหน้าที่ของ flavonoids ที่สำคัญในพืช ได้แก่ ช่วยในกระบวนการสังเคราะห์แสง ดึงดูดแมลงเพื่อช่วยในการผสมเกสร (Harbone, 1994) นอกจากนี้ ยังพบว่าสารจำพวก flavonoids มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการ เช่น มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidation) (Papus, 1998) ยับยั้งการแบ่งเซลล์ (antiproliferation) และต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) (Chang and Kinghorn, 2001)

จากรายงานการศึกษาทางพฤกษเคมีของพืชในวงศ์ Fabaceae พบว่าพืชในวงศ์นี้เป็นแหล่งสำคัญของสารจำพวก flavonoids เช่น *Longhocarpus subglaucescens* (Magalhaes et al, 1996), *Dioclea grandiflora* (Jenkins et al, 1999), *Albizia julibrissin* (Kang et al, 2000), *Derris scandens*, *Trifolium pretense* (Dewick, 2002) เป็นต้น

Fabaceae หรือ Leguminosae เป็นวงศ์ของพืชที่มีจำนวนสมาชิกมาก มีลักษณะเฉพาะตัวหลากหลาย โดยทั่วไปเป็นพืชที่ประกอบด้วยใบเดี่ยวหรือใบประกอบ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์หรือสมบูรณ์เพศ มีสมมาตรดอกแบบสม่ำเสมอ (regular) หรือสมมาตรไม่สม่ำเสมอ (irregular) รังไข่มักเป็นแบบอยู่เหนือวงกลีบ (superior) ผลเป็นฝัก (legume) หรือแผ่นแบน เมล็ดมักไม่มี endosperm ปัจจุบันจำแนกออกเป็น 3 วงศ์ย่อยได้แก่ Papilionoideae, Mimosoideae และ Caesalpinioideae ลักษณะทั่วไปของพืชวงศ์ย่อย Papilionoideae ประกอบด้วยสมาชิกเป็นไม้ยืนต้น ไม้พุ่ม หรือไม้ล้มลุก ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกชั้นเดียว (unipinnate) หรือใบประกอบลดรูปเหลือ 3 ใบ (trifoliate) หรือ 1 ใบ (unifoliate) หรืออาจเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ (palmate) ดอกเดี่ยวหรือดอกช่อ ดอกสมบูรณ์ ลักษณะดอกเฉพาะตัวเป็นแบบ papilionaceous รังไข่เป็นแบบ superior ผลแบบ legume หรือ loment ส่วนลักษณะทั่วไปของพืชวงศ์ย่อย Mimosoideae ประกอบด้วยสมาชิกเป็นไม้ยืนต้น หรือไม้พุ่ม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้น (bipinnate) มีหูใบ ดอกช่อแบบ spike, raceme หรือ head ดอกย่อยขนาดเล็กสมบูรณ์เพศ ลักษณะดอกมีสมมาตรแบบ regular รังไข่เป็นแบบ superior ผลแบบ legume หรือ loment ในส่วนของพืชวงศ์ย่อย Caesalpinioideae ประกอบด้วยสมาชิกเป็นไม้ยืนต้น หรือไม้พุ่ม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกชั้นเดียว (unipinnate) แบบขนนก 2 ชั้น (bipinnate) หรือใบประกอบลดรูป 1 ใบ (unifoliate) มีหูใบ ดอกช่อแบบ raceme,

spike หรือ cymose ดอกย่อยมีสมมาตรแบบ irregular รั้งไขเป็นแบบ superior ผลแบบ legume หรือ loment (สมภพ ประธานธุราธิ์, 2539)

จากคำราชานพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานีพบว่ามีการนำพืชสมุนไพรในวงศ์นี้เพื่อรักษาโรคหรืออาการต่างๆ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้เลือกพืชสมุนไพรวงศ์ fabaceae ที่มีรายงานการใช้ในท้องถิ่นจำนวน 10 ชนิดในตารางที่ 1 มาตรวจสอบปริมาณสาร flavonoids จากนั้นเลือกพืชที่ให้ปริมาณสารนี้สูงที่สุดมาทำการแยกบริสุทธิ์แล้วตรวจสอบเอกลักษณ์สารบริสุทธิ์ที่ได้

## 1.1 วัตถุประสงค์ในการศึกษา

1.1.1 ตรวจสอบปริมาณสาร flavonoids ของพืช 10 ชนิดในวงศ์ Fabaceae ที่มีรายงานการใช้เป็นยาพื้นบ้าน

1.1.2 สกัดแยกสาร flavonoids จากพืชที่ให้ปริมาณสาร flavonoids สูงที่สุด

1.1.3 พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร flavonoids ที่แยกได้จากพืช

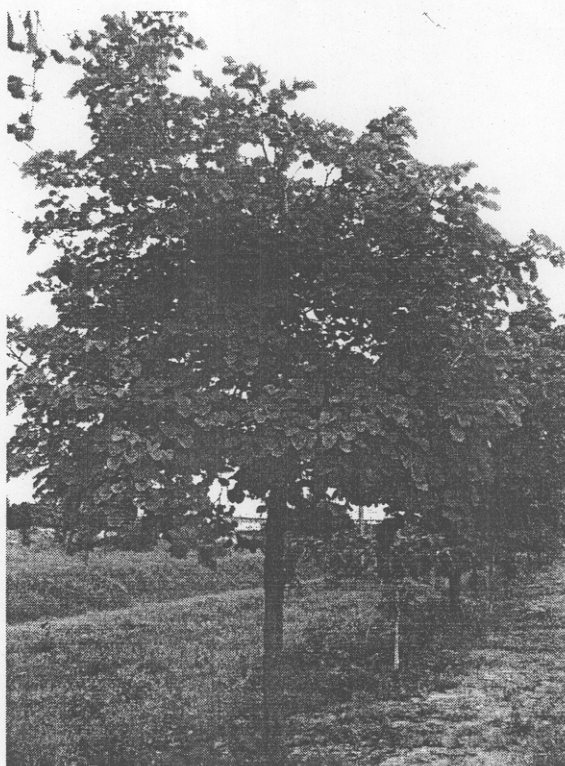
จากการนำพืชทั้ง 10 ชนิดมาตรวจสอบปริมาณสาร flavonoids โดยวิธีของ Miliauskas et al, 2004 พบว่าใบส้มเสี้ยวให้ปริมาณสาร flavonoids สูงที่สุด  $25 \pm 0.01$  % รายละเอียดของปริมาณสาร flavonoids ของพืชทั้งหมดแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 1 รายชื่อพืชในวงศ์ Fabaceae ที่นำมาหาปริมาณ flavonoids

วงศ์ย่อย	ชื่อ	สรรพคุณ	เอกสารอ้างอิง
Papilionoideae	คูกิ่ง แกลบหนู <i>Dendrolobium lanceolatum</i> Schindl.	เข้ายาแก้ดีซ่าน	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541
	หญ้ามดลิ้น <i>Desmodium heterocarpon</i> (L.)DC. Subp. <i>heterocarpon</i>	แก้ฮิสซูอีไฮ	วงศ์สติด นั้วกุลและนวิ ใจแก้ว, 2541
	กาสามปึก เกล็ดปลาช่อน <i>Phyllodium pulchellum</i> (Benth.) Desv.	รักษาดับพิษการ	วงศ์สติด นั้วกุลและนพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2540
	แค <i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Desv.	แก้แผลในปาก	วงศ์สติด นั้วกุล, 2542
	นมราชสีห์ พิชนาศน์ <i>Sophora exigua</i> Craib.	แก้ฝี	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541
	จานเครือ <i>Spatholobus parviflorus</i> Roxb. Ex O. Ktzc.	แก้ประดง แก้ผื่นคัน	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541
	ตองหมอง ไชหิน <i>Tadehagi godefroyanum</i> (O.Ktze.)Ohashi	บำรุงเลือดหลัง การอยู่ไฟ	วงศ์สติด นั้วกุลและนพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2540
Mimosoideae	หนามหัน <i>Acacia comosa</i> Gagnep.	แก้มะเร็ง รักษากามโรค	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541
	บ้าบน หมากแทน <i>Entada glandulosa</i> Pierre ex Gagnep.	แก้ปวดข้อ แก้ฝี แผลพุพอง	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541
Caesalpinioideae	ส้มเลี้ยว <i>Bauhinia malabarica</i> Roxb.	เข้ายาแก้ อัมพฤกษ์ อัมพาต	วงศ์สติด นั้วกุลและพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2541

## 1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มเลี้ยว (พืชที่แสดงปริมาณ flavonoids สูงที่สุดในการศึกษานี้)

ส้มเลี้ยว หรือ *B. malabarica* Roxb. เป็นพืชยืนต้นสูงได้ถึง 15 m ลักษณะใบเป็นรูปไข่ (ovate) ปลายใบแยกออกจากกัน (bifid) แต่ละปลายใบกว้าง ฐานใบเว้าเป็นรูปหัวใจ (cordate) ขอบเรียบ หูใบเป็นเส้น ร่วงง่าย ดอกเป็นช่อแบบกระจุก (raceme) ก้านช่อดอกย่อยสั้น ดอกแยกเพศอยู่ต่างต้น (dioecious) กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 3-5 แฉก กลีบดอกรูปขอบขนานสีขาว สีขาว ดอกเพศผู้มีเกสรตัวผู้จำนวน 10 อัน ผลเป็นฝักรูปดาบแบน ยาว 20-25 cm ปลายแหลมมีงอยยาว มีลาย ในฝักประกอบด้วยเมล็ดรูปขอบขนานจำนวน 10-30 เมล็ด (Larsen et al, 1985)

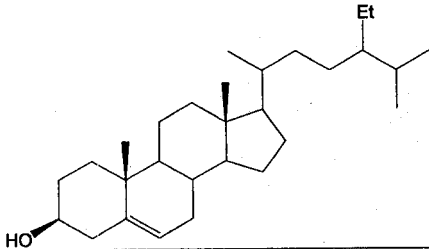
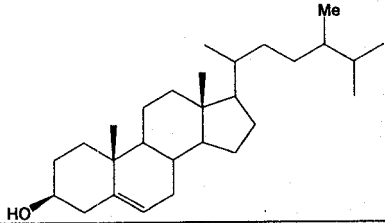
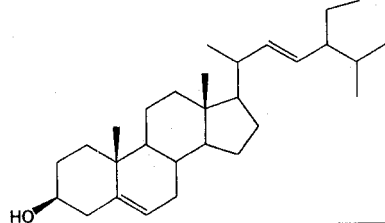
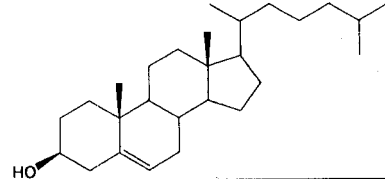


**Figure 1** ส้มเลี้ยว (*B. malabarica* Roxb.)

1.3 องค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล *Bauhinia*

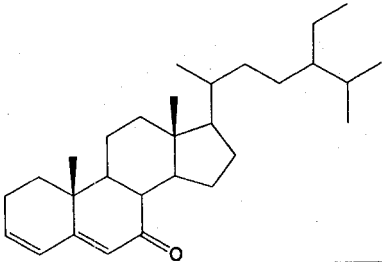
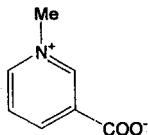
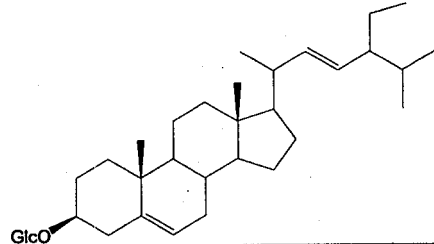
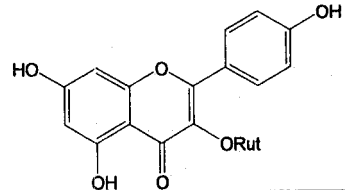
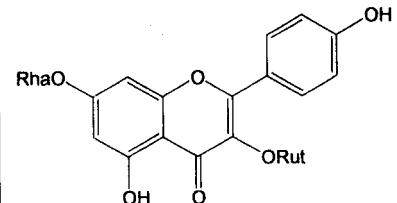
จากการทบทวนงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีหรือพฤกษเคมีของพืชสกุล *Bauhinia* พบว่ามีสารกลุ่มหลักที่พบในพืชสกุลนี้ได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนั้นยังพบสารอื่นๆ ได้แก่สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) ไบเบนซิล (bibenzyls) และอื่นๆ โครงสร้างเคมีและรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของพืชในสกุล *Bauhinia*

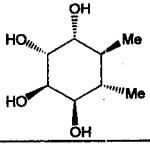
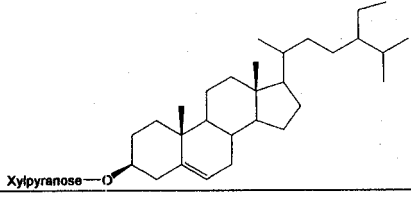
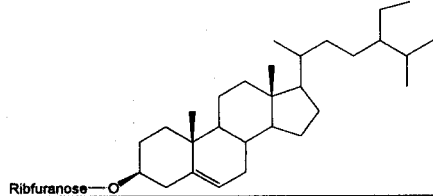
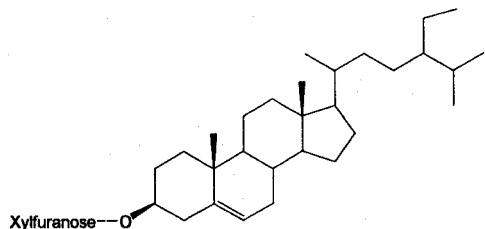
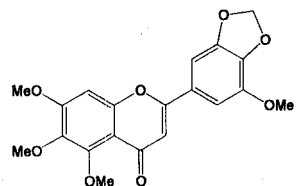
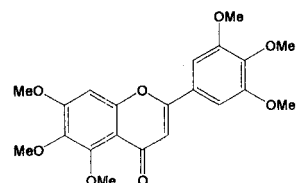
Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<i>B. candicans</i> <i>β</i> -sitosterol (1) 	leaves	Iribarren and Pomilio, 1983
campesterol (2) 		
stigmasterol (3) 		
cholesterol (4) 		



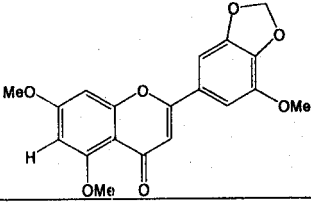
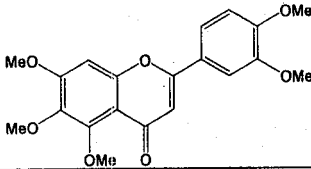
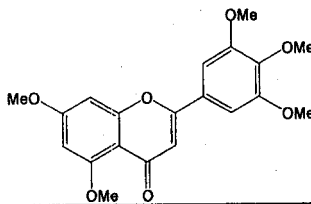
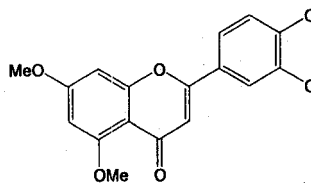
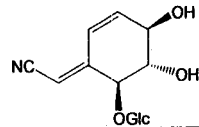
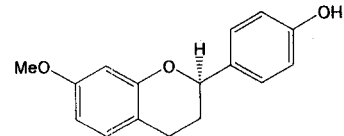
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
stigmast-3,5-dien-7-one (5) 		
choline (6) $\text{Me}_2\text{N}^+\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$		
trigonellin (7) 		
$\beta$ -sitosterol 3-O- $\beta$ -glucoside (8) 		
kaempferol 3-O- $\beta$ -rutinoside (9) 	flowers	
kaempferol 3-O- $\beta$ -rutinoside 7-O- $\alpha$ -rhamnopyranoside (10) 		

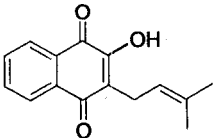
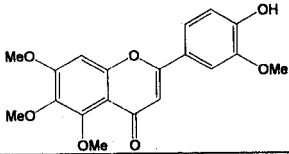
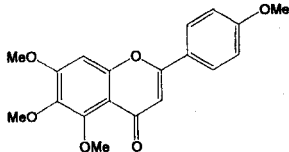
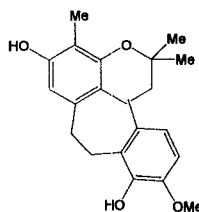
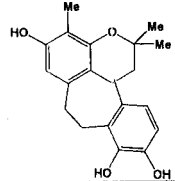
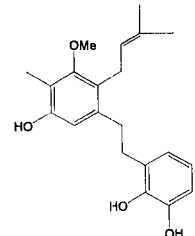
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>D-pinitol (11)</p> 		
<p>sitosterol 3-O-<math>\beta</math>-D-xylopyranose (12)</p> 	aerial parts	Iribarren and Pomilio, 1984
<p>sitosterol 3-O-<math>\beta</math>-D-ribofuranofuranoside (13)</p> 	aerial parts	Iribarren and Pomilio, 1985
<p>sitosterol 3-O-<math>\beta</math>-D-xyluronofuranoside (14)</p> 	aerial parts	Iribarren and Pomilio, 1987
<p><i>B. championii</i></p> <p>5,6,7,5'-tetramethoxy-3',4'-methylenedioxyflavone (15)</p> 	roots	Chen et al, 1984
<p>5,6,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone (16)</p> 		

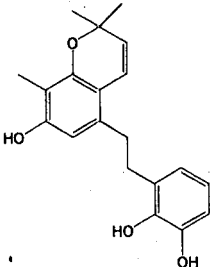
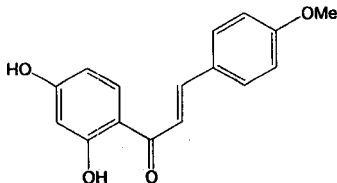
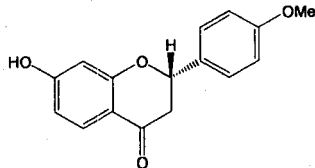
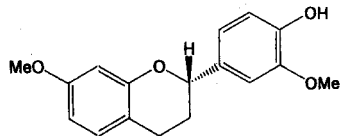
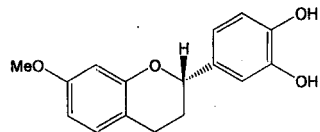
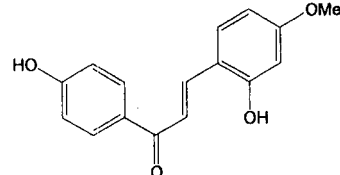
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>5,7,5'-trimethoxy-3',4'-methylenedioxyflavone (17)</p> 		
<p>5,6,7,3', 4'-pentramethoxyflavone (18)</p> 		
<p>5,7,3',4',5'-pentramethoxyflavone (19)</p> 		
<p>5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (20)</p> 		
<p><i>B. fassoglensis</i> lithospermoside (21)</p> 	roots	Fort et al, 2001
<p><i>B. guianensis</i> 4'-hydroxy 7-methoxyflavan (22)</p> 	stems	Viana et al, 1999

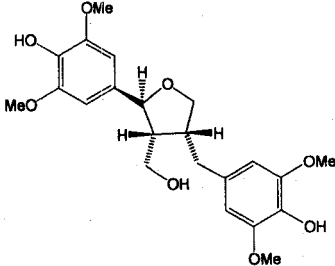
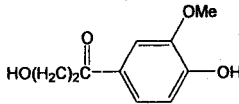
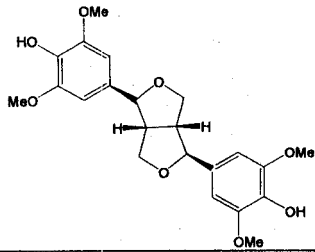
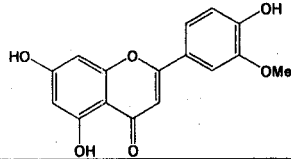
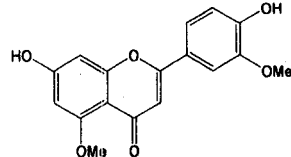
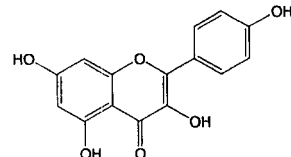
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>lapachol (23)</p> 		
<p>5,6,7,3'-tetramethoxy-4'-hydroxyflavone (24)</p> 	stems	Almanza et al, 2001
<p>5,6,7,4'-tetramethoxyflavone (25)</p> 		
<p><i>B. malabarica</i> racemosol (26)</p> 	roots	Kittakoop et al, 2000
<p>de-O-racemosol (27)</p> 		
<p>preracemosol A (28)</p> 		

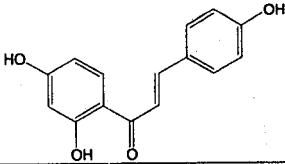
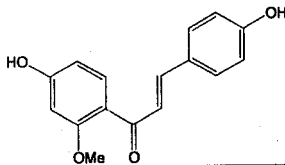
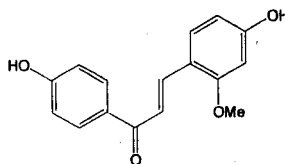
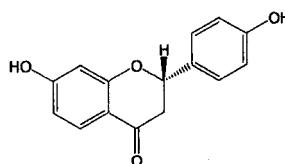
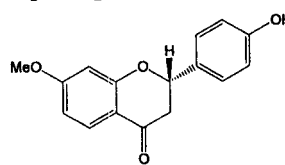
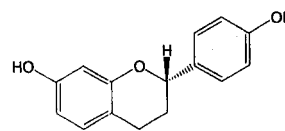
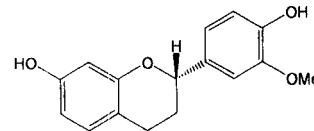
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>preracemosol B (29)</p> 		
<p><i>B. manca</i></p> <p>isoliquiritigenin 4-methyl ether (30)</p> 	Stems	Achenbach et al, 1988
<p>liquiritigenin 4'-methyl ether (31)</p> 		
<p>7,3'-dimethoxy-4'-hydroxyflavan (32)</p> 		
<p>3',4'-dihydroxy-7-methoxyflavan (33)</p> 		
<p>2,4'-dihydroxy-4-methoxydihydrochalcone (34)</p> 		

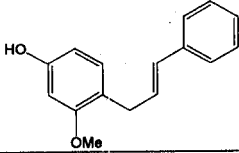
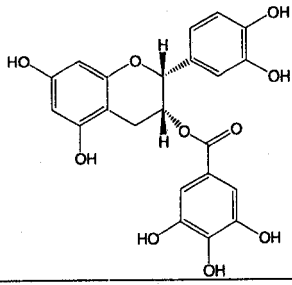
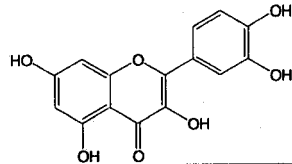
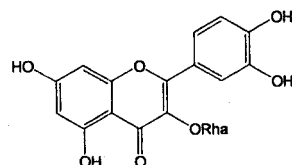
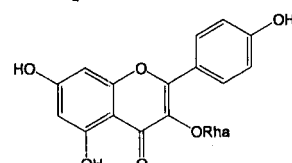
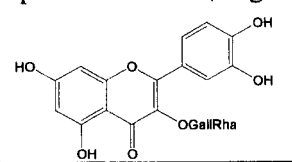
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>5,5'-dimethoxylariciresinol (35)</p> 		
<p>hydroxypropioguacone (36)</p> 		
<p>syringaresinol (37)</p> 		
<p>chrysoresinol (38)</p> 		
<p>luteolin 5,3'-dimethoxy ether (39)</p> 		
<p>kaempferol (40)</p> 		

ตารางที่ 2 (ต่อ)

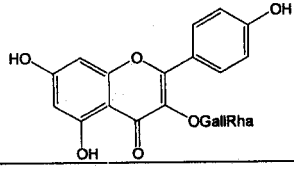
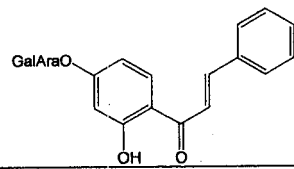
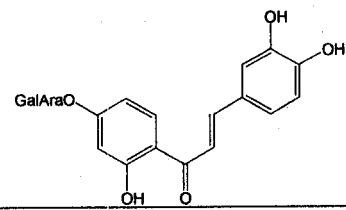
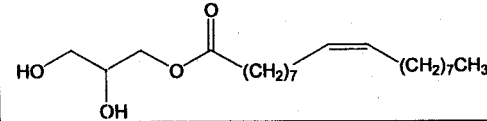
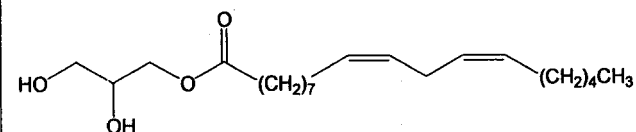
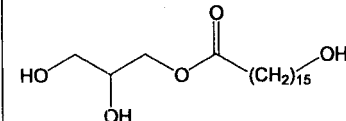
Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>isoliquiritigenin (41)</p> 		
<p>isoliquiritigenin 2'-methyl ether (42)</p> 		
<p>echinatin (43)</p> 		
<p>liquiritigenin (44)</p> 		
<p>liquiritigenin 7-methyl ether (45)</p> 		
<p>7,4'-dihydroxyflavan (46)</p> 		
<p>4'-hydroxy 7-methoxyflavan (22)</p>		
<p>7,4'-dihydroxy-3'-methoxyflavan (47)</p> 		

ตารางที่ 2 (ต่อ)

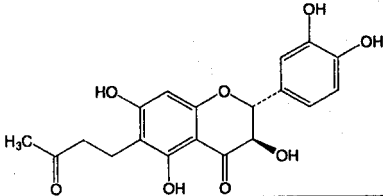
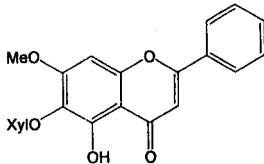
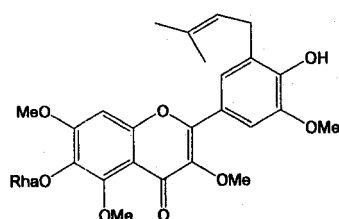
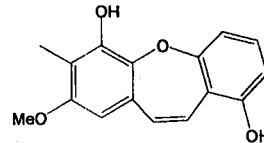
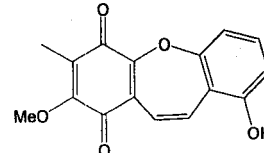
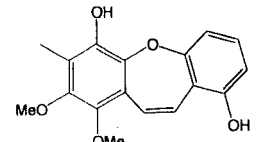
Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>obtustyrene (48)</p> 		
<p>3-<i>O</i>-galloylepicatechin (49)</p> 		
<p><i>B. megalandra</i></p> <p>kaempferol (40)</p>	leaves	Estrada et al, 2005
<p>quercetin (50)</p> 		
<p>quercetin 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-rhamnoside (51)</p> 		
<p>kaempferol 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-rhamnoside (52)</p> 		
<p>quercetin 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-(2''-galloyl)rhamnoside (53)</p> 		



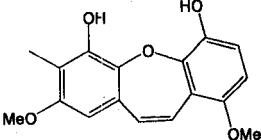
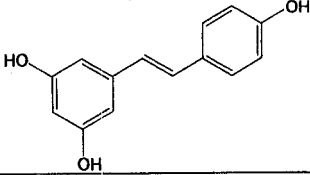
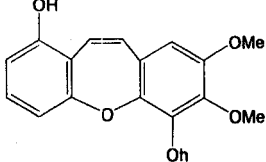
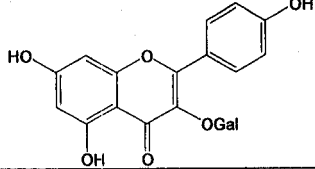
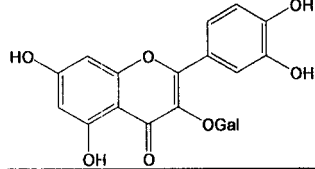
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>kaempferol 3-O-<math>\alpha</math>-(2''-galloyl)rhamnoside (54)</p> 		
<p><i>B. purpurea</i></p> <p>butein 4-O-<math>\beta</math>-L-arabinopyranocyl-O-<math>\beta</math>-D-galactoside (55)</p> 	seeds	Bhartiya and Gupta, 1979
<p>3,4-dihydroxychalcone 4-O-<math>\beta</math>-L-arabinopyranocyl-O-<math>\beta</math>-D-galactopyranoside (56)</p> 	seeds	Bhartiya and Gupta, 1981
<p>2,3-dihydroxypropyl oleate (57)</p> 	seeds	Kuo et al, 1998
<p>2,3-dihydroxypropyl linoleate (58)</p> 		
<p>2,3-dihydroxypropyl 16-hydroxyhexadecanoate (59)</p> 		

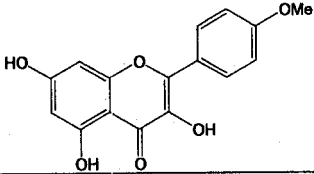
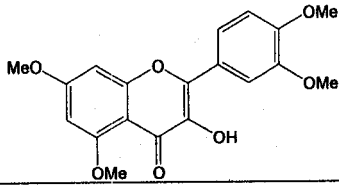
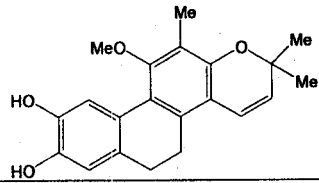
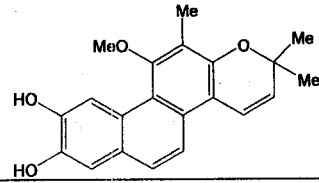
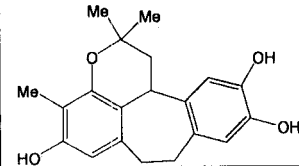
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>6-butyl-3-hydroxyflavanone, 6-(3''-oxobutyl) taxifolin (60)</p> 		
<p>5,6-dihydroxy-7-methoxyflavone 6-O-<math>\beta</math>-D-xylopyranoside (61)</p> 	stems	Yadava and Tripathi, 2000
<p>6,4'-dihydroxy-3'-prenyl-3,5,7,5'-tetramethoxy flavone 6-O-<math>\alpha</math>-D-rhamnopyranoside (62)</p> 	stems	Yadava and Sodhi, 2001
<p>bauhiniastatin 1 (63)</p> 	roots	Pettit et al, 2006
<p>bauhiniastatin 2 (64)</p> 		
<p>bauhiniastatin 3 (65)</p> 		

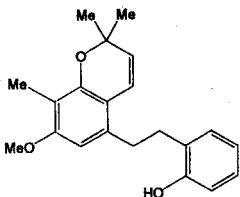
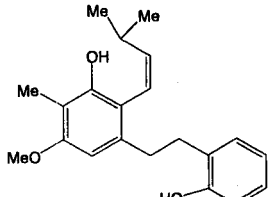
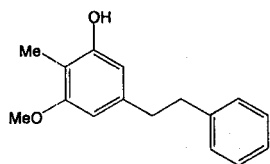
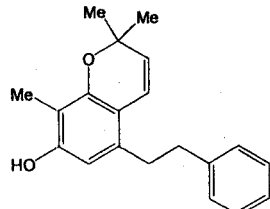
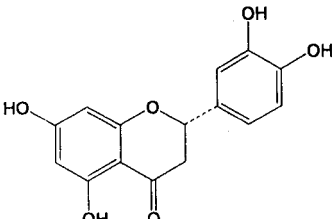
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>bauhiniastatin 4 (66)</p> 		
<p><i>B. racemosa</i></p> <p><i>trans</i>-resveratrol (67)</p> 	heartwoods	Anjaneyulu et al, 1986
<p>pacharin (68)</p> 		
de- <i>O</i> -racemosol (27)		
kaempferol (40)		
quercetin (50)		
kaempferol-3- <i>O</i> -rhamnoside (52)		
<p>kaempferol-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-galactoside (69)</p> 	Seed coats	Jain and Srivastava, 2001
<p>quercetin-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-galactoside (70)</p> 		

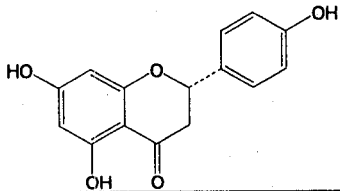
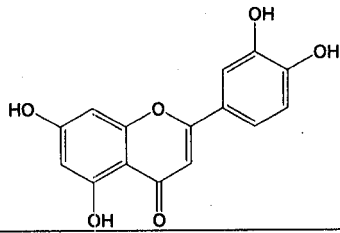
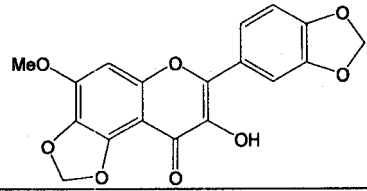
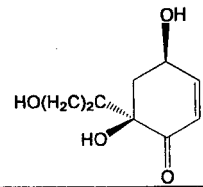
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>kaempferol 4'-methyl ether (71)</p> 		
<p>quercetin 5,7,3',4'-tetramethyl ether (72)</p> 		
<p><i>B. rufescens</i> 5,6-dihydro-11-methoxy-2,2,12-trimethyl-2<i>H</i>-naphthol [1,2-<i>f</i>][1]-benzopyran-8,9-diol (73)</p> 	root bark	Maillard et al, 1991
<p>11-methoxy-2,2,12-trimethyl-2<i>H</i>-naphthol [1,2-<i>f</i>][1]-benzopyran-8,9-diol (74)</p> 		
<p>racemosol (26)</p>		
<p>1,7,8,12b-tetrahydro-2,2,4-trimethyl-2<i>H</i>-benzo[6,7]cycloheptal[1,2,3-de] [1] benzopyran-5,10,11 triol (75)</p> 		

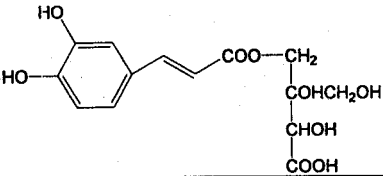
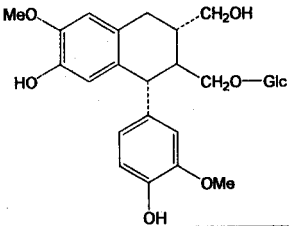
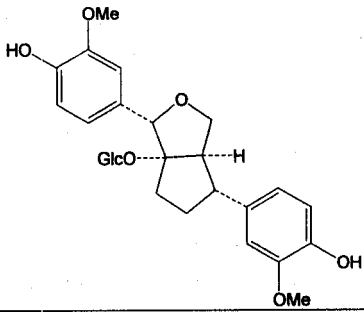
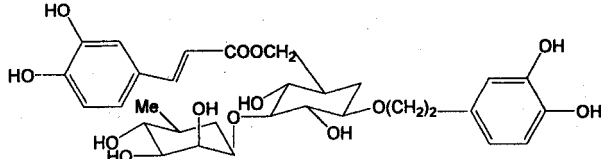
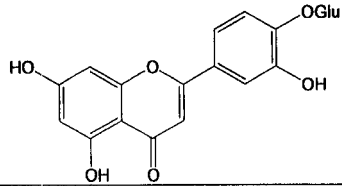
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p><i>B. saccocalyx</i></p> <p>bauhinol A (76)</p> 		Apisantiyakom et al, 2004
<p>bauhinol B (77)</p> 		
<p>bauhinol C (78)</p> 		
<p>bauhinol D (79)</p> 		
<p><i>B. sirindhorniae</i></p> <p>(2<i>S</i>)-eriodictyol (80)</p> 	leaves	อริคมกุลชัยและคณะ, 2548

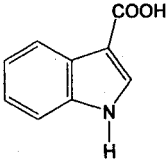
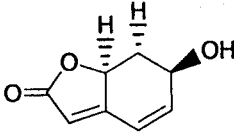
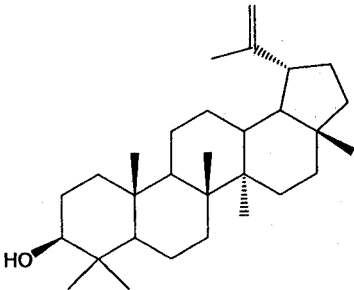
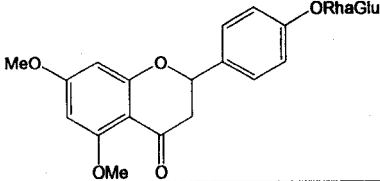
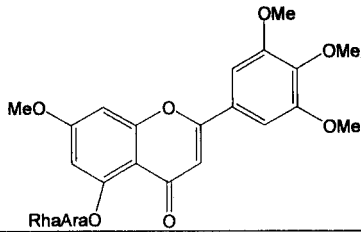
ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>(2<i>S</i>)-naringenin (81)</p> 		
<p>luteolin (82)</p> 		
<p>isoliquiritigenin 4-methyl ether (30)</p>		
<p>isoliquiritigenin (41)</p>		
<p><i>B. splandens</i> bausplendin (83)</p> 	woods	Laux et al, 1985
<p><i>B. tarapotensis</i> <i>cis</i>-2,4-dihydroxy-2-(2-hydroxyethyl) cyclohex-5-en-1-one (84)</p> 	leaves	Braca et al,2001

ตารางที่ 2 (ต่อ)

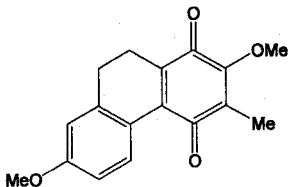
Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>apionic acid (85)</p> 		
<p>(-)-isolariciresinol 3-<math>\alpha</math>-O-<math>\beta</math>-D-glucopyranoside (86)</p> 		
<p>(+)-1-hydroxypinoresinol 1-O-<math>\beta</math>-D-glucopyranoside (87)</p> 		
<p>isoacteoside (88)</p> 		
<p>luteolin 4'-O-<math>\beta</math>-D-glucopyranoside (89)</p> 		

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<p>indole-3-carboxylic acid (90)</p> 		
<p><i>B. thonningii</i> griffonilide (91)</p> 	Barks	Okwute et al, 1986
<p><i>B. variegata</i> <math>\beta</math>-sitosterol (1)</p>	stem	Gupta et al, 1980
<p>lupeol (92)</p> 		
<p>naringenin 5,7-dimethyl ether 4'-rhamnoglucoside (93)</p> 		
<p>5-hydroxy-7,3',4',5'-tetramethoxyflavone 5-O-<math>\beta</math>-D-xylanopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranoside (94)</p> 	seeds	Yadava and Reddy, 2001



ตารางที่ 2 (ต่อ)

Plant species and chemical compounds	Plant parts	References
<div>bauhinione (95)</div> <div></div>	stems	Zhao et al, 2005

## บทที่ 2

### วิธีและผลการศึกษา

#### วิธีการศึกษา

##### 2.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง

เก็บพืชตัวอย่างทั้ง 10 ชนิดใน จ. อุบลราชธานี นำมาตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์

##### 2.2 เทคนิคทั่วไป

###### 2.2.1 Analytical Thin-Layer Chromatography (TLC)

###### 2.2.1.1 Normal phase Thin-Layer Chromatography

<b>Technique</b>	: One dimension, ascending
<b>Adsorbent</b>	: Silica gel 60 F <sub>254</sub> (E. Merck) precoated plate (Aluminium sheet)
<b>Layer thickness</b>	: 0.2 mm
<b>Distance</b>	: 5 cm
<b>Temperature</b>	: room temperature (25-35 °C)
<b>Detection</b>	: 1. Ultraviolet light at 254 and 365 nm 2. 1 % diphenylboric acid-ethylamino ester and polyethylene glycol

###### 2.2.1.2 Normal phase Thin-Layer Chromatography

<b>Technique</b>	: One dimension, ascending
<b>Adsorbent</b>	: Silica gel 60 F <sub>254</sub> (E. Merck) precoated plate (Glass plate)
<b>Layer thickness</b>	: 0.25 mm
<b>Distance</b>	: 5 cm
<b>Temperature</b>	: room temperature (25-35 °C)
<b>Detection</b>	: 1. Ultraviolet light at 254 and 365 nm 2. 1 % diphenylboric acid ethylamino ester reagent

### 2.2.1.3 Reverse phase Thin-Layer Chromatography

<b>Technique</b>	: One dimension, ascending
<b>Adsorbent</b>	: RP <sub>18</sub> F <sub>254S</sub> (E. Merck) precoated plate (Glass plate)
<b>Layer thickness</b>	: 0.25 mm
<b>Distance</b>	: 5 cm
<b>Temperature</b>	: room temperature (25-35 °C)
<b>Detection</b>	: Ultraviolet light at 254 and 365 nm

### 2.2.2 Column Chromatography

#### 2.2.2.1 Column Chromatography

<b>Adsorbent:</b>	Silica gel 60 (70-230 mesh); particle size 0.063-0.200 mm (E. Merck) or Silica gel 60 (230-400 mesh); particle size 0.040-0.063 mm (E. Merck)
<b>Sample loading</b>	: ละลายตัวอย่างที่ต้องการแยกด้วยตัวทำละลาย จากนั้นนำไปใส่ column
<b>Detection</b>	: นำส่วนสกัดที่แยกได้ (Fractions) ตรวจสอบด้วย TLC สังเกตผลด้วยการส่องUV light จากนั้นพ่นด้วย sprayed with 1 % diphenylboric acid ethylamino ester reagent

#### 2.2.2.2 Gel Filtration Chromatography

<b>Gel filter</b>	: Sephadex LH 20 (Pharmacia)
<b>Packing method</b>	: Gel filter was suspended in the eluent and left standing to swell for 24 hours prior to use. It was then poured into the column and allowed to set tightly.
<b>Sample loading</b>	: ละลายตัวอย่างที่ต้องการแยกด้วยตัวทำละลาย จากนั้นนำไปใส่ column
<b>Detection</b>	: นำส่วนสกัดที่แยกได้ (Fractions) ตรวจสอบด้วย TLC สังเกตผลด้วยการส่องUV light จากนั้นพ่นด้วย sprayed with 1 % diphenylboric acid ethylamino ester reagent

## 2.2.3 Spectroscopy

### 2.2.3.1 Mass Spectra

Electron impact mass spectra (EIMS) วัดด้วยเครื่องมือ Polaris Q mass spectrometer (มหาวิทยาลัยมหิดล)

### 2.2.3.2 Proton and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ -NMR)

#### Spectra

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) spectra วัดด้วยเครื่องมือ Bruker 500 spectrometer (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) NOE spectrum วัดด้วยเครื่องมือ Bruker 300 spectrometer (มหาวิทยาลัยมหิดล)  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) spectra วัดด้วยเครื่องมือ JEOL ECP 400 spectrometer (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University)

## 2.3 วิธีเตรียมสารสกัดจากพืช

นำส่วนต่างๆที่เก็บได้ของพืชทั้ง 10 ชนิดตามตารางที่ 4 นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน  $50^\circ\text{C}$  จากนั้นย่อยให้มีขนาดที่เหมาะสม สกัดด้วย hexane เพื่อกำจัดส่วนที่เป็นไขมันออก จากนั้นหมักต่อด้วย 90% methanol เก็บสารสกัดไประเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator หมักพืชต่อด้วย 10% methanol เก็บสารสกัดไประเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator จะได้สารสกัดชั้น 90% และ 10% methanol

## 2.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg rutin equivalent/g extract)

นำสารสกัดชั้น 90% methanol และ 10% methanol ที่สกัดได้มาหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยวิธีของ Miliauskas et al, 2004 ดังนี้ นำสารสกัดที่ต้องการหาปริมาณฟลาโวนอยด์มา 1 ml เติม aluminium trichloride (ความเข้มข้น 20 g/l) ลงไป 1 ml เจือจางด้วย ethanol ให้ได้สารปริมาณ 25 ml ทิ้งไว้ 40 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV spectrophotometer ที่ 415 nm คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์เทียบกับสารละลายมาตรฐาน rutin ที่ความเข้มข้น 0.05 g แต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ (triplicate)

## 2.5 การแยกสารบริสุทธิ์และการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์จากส้มเขียว

สารสกัดจากใบส้มเขียวแสดงปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด จึงนำสารสกัดจากพืชนี้มาทำการแยกจนได้สารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟีต่างๆและการศึกษาสูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโตรเมทรี

### 2.5.1 การเริ่มต้นแยกสาร

นำสารสกัดจากใบส้มเขียวปริมาณ 50.2 g แยกให้เป็นส่วนสกัด (fractions) ด้วย vacuum liquid chromatography โดยใช้ silica gel 60 เป็น stationary phase ทำการชะสารแบบ polarity gradient manner ด้วย mobile phase ระบบ methanol : dichloromethane ความเข้มข้น 0%, 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 80% และ 100% เก็บส่วนสกัดที่ถูกชะออกมารั้งละ 500 ml เปรียบเทียบแต่ละส่วนสกัดด้วย TLC จากนั้นรวมส่วนสกัดที่มีรูปแบบ TLC (TLC patterns) ที่เหมือนกันไว้ด้วยกัน ดังนั้นจะได้ส่วนสกัดจากใบส้มเขียวทั้งหมด 13 ส่วนสกัด

ตารางที่ 3 น้ำหนักของส่วนสกัด 90% methanol ของใบส้มเขียวหลังจากการแยกด้วย column chromatography ครั้งที่ 1

ส่วนสกัด (Fraction)	น้ำหนัก (g)
BL-1	0.34
BL-2	0.36
BL-3	1.56
BL-4	0.77
BL-5	0.45
BL-6	1.64
BL-7	1.06
BL-8	1.55
BL-9	3.6
BL-10	2.71
BL-11	11.68
BL-12	21.06
BL-13	1.96

### 2.5.2 การแยกสารจากส่วนสกัด BL-2

ส่วนสกัด BL-2 (0.36 g) นำมาแยกด้วย ODS MPLC column โดยใช้ 25% water ใน methanol เป็น mobile phase จะได้ส่วนสกัดอีก 6 ส่วนสกัด ส่วนสกัด BL-2-3 จะตกตะกอนออกมาได้ของแข็งเป็นสาร B-1 ปริมาณ 5 mg ส่วนสกัด BL-2-5 นำไปแยกต่อด้วย ODS MPLC column โดยใช้ 25% water ใน methanol เป็น mobile phase จะได้สาร B-2 ปริมาณ 7 mg และสาร B-3 ปริมาณ 0.0012 mg

### 2.5.3 การแยกสารจากส่วนสกัด BL-5

ส่วนสกัด BL-5 (0.4 g) นำมาแยกด้วย silica gel 60 column โดยใช้ 2% methanol ใน chloroform เป็น mobile phase ได้ของแข็งสีเป็นสาร B-4 ปริมาณ 122 mg

### 2.5.4 การแยกสารจากส่วนสกัด BL-7

แยกส่วนสกัด BL-7 (1.0 g) ด้วย sephadex column โดยใช้ methanol เป็นตัวชะ ได้ส่วนสกัดย่อยอีก 11 ส่วนสกัด นำส่วนสกัด BL-7-7 ไปแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วย ODS MPLC column โดยมี 40% water ใน methanol เป็น mobile phase ได้สาร B-5 ปริมาณ 4 mg

### 2.5.5 การแยกสารจากส่วนสกัด BL-9

แยกส่วนสกัด BL-9 (3.0 g) ด้วย sephadex column โดยใช้ methanol เป็นตัวชะ ได้ส่วนสกัดย่อยอีก 10 ส่วนสกัด นำส่วนสกัด BL-9-4 ไปแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วย ODS MPLC column โดยใช้ 50% water ใน methanol เป็น mobile phase ได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด ได้แก่ สาร B-6 ปริมาณ 6 mg และสาร B-7 (7 mg)

### 2.5.6 การแยกสารจากส่วนสกัด BL-10

นำส่วนสกัด BL-10 (2.0 g) มาแยกด้วย C-18 reversephase column โดยใช้ 10, 20, 30, 40, 50 % water ใน methanol เป็น mobile phase จะได้ส่วนสกัดย่อย 8 ส่วนสกัด ทำการแยกสารจากส่วนสกัดบริสุทธิ์ BL-10-6 และส่วนสกัด BL-10-7 ด้วยการให้ ODS column มี 50% water ใน methanol เป็น mobile phase ให้สารประกอบ B-6, B-7 และ B-8 ปริมาณ 1, 2 และ 4 mg

## ผลการศึกษา

### 2.6 ผลการเตรียมสารสกัดพืชที่นำมาศึกษา 10 ชนิด

หลังจากนำพืชทั้ง 10 ชนิดมาสกัดด้วย 90% และ 10% methanol ตามลำดับและผ่านกระบวนการทำให้สารสกัดแห้งจะได้สารสกัดแห้งเป็น g และนำมาคิดเป็น % yield ดังแสดงในตารางที่ 4

## 2.7 ผลการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดพืชที่นำมาศึกษา 10 ชนิด

เมื่อนำสารสกัดพืชที่สกัดด้วย 90% และ 10% methanol จำนวน 34 สารสกัด มาหาปริมาณฟลาโวนอยด์ ซึ่งพืชแต่ละชนิดให้ปริมาณสารนี้แตกต่างกัน รายละเอียดแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 น้ำหนักสารสกัดแห้งจากพืชวงศ์ Fabaceae และ % yield

ชื่อ	ส่วนที่นำมาสกัด	น้ำหนักแห้ง (g)	น้ำหนักสารสกัดชั้น 90 % MeOH (g)	% yield	น้ำหนักสารสกัดชั้น 10 % MeOH (g)	% yield
ลูกอ็อง	ใบ	120.0	22.0	18.3	8.0	6.7
	ลำต้น	500.0	9.0	1.8	2.0	0.4
หญ้ามวลีน	เหนือดิน	110.0	34.0	30.9	6.0	5.5
กาสามปีก	ใบ	500.0	78.3	15.7	9.01	1.8
	ลำต้น	483.0	20.5	4.3	5.0	1.0
แก	ใบ	749.0	56.1	7.5	38.0	5.1
	ลำต้น	400.0	109.0	27.3	3.0	0.8
นมราชสีห์	เหนือดิน	217.6	68.1	31.3	6.0	2.8
จานเครือ	ใบ	430.0	82.3	19.1	28.0	6.5
	ลำต้น	400.0	65.4	16.4	17.0	4.3
ทองหมอง	ใบ	926.8	161.0	17.4	27.0	2.9
	ลำต้น	820.3	99.6	12.1	16.0	2.0
หนามหัน	ใบ	980.0	40.7	4.2	8.0	0.8
	ลำต้น	500.0	168.1	33.6	18.0	3.6
บ้ายน	เหนือดิน	340.0	27.0	7.9	2.0	0.6
ส้มเสี้ยว	ใบ	510.0	122.3	24.0	17.0	3.3
	ลำต้น	500.0	54.1	10.8	18.0	3.6

ตารางที่ 5 ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดแห้งชั้น 90% และ 10% methanol จากพืชวงศ์

Fabaceae

ชื่อ	ส่วนที่นำมาสกัด	ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดชั้น 90 % MeOH (mg rutin/g extract)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดชั้น 10 % MeOH (mg rutin/g extract)
คูอิง	ใบ	7.08±0.02	1.44±0.06
	ลำต้น	0.09±0.07	1.23±0.03
หญ้ามัคถัน	เหนือดิน	0.61±0.01	0.67±0.02
กาสามปีก	ใบ	4.54±0.04	2.58±0.01
	ลำต้น	0.73±0.47	0.92±0.03
แค	ใบ	1.12±0.09	4.57±0.04
	ลำต้น	0.36±0.00	0.97±0.01
นมราชสีห์	เหนือดิน	25.2±0.01	1.01±0.05
จานเครือ	ใบ	1.34±0.02	2.40±0.02
	ลำต้น	0.52±0.06	1.52±0.14
ทองหมอง	ใบ	3.27±0.02	4.93±0.02
	ลำต้น	3.92±0.01	2.67±0.04
หนามหัน	ใบ	1.49±0.04	3.80±0.02
	ลำต้น	0.96±0.01	2.67±0.04
บ้ายน	เหนือดิน	7.02±0.07	1.39±0.01
ส้มเสี้ยว	ใบ	25.93±0.01	6.94±0.13
	ลำต้น	2.04±0.02	0.32±0.02



## 2.8 ผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีด้วยสเปกโตรเมทรีของสารบริสุทธิ์

(Spectral data of Isolated compounds)

### 2.8.1 เอกลักษณะของสาร B-1

สาร B-1 เป็นสารประกอบสีเหลือง ละลายใน acetone

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 328( $[M]^+$ , 100), 327 (52), 309 (17), 285 (18)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 331, 275, 209, 208

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 400 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 6

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 100 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 6

### 2.8.2 เอกลักษณะของสาร B-2

สาร B-2 เป็นสารประกอบสีเหลือง ละลายใน acetone

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 286( $[M]^+$ , 100), 231 (34), 149 (23), 73 (22)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 367, 323, 266, 219

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 400 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 7

### 2.8.3 เอกลักษณะของสาร B-3

สาร B-3 เป็นสารประกอบสีเหลือง ละลายใน acetone

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 302 ( $[M]^+$ , 3.64), 300 (100), 243 (11), 226 (8)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 327, 345, 287, 213

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 400 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 8

### 2.8.4 เอกลักษณะของสาร B-4

สาร B-5 เป็นของแข็งสีเหลือง ละลายใน acetone

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 302 ( $[M]^+$ , 21), 265 (16), 208 (18), 207 (21), 167 (100),  
84 (93), 78 (43), 66(69)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 372, 371, 255, 207

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 500 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 9

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 125 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 9

### 2.8.5 เอกลักษณ์ของสาร B-5

สาร B-5 เป็นของแข็งสีเหลือง ละลายใน acetone

FABMS :  $m/z$  (% relative intensity), 433 ( $[M+H]^+$ , 22), 369 (4), 185 (100), 93 (75), 75 (15)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 342, 264, 211

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 500 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 10

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 125 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 10

### 2.8.6 เอกลักษณ์ของสาร B-6

สาร B-6 เป็นของแข็งสีเหลือง ละลายใน DMSO

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 464 ( $[M]^+$ , 7), 449 (15), 339 (36), 95 (83), 81 (100),

67 (91), 39 (10)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 358, 257, 208

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 400 MHz in DMSO- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 11

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 100 MHz in DMSO- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 11

### 2.8.7 เอกลักษณ์ของสาร B-7

สาร B-7 เป็นของแข็งสีเหลือง ละลายใน acetone

FABMS :  $m/z$  (% relative intensity), 449 ( $[M+H]^+$ , 15), 185 (100), 93 (95), 75 (20)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 350, 256, 210

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 500 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 12

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 125 MHz in acetone- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 12

### 2.8.8 เอกลักษณ์ของสาร B-8

สาร B-8 เป็นของแข็งสีเหลือง ละลายใน DMSO

EIMS :  $m/z$  (% relative intensity), 464 ( $M^+$ , 1), 358 (10), 302 (100), 228 (20), 173 (14),

81 (21)

UV :  $\lambda_{\max}$  nm, in methanol 360, 257, 208

$^1\text{H NMR}$  :  $\delta$  ppm, 500 MHz in DMSO- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 13

$^{13}\text{C NMR}$  :  $\delta$  ppm, 125 MHz in DMSO- $d_6$  รายละเอียดแสดงในตารางที่ 13

### บทที่ 3

## อภิปรายผลการศึกษา

### 3.1 การศึกษาปริมาณ flavonoids ของสารสกัด

การศึกษาปริมาณ flavonoids ของสารสกัดจำนวน 34 สารสกัดจากสารสกัด 90% และ 10% methanol จากใบ ลำต้น และส่วนเหนือดินของพืชในวงศ์ fabaceae ปริมาณสาร flavonoids มีความแตกต่างกันโดยอยู่ในช่วง 0.09-25.93 mg rutin equivalent/g plant extract โดยสารสกัด 90% methanol ของใบส้มเสี้ยวจะแสดงปริมาณ flavonoids มากที่สุด  $25.93 \pm 0.01$  mg rutin equivalent/g plant extract

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากส่วนใบและส่วนลำต้นพบว่าสารสกัดส่วนใบส่วนใหญ่จะให้ปริมาณ flavonoids สูงกว่าส่วนลำต้นทั้งการสกัดด้วย 90% และ 10% methanol

### 3.2 การศึกษาสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบส้มเสี้ยว

หลังจากทำการสกัดใบส้มเสี้ยวด้วย 90% methanol นำมาแยกสารจากด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟีต่างๆ ได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 8 ชนิด จากนั้นทำการพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นด้วยการใช้ UV-VIS spectrophotometer พบว่าสารแสดง maximum absorption peaks ที่ 2 ตำแหน่ง (350-372 และ 240-270nm) บ่งชี้ว่า flavonoids ที่แยกได้เป็นกลุ่ม flavonol (Harborne, 1994) ซึ่งเป็นกลุ่ม flavonoids ที่มีหมู่ hydroxyl มาแทนที่ที่ตำแหน่ง C-3 จากนั้นทำการยืนยันเอกลักษณ์สารบริสุทธิ์แต่ละชนิดโดยเทคนิคทาง spectrometer ได้แก่ Mass spectrometer, 1D และ 2D NMR spectrometer

### 3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารบริสุทธิ์ที่แยกได้

#### 3.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-1

สารประกอบ B-1 ที่แยกได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูลของ EIMS spectrum แสดง molecular ion  $[M]^+$  ที่  $m/z$  328 ตรงกับสูตรโมเลกุล  $C_{18}H_{16}O_6$  UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 331, 275, 209, 208 nm แสดงถึง flavonol nucleus จาก  $^1H$  NMR spectrum แสดงรูปแบบ AA'BB' coupling ของ aromatic ring protons โดยสังเกตจาก  $\delta$  7.04 ( $J = 8.8$  Hz, each) และ 8.08 ( $J = 8.8$  Hz, each) ppm ตรงกับตำแหน่ง H-3', H-5' และ H-2', H-6' ของสูตรโครงสร้าง จากข้อมูลของ proton signals ทั้งหมดบอกให้ทราบว่าสารประกอบ B-1 เป็นสารประกอบจำพวก kaempferol derivative นอกจากนั้น singlet proton signals 3 ตำแหน่งได้แก่  $\delta$  2.14, 2.32 และ 3.87 ppm จะเกิดจากการมีหมู่  $CH_3$  แทนที่ที่ตำแหน่ง C-8, C-6 และการแทนที่ของหมู่  $OCH_3$  ที่ C-3 จากข้อมูลของ  $^{13}C$  NMR spectrum แสดงให้เห็นว่าโมเลกุลของสารนี้ประกอบด้วย carbon จำนวน 18 อะตอมโดยแบ่งเป็น carbonyl carbon 1 อะตอม  $sp^2$  carbons 14 อะตอม และ  $sp^3$  carbons 3 อะตอม ข้อมูลเหล่านี้จะสนับสนุนถึงการที่สารนี้เป็นฟลาโวนอล (flavonols) ที่มีหมู่ methyl และ methoxy แทนที่ ในตำแหน่ง C-3 ที่ถูกแทนที่ด้วยหมู่ methoxy ขึ้นันจาก NOE difference spectrum เนื่องจากตำแหน่งที่ H-2', H-6' ( $\delta = 8.08$  ppm) จะแสดง enhancing signal เมื่อ irradiated ที่หมู่ methoxy ( $\delta = 3.87$  ppm) จากการพิสูจน์เอกลักษณ์สาร B-1 พบว่าสาร B-1 คือ 6,8-dimethyl kaempferol, 3-methyl ether (96) พร้อมทั้งเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้า (Ibewuik et al, 1996)

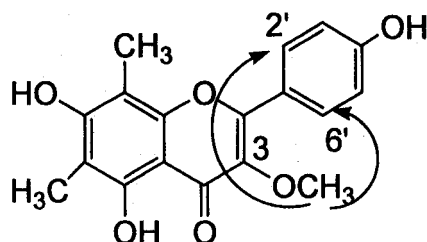


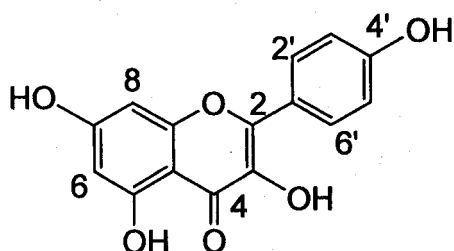
Figure 2 NOE difference effect of compound B-1

**Table 6** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of compound B-1 in acetone- $d_6$ 

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2		156.3
3		138.9
4		179.7
5		157.5
6		105.6
7		160.3
8		102.2
9		152.9
10		107.3
1'		123.0
2'	8.08 (1H, <i>d</i> , 8.8)	131.1
3'	7.04 (1H, <i>d</i> , 8.8)	116.4
4'		160.8
5'	7.04 (1H, <i>d</i> , 8.8)	116.4
6'	8.08 (1H, <i>d</i> , 8.8)	131.1
6-CH <sub>3</sub>	2.32 (1H, <i>s</i> )	7.9
8-CH <sub>3</sub>	2.14 (1H, <i>s</i> )	8.2
3-OCH <sub>3</sub>	3.87 (1H, <i>s</i> )	60.0

### 3.3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-2

สารประกอบ B-2 ที่แยกได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูลจาก EIMS spectrum แสดง molecular ion  $[M]^+$  ที่  $m/z$  286 ตรงกับสูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{10}O_6$  UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 367, 323, 266 และ 219 nm จากข้อมูล  $^1H$  NMR spectrum แสดงตำแหน่ง aromatic ring protons ที่  $\delta$  7.02 ( $J=9.0$  Hz, each) และ 8.16 ( $J=9.0$  Hz, each) ppm เป็นตำแหน่ง H-3', H-5' และ H-2', H-6' ของสูตรโครงสร้าง proton signals ที่  $\delta$  6.27 ( $J=2.0$  Hz) และ 6.57 ( $J=2.0$  Hz) ppm เป็นตำแหน่ง H-6 และ H-8 ของสูตรโครงสร้าง ลักษณะและตำแหน่งสัญญาณของสารประกอบนี้คล้ายกับสารประกอบ B-1 จากข้อมูลการทดลองต่างๆและเปรียบเทียบข้อมูลกับที่มีรายงานไว้แล้วสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ได้ว่าสาร B-2 นี้คือ kaempferol (40) (Matthes et al, 1980)

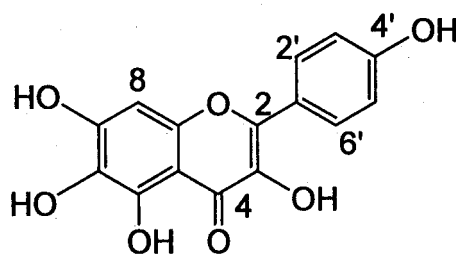


**Table 7** The  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR data of compound B-2 in acetone- $d_6$

Position	$^1H$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)
6	6.27 (1H, $d$ , 2.0)
8	6.57 (1H, $d$ , 2.0)
2'	8.16 (1H, $d$ , 9.0 Hz)
3'	7.02 (1H, $d$ , 9.0 Hz)
5'	7.02 (1H, $d$ , 9.0 Hz)
6'	8.16 (1H, $d$ , 9.0 Hz))

### 3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-3

สารประกอบ B-3 ที่แยกได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูลของ EIMS แสดง molecular ion  $[M]^+$  ที่  $m/z$  302 ตรงกับสูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{10}O_7$  ข้อมูล UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 327, 345, 287 และ 213 nm จากข้อมูล  $^1H$  NMR spectrum แสดงตำแหน่ง aromatic ring protons ที่  $\delta$  7.01 ( $J=9.0$  Hz, each) และ 8.01 ( $J=9.0$  Hz, each) ppm ซึ่งตรงกับตำแหน่ง H-3', H-5' และ H-2', H-6' ในสูตรโครงสร้าง ลักษณะและตำแหน่งสัญญาณของสารประกอบนี้คล้ายกับสารประกอบ B-2 คือ kaempferol แต่พบเพียง proton signals ที่  $\delta$  6.61 (s) ppm ซึ่งตรงกับตำแหน่ง H-8 โดยที่ตำแหน่ง H-6 จะมีหมู่ hydroxy มาแทนที่ซึ่งยืนยันได้จากข้อมูลของ mass spectrum หลังจากเปรียบเทียบข้อมูลกับรายงานการศึกษาของ Hattori et al, 1992 สามารถสรุปได้ว่าสารนี้คือ 6-hydroxy kaempferol (98)

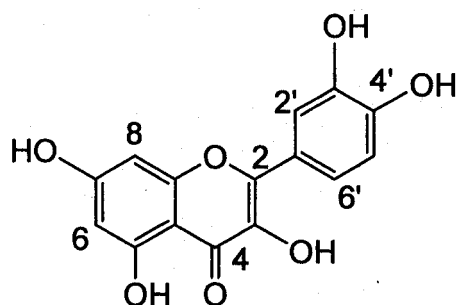


**Table 8** The  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR data of compound B-3 in acetone- $d_6$

Position	$^1H$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)
8	6.61 (1H, s)
2'	8.01 (1H, d, 9.0 Hz)
3'	7.01 (1H, d, 9.0 Hz)
5'	7.01 (1H, d, 9.0 Hz)
6'	8.01 (1H, d, 9.0 Hz))

### 3.3.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-4

สารประกอบ B-4 ที่แยกได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 372, 371, 255 และ 207 nm สูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{10}O_7$  โดยสังเกตจากการทดลอง EIMS ซึ่งแสดง  $[M]^+$  ที่  $m/z$  302 จากข้อมูลของ  $^1H$  NMR แสดง meta coupling doublet protons ระหว่าง H-6 และ H-8 ที่  $\delta$  6.27 และ 6.53 ppm ( $J=2.0$  Hz, each) ส่วน ABX coupling type protons ที่  $\delta$  7.0 ( $J=8.5$  Hz), 7.71 ( $J=8.5, 2.0$  Hz) และ 7.84 ( $J=20$  Hz) ppm ซึ่งตำแหน่งเหล่านี้ได้แก่ H-5', H-6' และ H-2' ดังนั้นจากการพิสูจน์เอกลักษณ์พบว่าสาร B-4 คือ quercetin (50) พร้อมทั้งเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้า (Markham et al, 1978)





**Table 9** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of compound B-4 in acetone- $d_6$ 

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2		157.7
3		136.7
4		176.6
5		162.3
6	6.27 (1H, $d$ , 2.0)	99.1
7		164.9
8	6.53 (1H, $d$ , 2.0)	94.4
9		162.0
10		104.1
1'		121.4
2'	7.84 (1H, $d$ , 2.0)	115.7
3'		145.8
4'		148.3
5'	7.00 (1H, $d$ , 8.5)	116.2
6'	7.71 (1H, $dd$ , 8.5, 2.0)	123.7

### 3.3.5 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-5

สารประกอบ B-5 เป็นของแข็งสีเหลือง จาก UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 342, 264 และ 211 nm จากข้อมูลที่ทดลองด้วย FABMS แสดง  $[M+H]^+$  ที่  $m/z$  433 ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล  $C_{21}H_{20}O_{10}$   $^{13}C$  NMR spectrum แสดงจำนวน carbons ที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลมีทั้งหมด 21 อะตอม โดยแบ่งเป็น carbonyl carbon 1 อะตอมและ aromatic carbons 14 อะตอม ยืนยันว่าสารนี้เป็นสารจำพวก flavonol จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่ายังมี methine carbons 5 อะตอมพร้อมด้วย methyl carbon 1 อะตอมแสดงถึงการมีน้ำตาล rhamnose อยู่ในโมเลกุล จาก  $^1H$  NMR spectrum สามารถใช้สัญญาณบอกตำแหน่ง protons ต่างๆ ได้ดังนี้  $\delta$  5.51 (H-1''), 4.23 (H-2''), 3.67 (H-3''), 3.31 (H-4''), 3.40 (H-5'') และ 0.88 (CH<sub>3</sub>-6'') เมื่อพิจารณาค่า coupling constant ระหว่าง H-1'' กับ H-2'' ( $J=1.2$  Hz) แสดงถึง  $\alpha$ -configuration ของ rhamnopyranosyl unit (Harborne, 1994) จากการศึกษา HMBC spectrum ยืนยันตำแหน่งที่น้ำตาล rhamnose เกาะที่ตำแหน่ง C-3 ของ kaempferol โดยสังเกตจาก correlation ระหว่าง H-1'' ( $\delta_H$  5.51 ppm) กับ C-3 ( $\delta_C$  135.8 ppm) ตำแหน่ง carbons และ protons ทั้งหมดยืนยันด้วย HMQC และ HMBC spectra พร้อมทั้งเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้า ทำให้สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-5 ได้ว่าเป็นสาร afzelin หรือ kaempferol 3-*O*- $\alpha$ -rhamnoside (52) (Matthes et al, 1980)

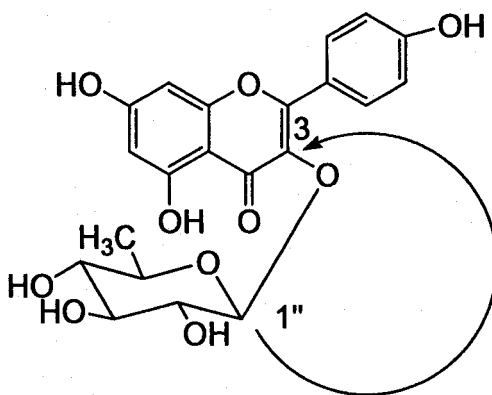


Figure 3 HMBC correlation of compound B-5

**Table 10** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of compound B-5 in acetone- $d_6$ 

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2		158.1
3		135.8
4		179.3
5		163.2
6	6.26 (1H, <i>d</i> , 2.4)	99.5
7		165.0
8	6.47 (1H, <i>d</i> , 2.4)	94.6
9		158.0
10		102.6
1'		122.5
2'	7.85 (1H, <i>d</i> , 8.9)	131.7
3'	7.01 (1H, <i>d</i> , 8.9)	116.1
4'		160.9
5'	7.01 (1H, <i>d</i> , 8.9)	116.1
6'	7.85 (1H, <i>d</i> , 8.9)	131.7
1''	5.51 (1H, <i>d</i> , 1.2)	102.6
2''	4.23 (1H, <i>dd</i> , 1.2, 3.4)	72.0
3''	3.67 (1H, <i>dd</i> , 3.4, 8.9)	71.4
4''	3.31 (1H, <i>t</i> , 8.9, 9.5)	73.0
5''	3.40 (1H, <i>m</i> )	71.3
6''	0.88 (3H, <i>d</i> , 5.4)	17.7

### 3.3.6 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-6

สารประกอบ B-6 เป็นของแข็งสีเหลือง ผลจาก UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 358, 257 และ 208 nm สูตรโมเลกุลของสาร  $C_{21}H_{20}O_{12}$  จากข้อมูลของ EIMS แสดง  $[M]^+$  ที่  $m/z$  464 จาก  $^1H$  NMR spectrum แสดง meta coupling doublet protons ระหว่าง H-6 กับ H-8 ที่  $\delta$  6.18 และ  $\delta$  6.39 ppm ( $J=1.8$  Hz, each) และการบอกตำแหน่ง H-5', H-6' และ H-2' สังเกตจาก ABX coupling type protons ที่  $\delta$  6.83 ( $J=9.1$  Hz), 7.54 (*br*) และ 7.58 ( $J=2.2$  Hz) ppm ซึ่งข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ถึงการมี quercetin nucleus ในโมเลกุล proton signals ในตัวทำละลาย DMSO- $d_6$  ที่  $\delta$  5.45 (H-1''), 3.07-3.63 (H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', 6'' $\alpha$ , 6'' $\beta$ ) แสดงถึงการมีน้ำตาล glucose แทนที่ในโมเลกุล แต่เนื่องจากตัวทำละลายนี้ไม่สามารถแยก proton signals ตำแหน่ง H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', 6'' $\alpha$ , 6'' $\beta$  ออกจากกัน จึงทำการพิสูจน์เพิ่มเติมด้วยการสังเกต proton signals ในตัวทำละลาย methanol- $d_4$  ซึ่งสามารถจำแนก proton ตำแหน่ง H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', 6'' $\alpha$ , 6'' $\beta$  ดังรายละเอียดในตารางที่ 11 configuration ของน้ำตาล glucose เป็นแบบ  $\beta$ -anomer ยืนยันด้วย coupling constant ของ H-1'' และ H-2'' ( $J=7.5$  Hz) (Harborne, 1994) ตำแหน่ง carbons และ protons ทั้งหมดยืนยันด้วย HSQC และ HMBC spectra และเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้า ดังนั้นสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-6 ได้ว่าเป็นสาร isoquercitrin หรือ quercetin-3-O- $\beta$ -glucoside (99) (Markham et al, 1978)

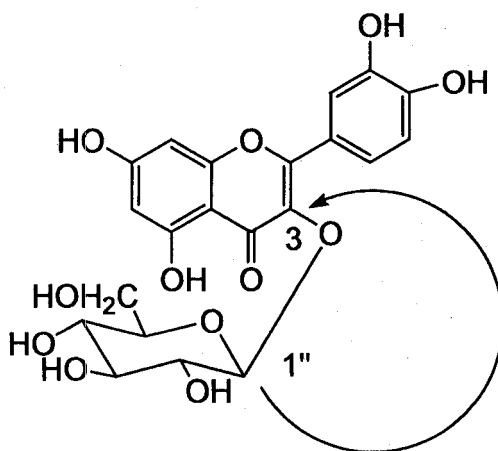


Figure 4 HMBC correlation of compound B-6

**Table 11** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data in  $\text{DMSO}-d_6$  and the  $^1\text{H}$  NMR datum of compound B-6 in methanol- $d_4$

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz) in $\text{DMSO}-d_6$	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz) in methanol- $d_4$	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) in $\text{DMSO}-d_6$
2			156.3
3			133.3
4			177.4
5			161.2
6	6.18 (1H, <i>d</i> , 1.8)	6.19 (1H, <i>d</i> , 2.2)	98.7
7			164.3
8	6.39 (1H, <i>d</i> , 1.8)	6.38 (1H, <i>d</i> , 2.2)	93.5
9			156.2
10			103.9
1'			121.2
2'	7.58 (1H, <i>d</i> , 2.2)	7.70 (1H, <i>d</i> , 2.1)	115.2
3'			144.83
4'			148.5
5'	6.83 (1H, <i>d</i> , 9.1)	6.86 (1H, <i>d</i> , 8.4)	116.2
6'	7.54 (1H, <i>br</i> )	7.58 (1H, <i>dd</i> , 2.1, 8.4)	121.6
1''	5.45 (1H, <i>d</i> , 7.5)	5.27 (1H, <i>d</i> , 7.5)	100.9
2''	3.07-3.63 (6H)	3.47 (1H, <i>dd</i> , 9.1, 5.1)	74.1
3''		3.42 (1H, <i>dd</i> , 9.1, 8.4)	76.5
4''		3.33 (1H, <i>dd</i> , 8.4, 9.5)	69.9
5''		3.25 (1H, <i>m</i> )	77.6
6'' $_{\alpha}$		3.70 (1H, <i>dd</i> , 2.4, 12.0)	61.0
6'' $_{\beta}$		3.57 (1H, <i>dd</i> , 5.3, 12.0)	

### 3.3.7 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-7

สารประกอบ B-7 เป็นของแข็งสีเหลือง ข้อมูลของ UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 350, 256 และ 210 nm ส่วนข้อมูล FABMS แสดง  $[M+H]^+$  ที่  $m/z$  449 ตรงกับสูตรโมเลกุล  $C_{21}H_{20}O_{11}$  จากข้อมูล  $^1H$  NMR spectrum ของสารนี้แสดงสัญญาณ protons บริเวณ down field คล้ายกับการแสดงสัญญาณบริเวณเดียวกันในสารประกอบ B-3 แสดงว่าสารประกอบ B-6 ประกอบด้วย quercetin nucleus ในโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาล rhamnose ซึ่งตำแหน่ง protons ต่างๆ เป็นดังนี้  $\delta$  5.50 (H-1''), 4.20 (H-2''), 3.71 (H-3''), 3.34 (H-4''), 3.40 (H-5''), 0.90 ( $CH_3$ -6'')  $\alpha$ -configuration ของ rhamnopyranoside สังเกตจากค่า coupling constant ระหว่าง H-1'' และ H-2'' ( $J=1.2$  Hz) (Harborne, 1994) ตำแหน่ง carbons และ protons ทั้งหมดยืนยันด้วย HMQC และ HMBC spectra ดังนั้นสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-7 ได้ว่าเป็นสาร quercitrin หรือ quercetin-3-O- $\alpha$ -rhamnoside (51) ดังที่มีรายงานไว้ในการศึกษาของ Markham et al, 1978

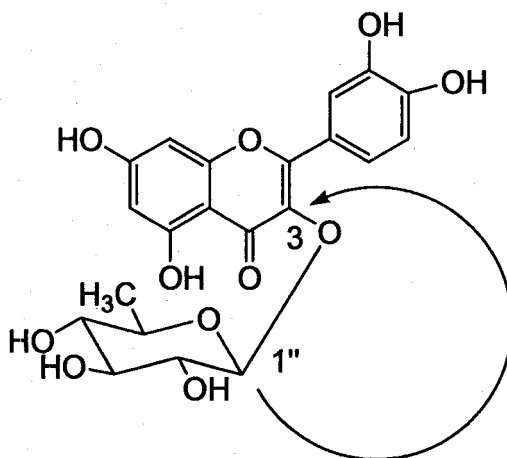


Figure 5 HMBC correlation of compound B-7

**Table 12** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of compound B-7 in acetone- $d_6$ 

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2		149.0
3		135.8
4		179.3
5		163.2
6	6.25 (1H, <i>d</i> , 2.3)	99.5
7		165.0
8	6.46 (1H, <i>d</i> , 2.3)	94.5
9		157.9
10		105.7
1'		122.9
2'	7.49 (1H, <i>d</i> , 3.7)	116.7
3'		145.8
4'		158.4
5'	6.98 (1H, <i>d</i> , 8.5)	116.1
6'	7.39 (1H, <i>dd</i> , 8.5, 3.7)	122.6
1''	5.50 (1H, <i>d</i> , 1.2)	102.7
2''	4.20 (1H, <i>t</i> , 3.2, 1.2)	71.5
3''	3.71 (1H, <i>dd</i> , 9.0, 3.2)	72.1
4''	3.34 (1H, <i>d</i> , 9.0)	73.0
5''	3.40 (1H, <i>d</i> , 6.0)	71.3
6''	0.90 (3H, <i>d</i> , 6.0)	17.7

### 3.3.8 การพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-8

สารประกอบ B-8 เป็นของแข็งสีเหลือง ข้อมูล UV spectrum แสดง absorption bands ที่ 360, 257 และ 208 nm สูตรโครงสร้างของสารนี้เป็น  $C_{21}H_{20}O_{12}$  สังเกตจากข้อมูล EIMS แสดง  $[M]^+$  ที่  $m/z$  464 ส่วน aromatic proton signals ของสารประกอบนี้มีลักษณะคล้ายกับ aromatic proton signals ของสารประกอบ B-4 แสดงว่าสารนี้ประกอบด้วย quercetin nucleus ตำแหน่งของน้ำตาลแสดงที่  $\delta$  5.37 (H-1''), 3.28 (H-2''), 3.48 (H-3''), 3.63 (H-4''), 3.55 (H-5''), 3.28 (H-6'' $\alpha$ ), 3.44 (H-6'' $\beta$ ) บอกให้ทราบว่าเป็นน้ำตาล galactose ค่า coupling constant ระหว่าง H-1'' และ H-2'' ( $J=7.8$  Hz) แสดงถึง  $\beta$  configuration ของ galactopyranosyl moiety (Harborne, 1994) ตำแหน่ง carbons และ protons ทั้งหมดยืนยันด้วย HSQC และ HMBC spectra นอกจากนั้นยังเปรียบเทียบกับข้อมูลการศึกษาของ Markham et al, 1978 ดังนั้นสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ B-8 คือสาร hyperoside หรือ quercetin-3- $O$ - $\beta$ -galactoside (70)

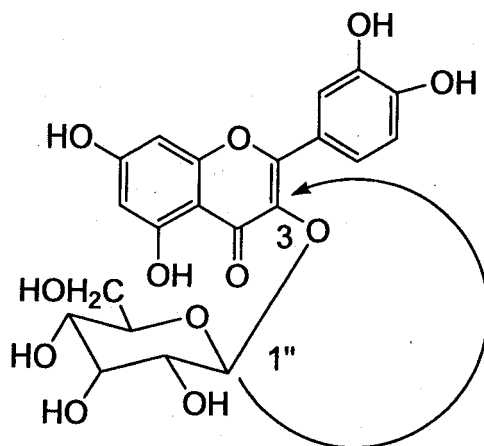


Figure 6 HMBC correlation of compound B-8



**Table 13** The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of compound B-8 in  $\text{DMSO}-d_6$ 

Position	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2		156.2
3		133.5
4		177.5
5		161.2
6	6.19 (1H, <i>d</i> , 2.0)	98.7
7		164.2
8	6.39 (1H, <i>d</i> , 2.0)	93.5
9		156.3
10		103.9
1'		121.1
2'	7.13 (1H, <i>d</i> , 2.2)	115.9
3'		144.8
4'		148.5
5'	6.80 (1H, <i>d</i> , 8.5)	115.2
6'	7.65 (1H, <i>dd</i> , 8.5, 2.2)	122.0
1''	5.37 (1H, <i>d</i> , 7.8)	101.8
2''	3.28 (1H, <i>m</i> )	71.2
3''	3.48 (1H, <i>m</i> )	73.2
4''	3.63 (1H, <i>br</i> )	67.9
5''	3.55 (1H, <i>m</i> )	75.9
6'' $_{\alpha}$	3.28 (1H, <i>m</i> )	60.1
6'' $_{\beta}$	3.44 (1H, <i>m</i> )	

จากการศึกษาทางพฤกษเคมีของส้มเสี้ยวโดย Duret and Paris, 1977 ได้รายงานว่าพบ flavonoids แต่ไม่ได้ระบุว่าพบในส่วนใด เช่น quercetin (50), isoquercitrin (99) และ rutin นอกจากนั้น Kittakoop et al, 2000 พบว่าส่วนรากประกอบด้วยสารจำพวก bibenzyls เช่น racemosol (26), de-*O*-racemosol (27), preracemosol A (28) และ preracemosol A (29)

ส่วนการศึกษาทางพฤกษเคมีของใบส้มเสี้ยวครั้งนี้แยกได้สาร flavonoids ชนิด flavonol ทั้งหมด 8 ชนิด โดยมี quercetin เป็นสารสำคัญหลัก จากรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารฟลาโวนอยด์ ชนิดต่างๆที่แยกได้จากพืชนี้พบว่า kaempferol (40), quercetin (50), quercitrin (51), hyperoside (70) และ isoquercitrin (99) มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Seyoum et al, 2006) และการศึกษาของ Fernandez et al, 2005 พบว่า isoquercitrin (99) ยับยั้งการหดตัวของหลอดลมในหนูตะเภาที่ถูกเหนี่ยวนำโดย carbachol และ leukotriene D<sub>4</sub>

## บทที่ 4

### สรุปผลการศึกษา

จากการนำส่วนใบ ลำต้น หรือส่วนเหนือดินของพืชสมุนไพรวงศ์ Fabaceae หรือ leguminosae ที่มีรายงานการใช้เป็นยาของจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ดอกอัญญา มดลิน กาสามปึก แคน นมราชสีห์ จานเครือ ทองหมอง หนามหัน บ้าบนและส้มเสี้ยวมาสกัดด้วย 90% และ 10% methanol นำมาตรวจปริมาณสาร flavonoids พบว่า สารสกัด 90% methanol จากใบ ส้มเสี้ยวให้ปริมาณ flavonoids สูงที่สุด จากนั้นนำสารสกัดนี้มาทำการแยกบริสุทธิ์ได้สารบริสุทธิ์ 8 ชนิด และจากพิสูจน์เอกลักษณ์พบว่าสารทั้งหมดเป็นสาร flavonoids ได้แก่ 6,8-dimethyl kaempferol, 3-methyl ether, kaempferol, 6-hydroxy kaempferol, quercetin, afzelin, isoquercitrin, quercitrin และ hyperoside

ในภาคอีสานของไทยประชาชนบริโภคใบส้มเสี้ยวเป็นผักพื้นบ้านอยู่แล้ว และจากผล การศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นหลักฐานบ่งชี้ว่าใบส้มเสี้ยวเป็นแหล่งสาร flavonoids ที่มีฤทธิ์ทางเภสัช วิทยาโดยเฉพาะฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นจึงควรส่งเสริมให้ประชาชนบริโภคเพื่อ ประโยชน์ทางสุขภาพและมีศักยภาพเป็นวัตถุดิบที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพอื่นๆ ต่อไป

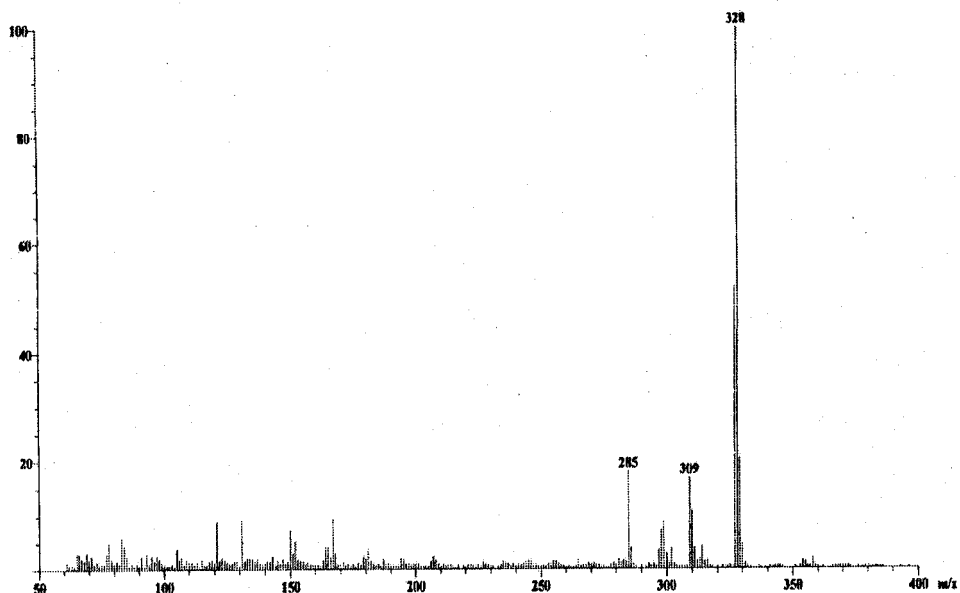


Figure 7 EI mass spectrum of compound B-1

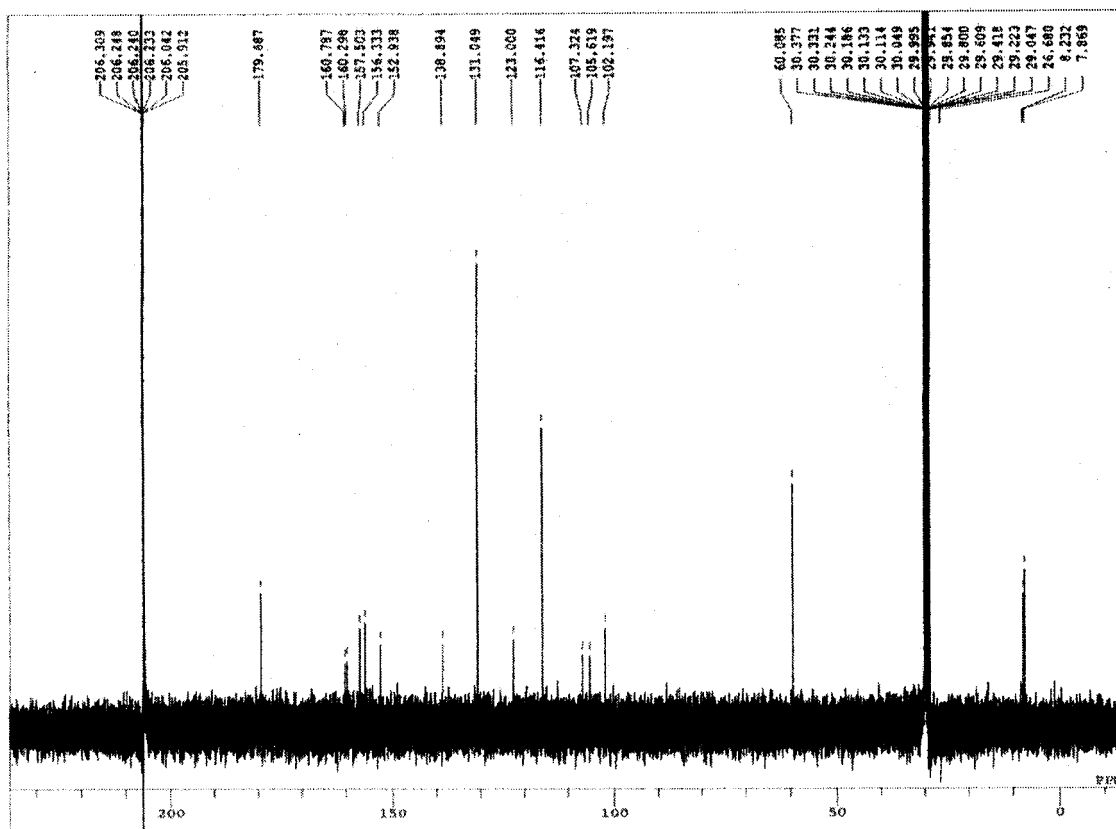


Figure 8  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) of compound B-1 (acetone- $d_6$ )

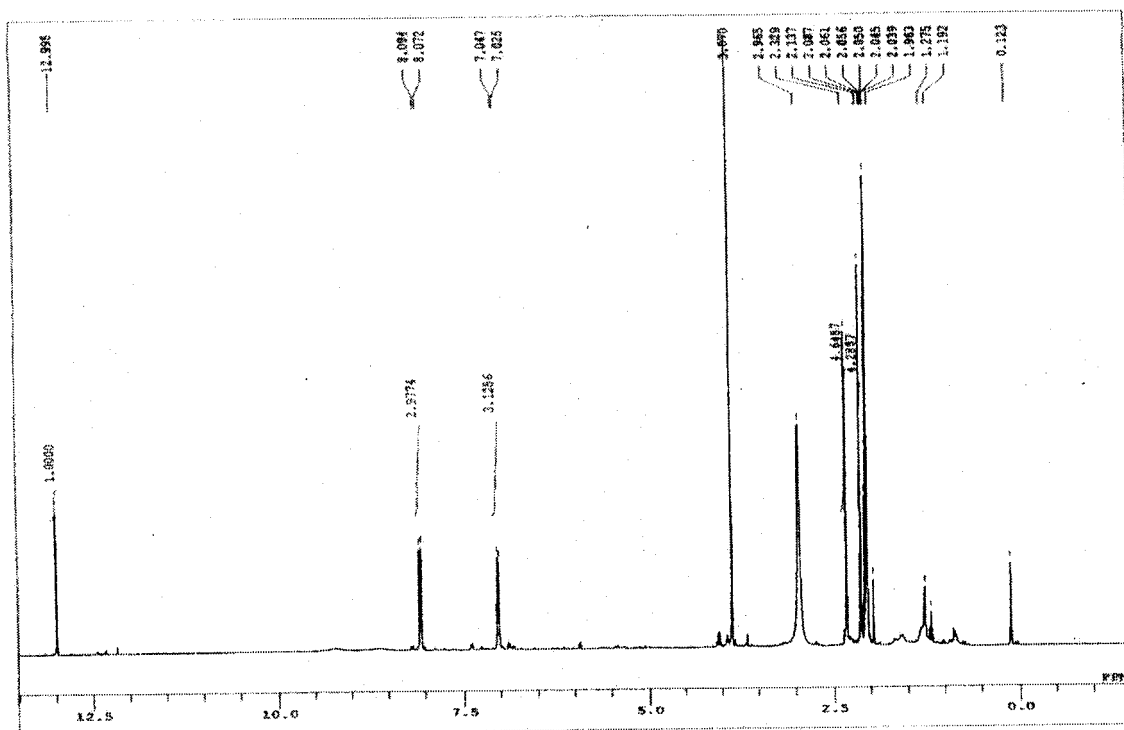


Figure 9  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) of compound B-1 ( $\text{acetone-}d_6$ )

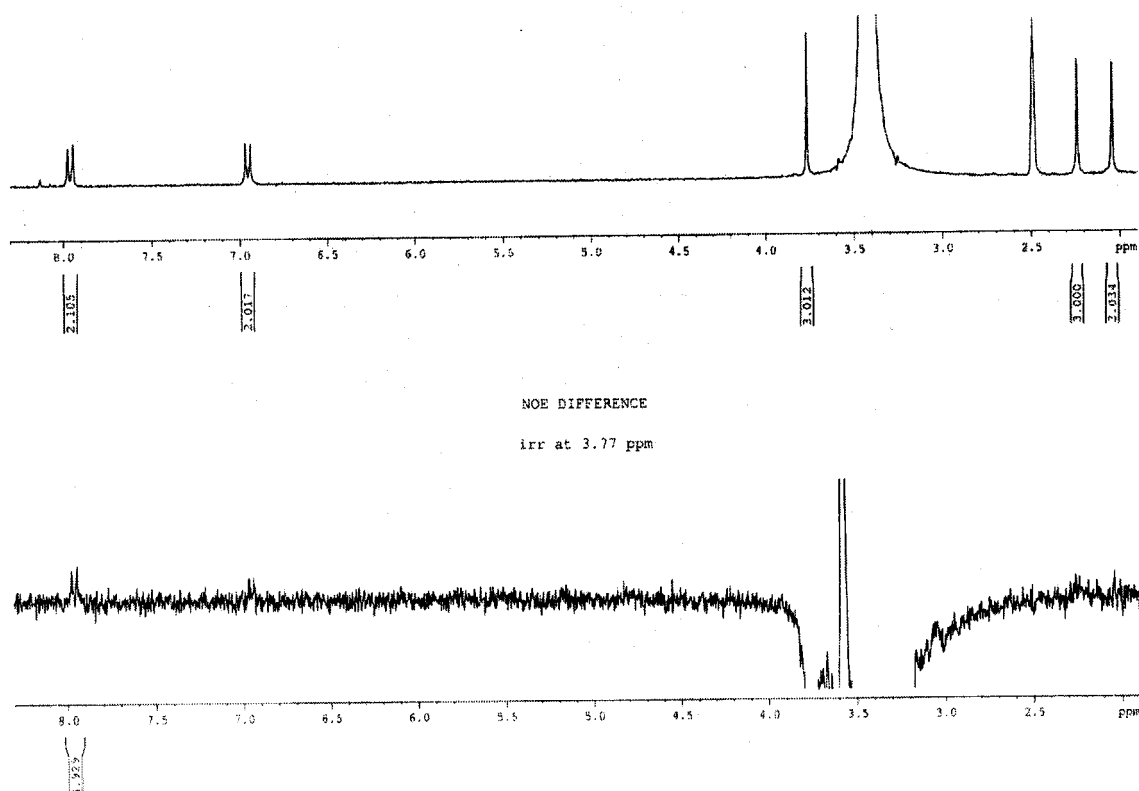


Figure 10 NOE difference spectrum of compound B-1 ( $\text{acetone-}d_6$ )

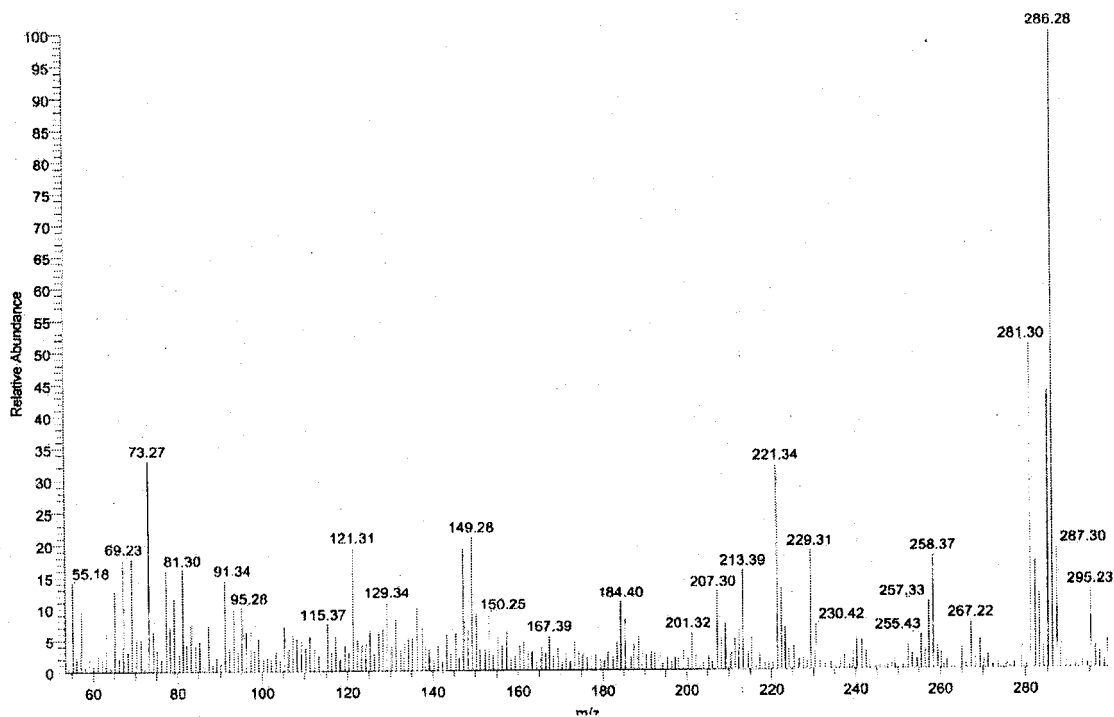


Figure 11 EI mass spectrum of compound B-2

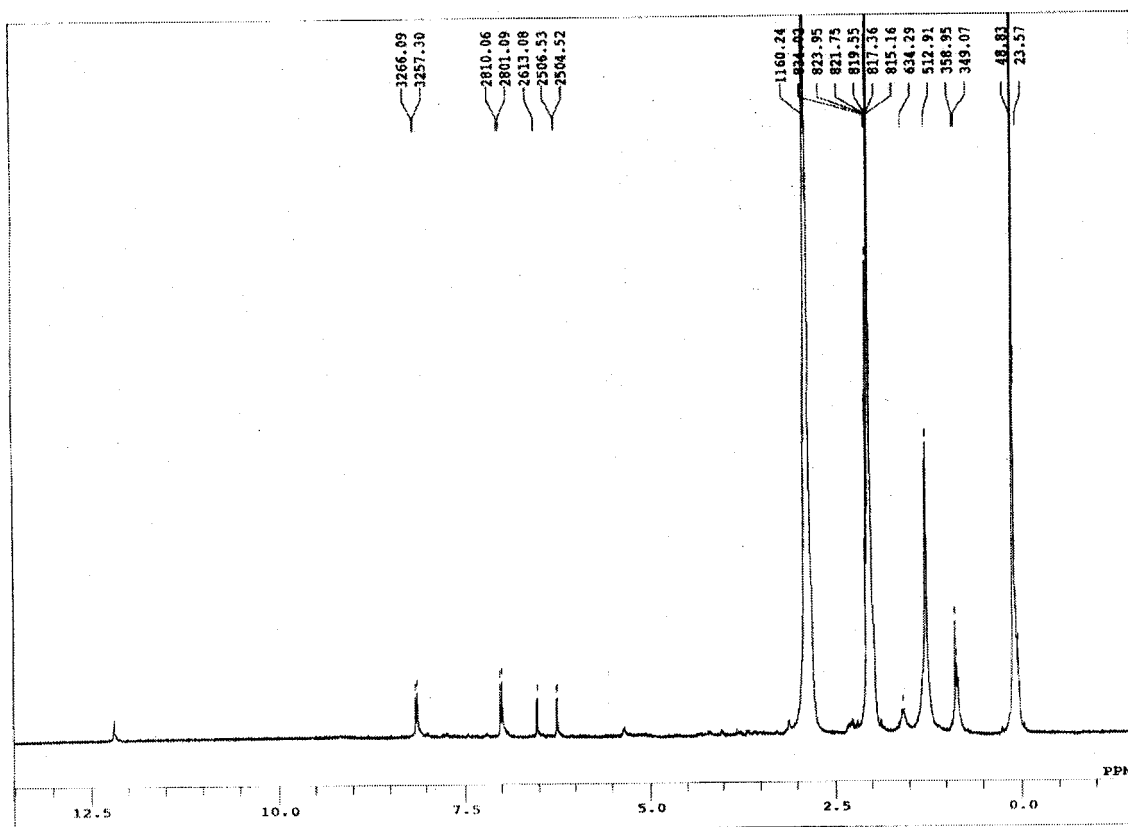


Figure 12 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) of compound B-2 (acetone-*d*<sub>6</sub>)

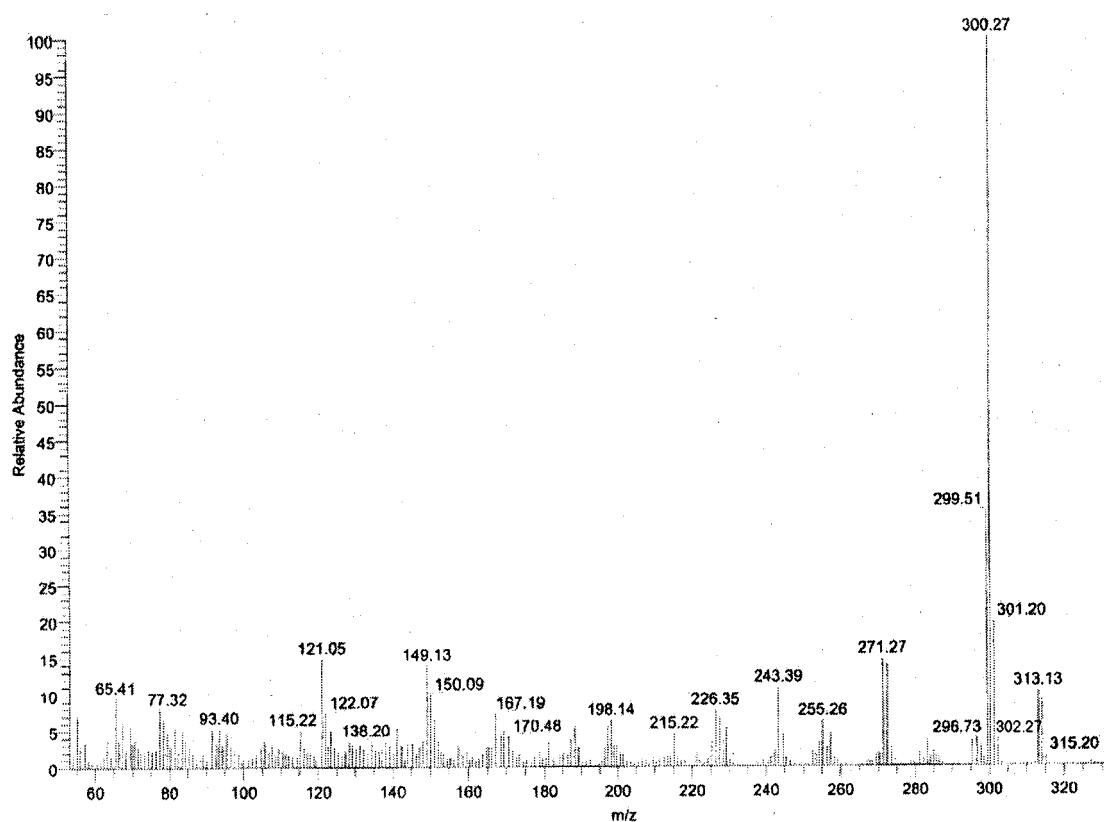


Figure 13 EI mass spectrum of compound B-3

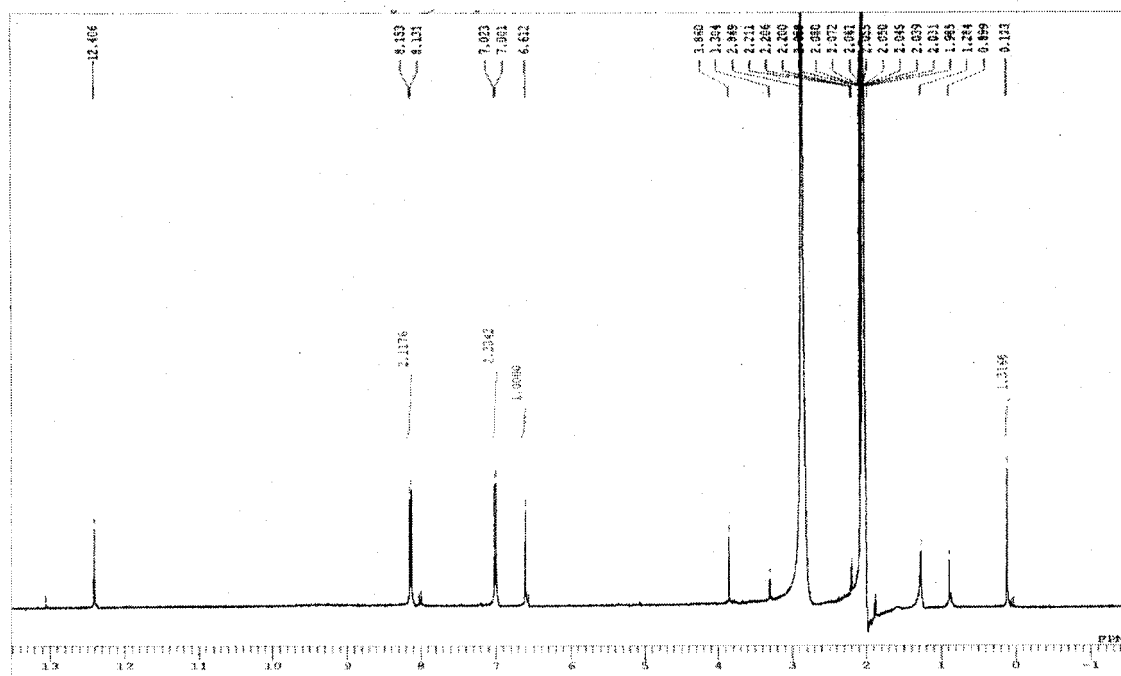


Figure 14  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) of compound B-3 (acetone- $d_6$ )

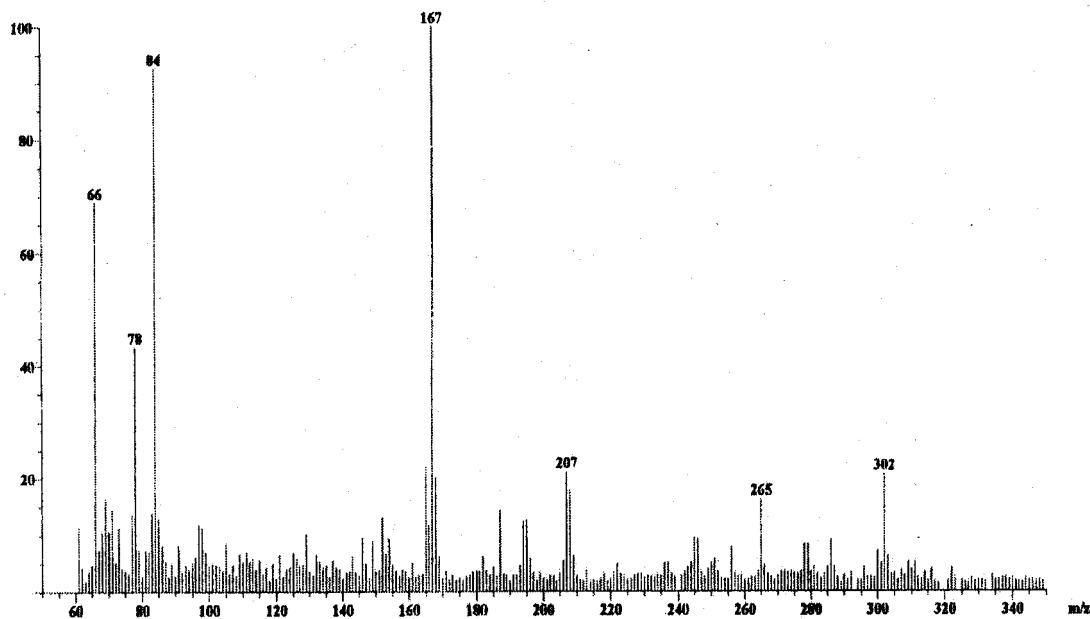


Figure 15 EI mass spectrum of compound B-4

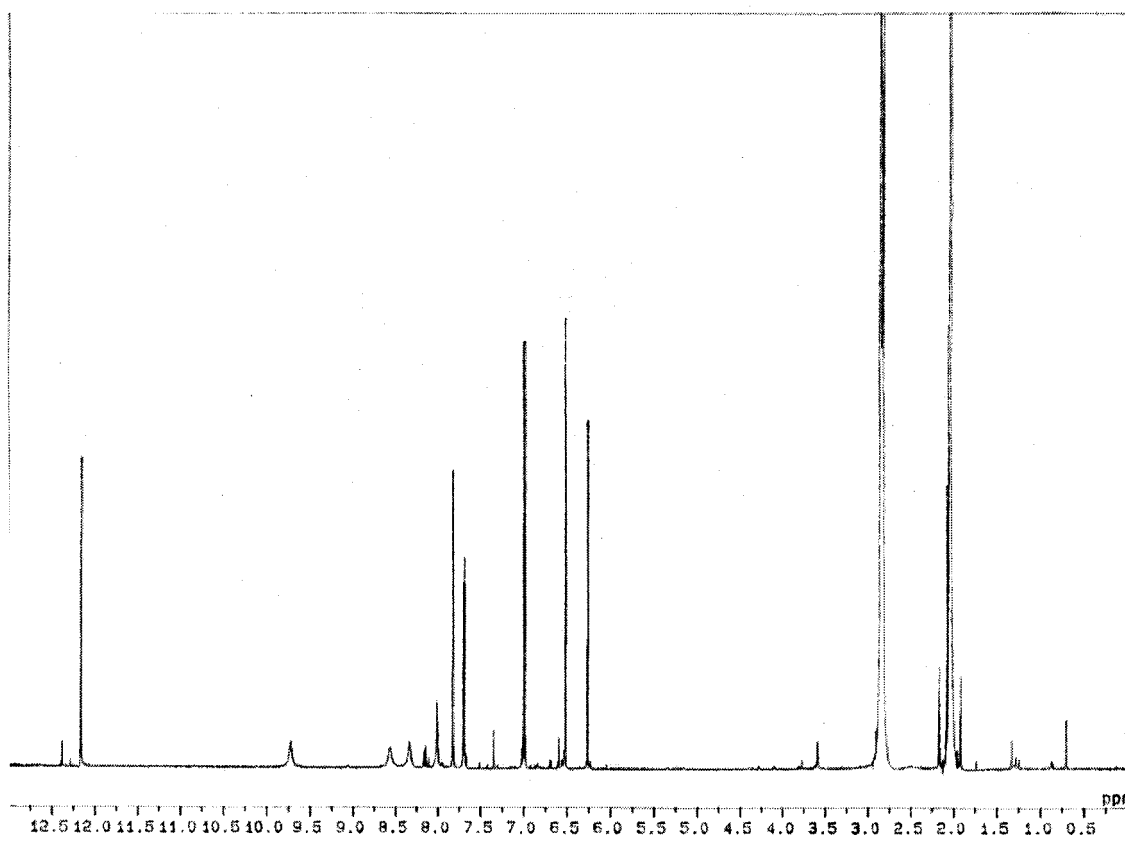


Figure 16  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )



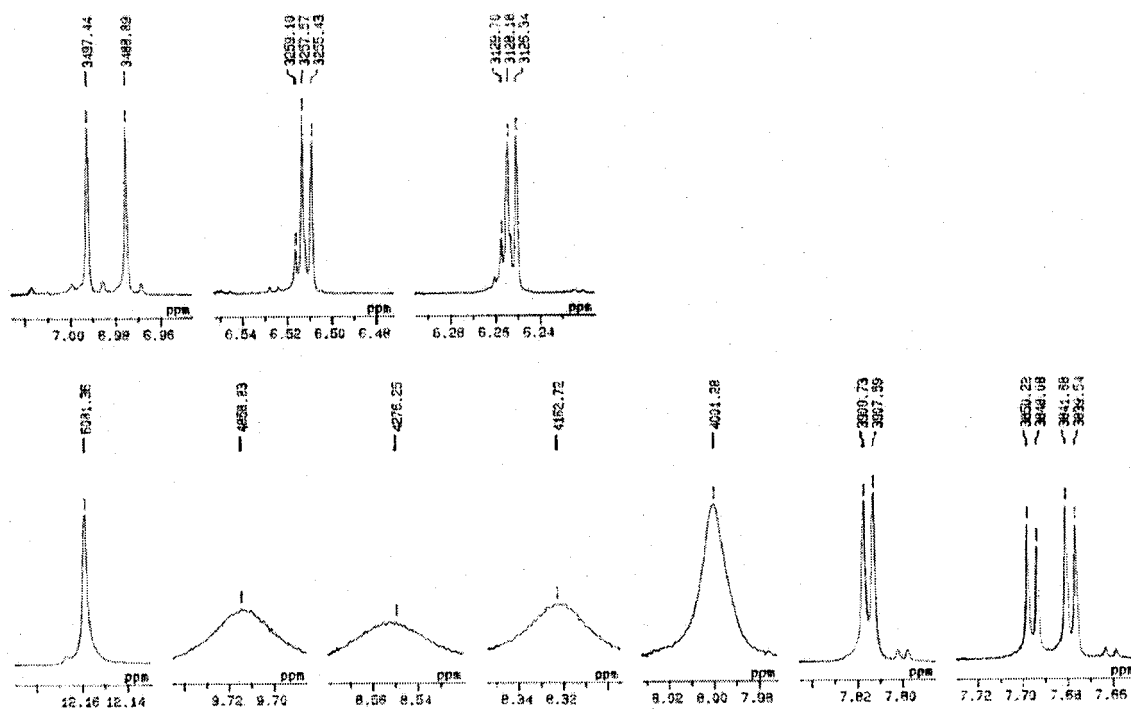


Figure 17  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )

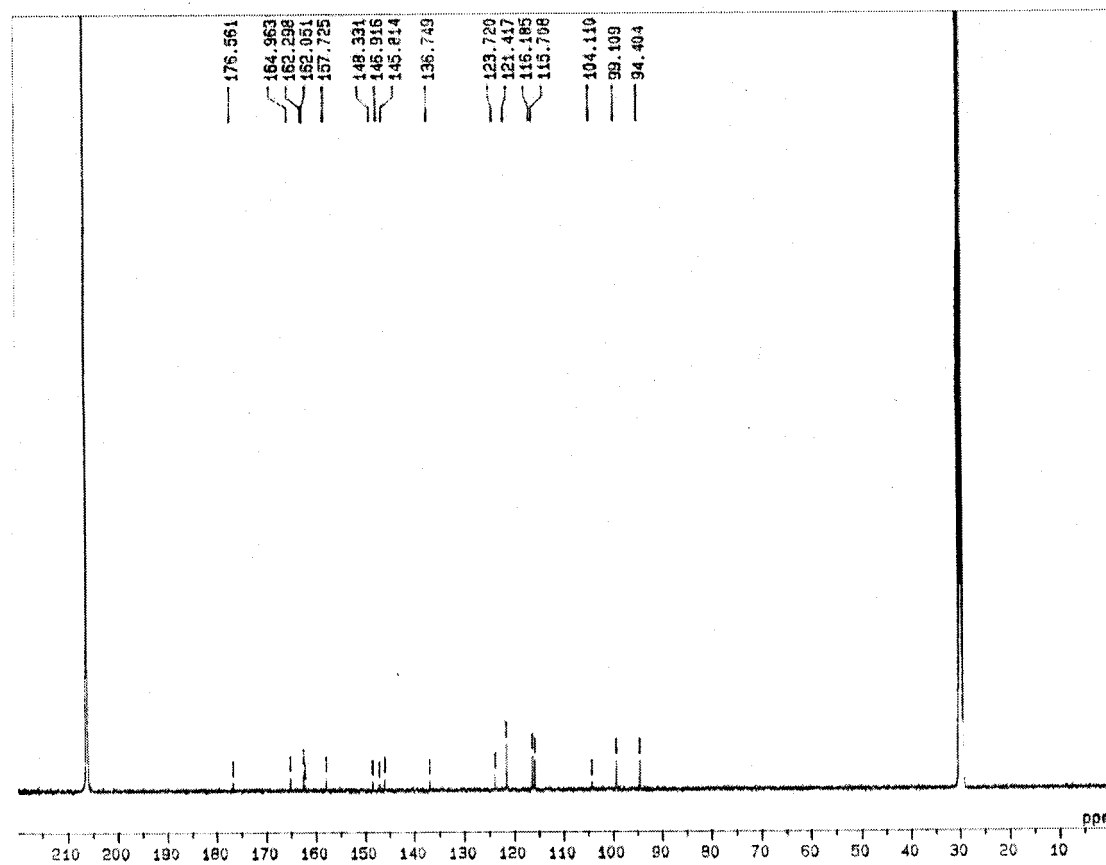


Figure 18  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) of compound B-4 (acetone- $d_6$ )

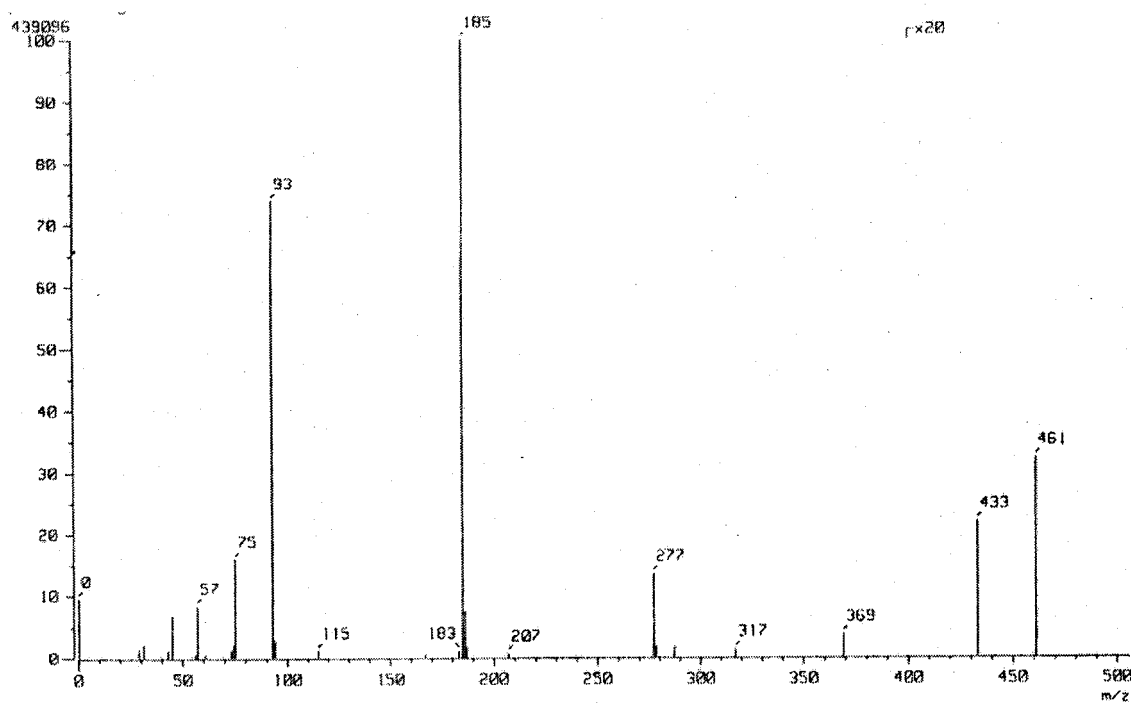


Figure 19 FAB mass spectrum of compound B-5

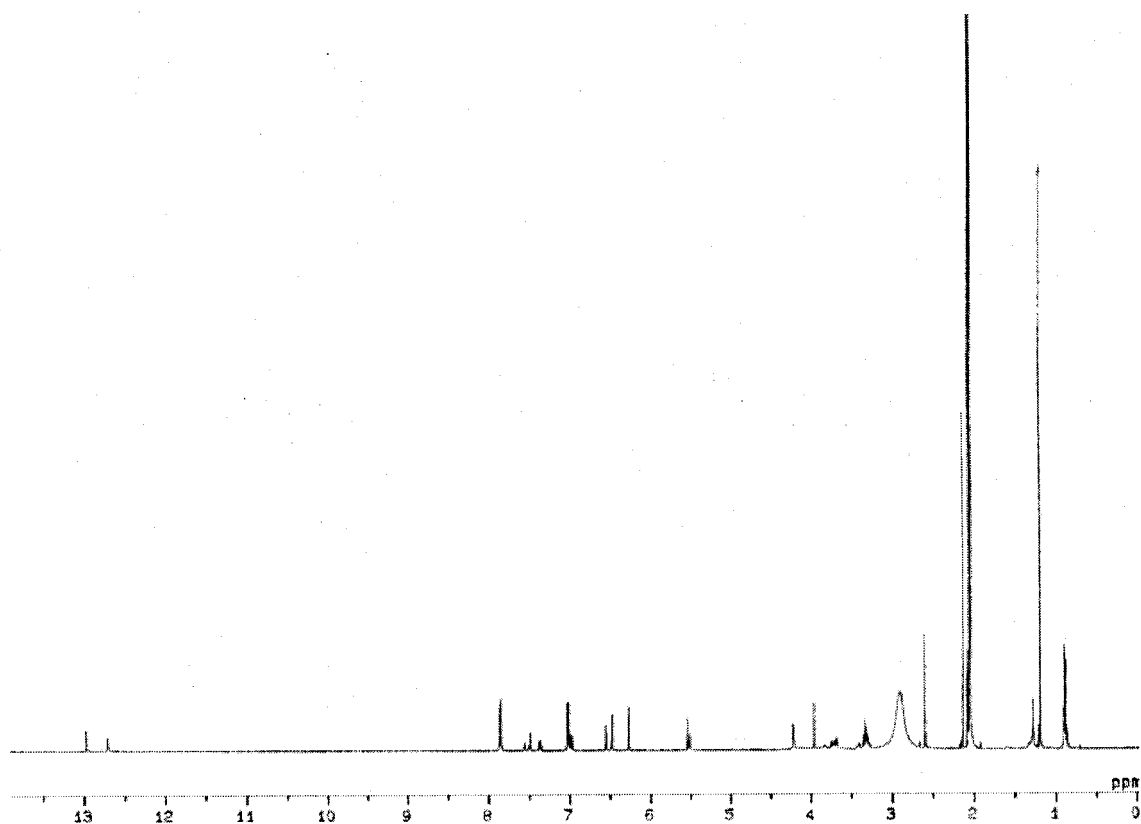


Figure 20  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) of compound B-5 (acetone- $d_6$ )

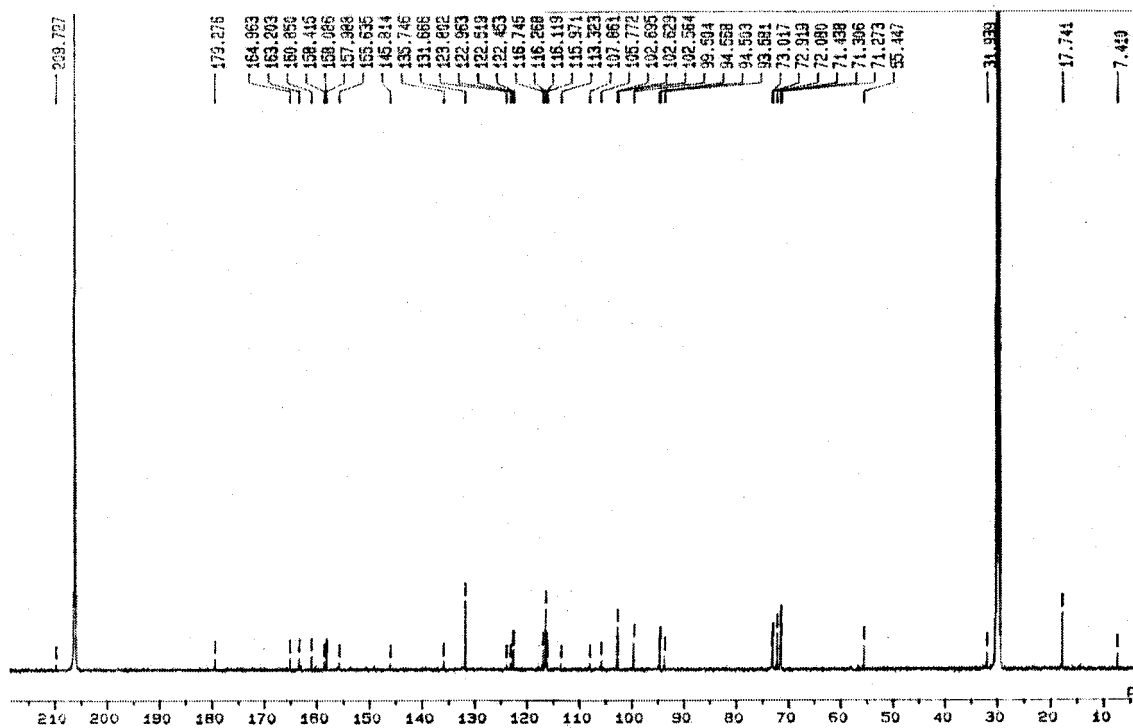


Figure 21  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) of compound B-5 (acetone- $d_6$ )

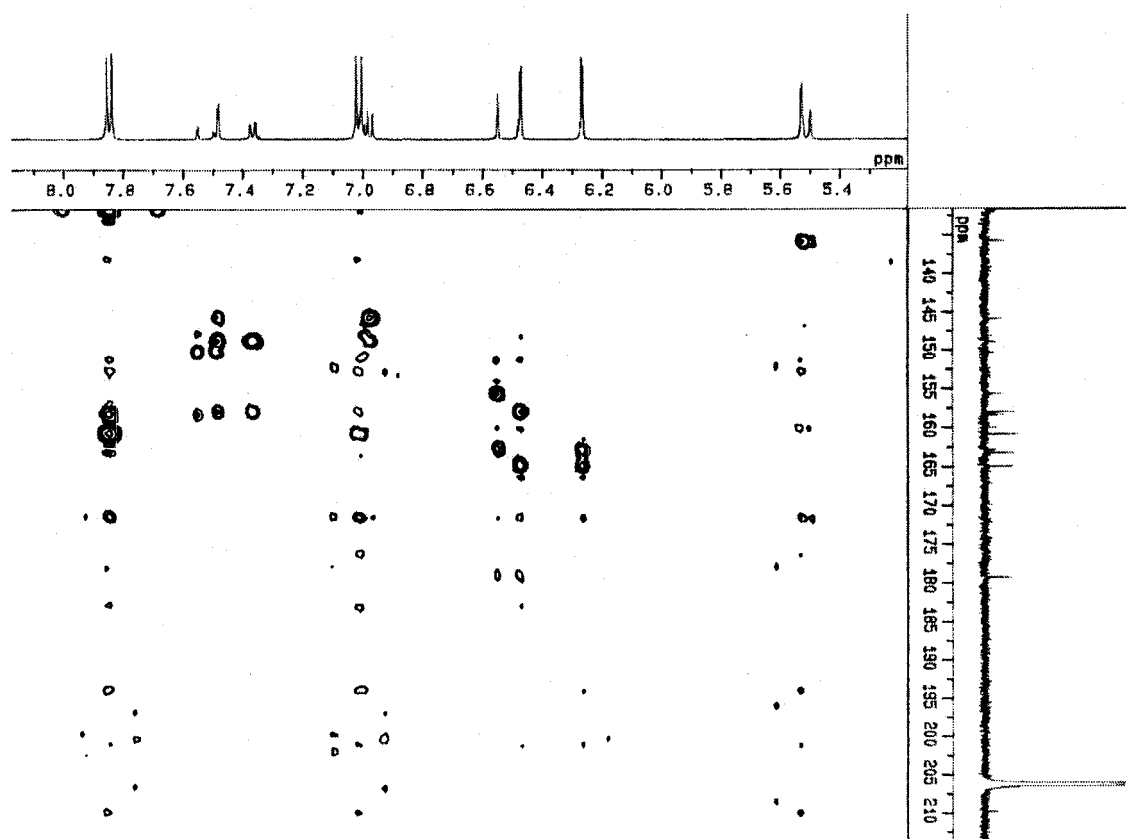


Figure 22 HMBC spectrum of compound B-5 (acetone- $d_6$ )

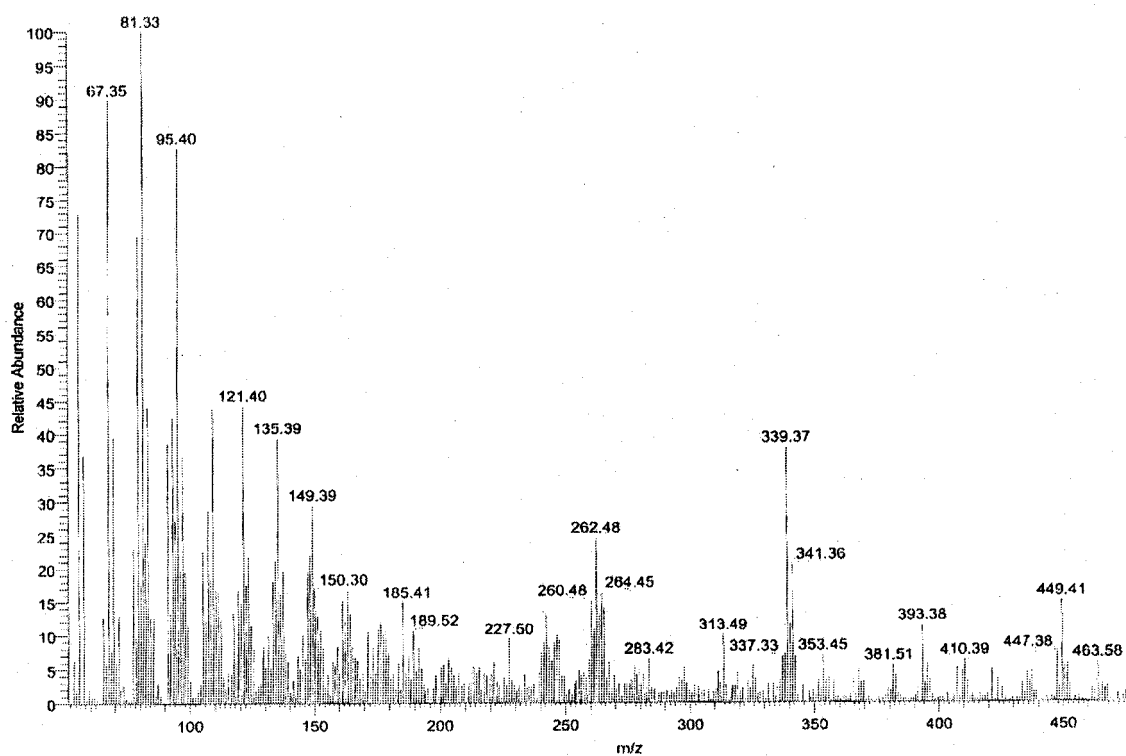


Figure 23 EI mass spectrum of compound B-6

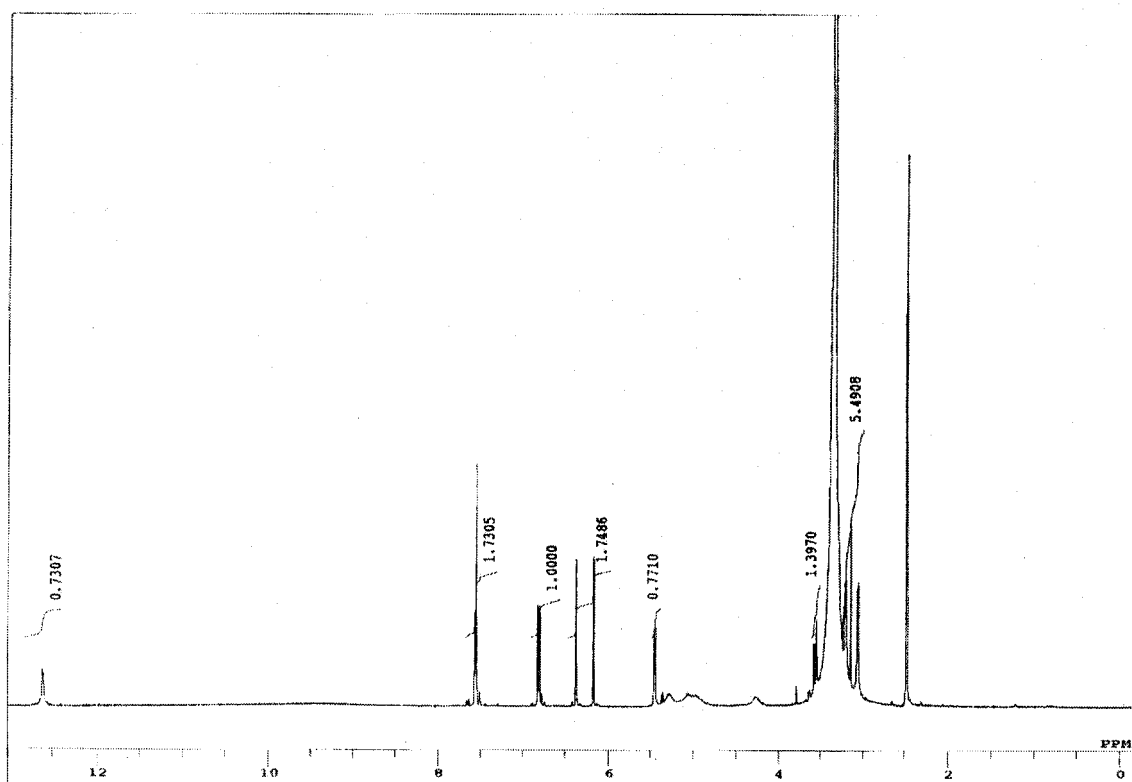


Figure 24  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) of compound B-6 ( $\text{DMSO}-d_6$ )

Chemical shifts (ppm) listed on the right side of the spectrum:

- 3.679.12
- 3.676.93
- 3.635.92
- 3.632.72
- 3.627.56
- 3.625.36
- 2.945.57
- 2.927.13
- 2.924.98
- 2.920.79
- 2.876.23
- 2.873.26
- 2.859.54
- 2.851.53
- 1.962.40
- 1.944.46
- 1.917.13
- 1.900.38
- 1.887.79
- 1.879.30
- 1.875.81
- 1.833.98
- 1.829.67
- 1.821.98
- 1.817.77
- 1.807.63
- 1.808.43
- 1.800.79
- 1.775.39
- 1.766.83
- 1.757.73
- 1.744.00
- 1.734.66
- 1.723.87
- 1.722.58
- 1.720.93
- 1.719.28
- 1.717.63
- 1.715.99
- 1.701.77
- 1.688.14
- 1.679.64
- 1.659.57

**Figure 26**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) of compound B-6 (methanol- $d_4$ )

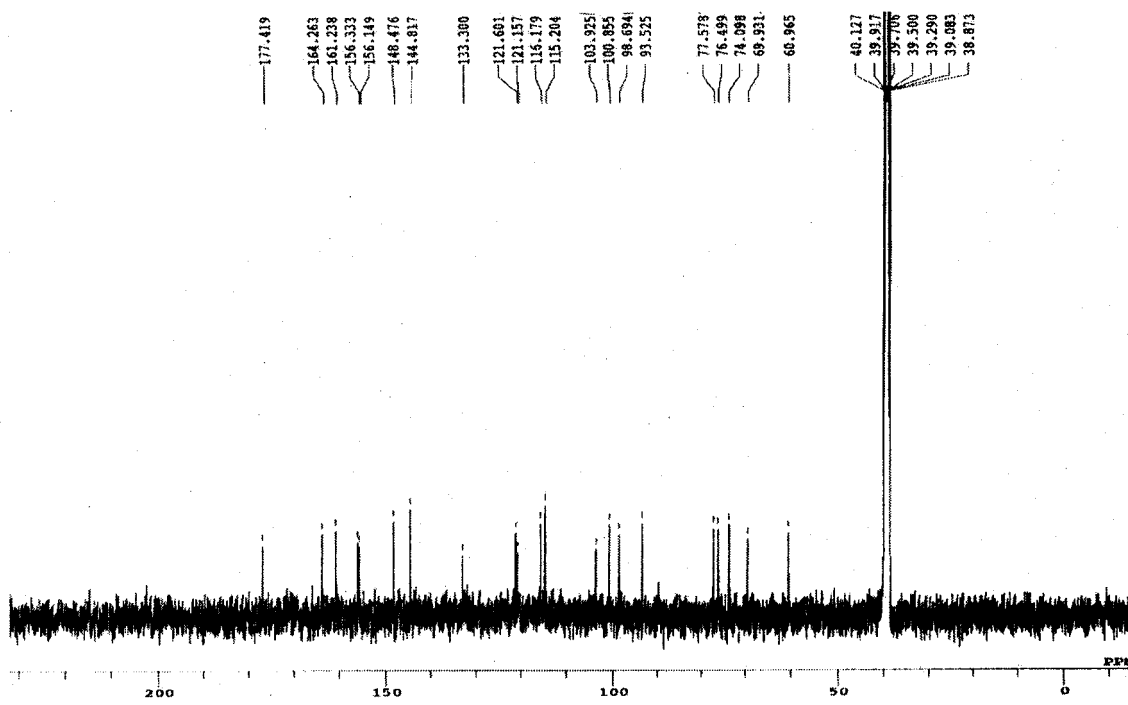


Figure 27  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) of compound B-6 ( $\text{DMSO}-d_6$ )

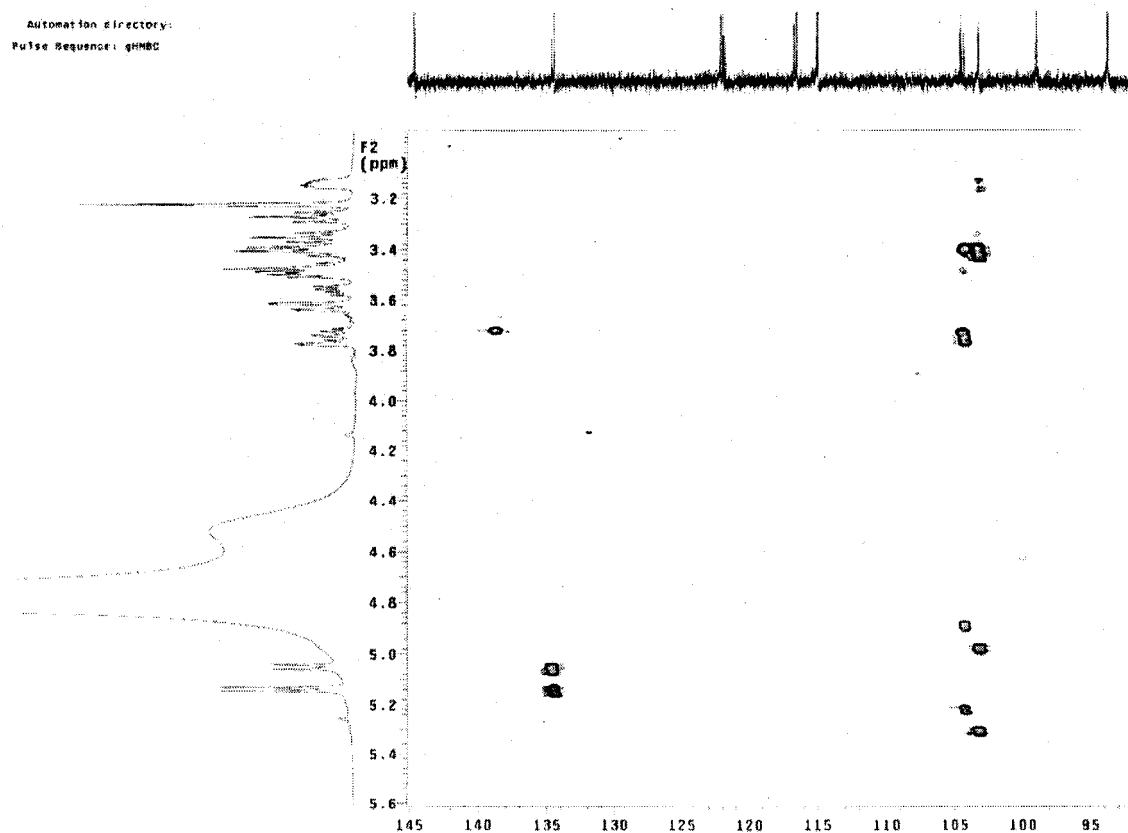


Figure 28 HMBC spectrum of compound B-6 ( $\text{acetone}-d_6$ )

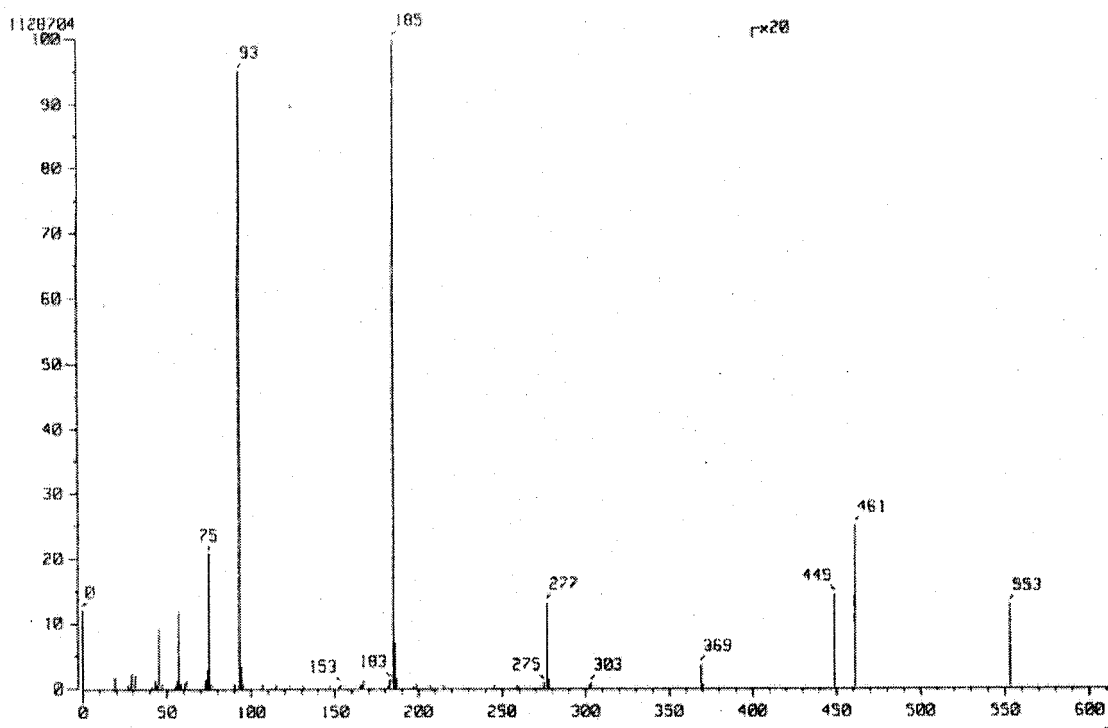


Figure 29 FAB mass spectrum of compound B-7

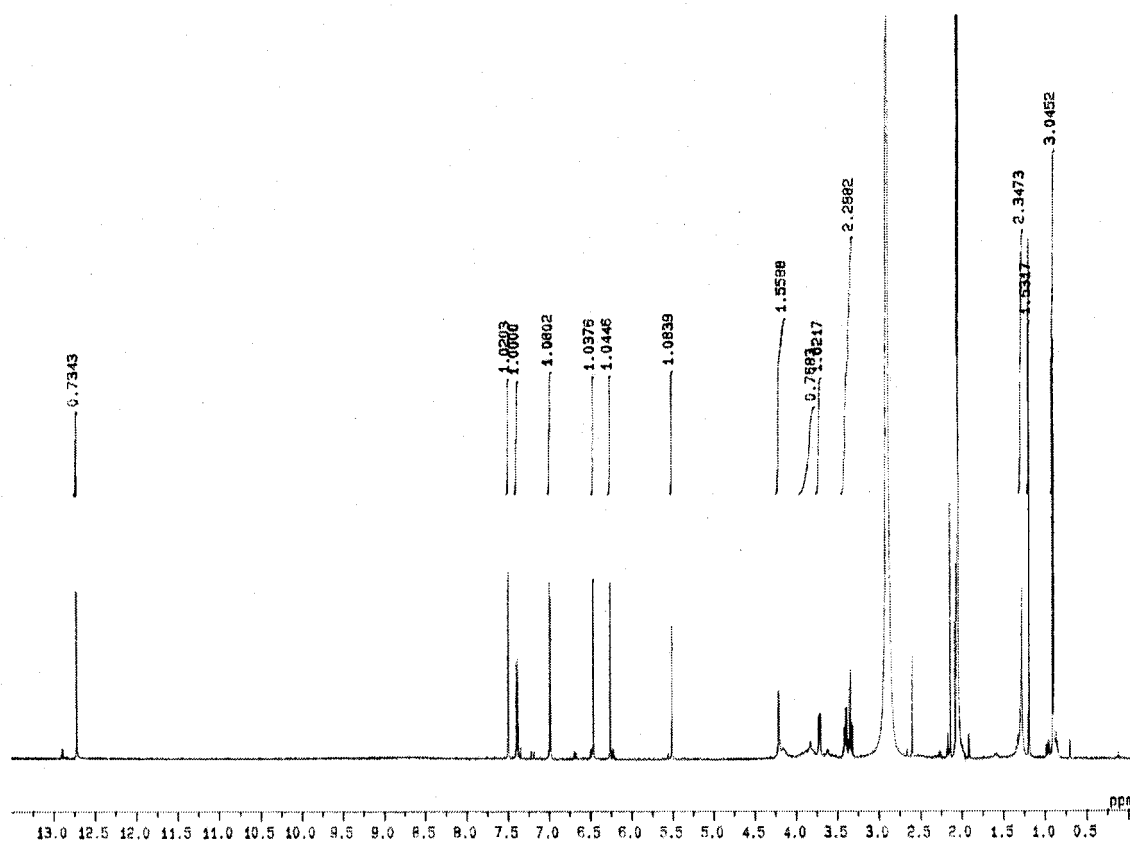


Figure 30  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) of compound B-7 (acetone- $d_6$ )

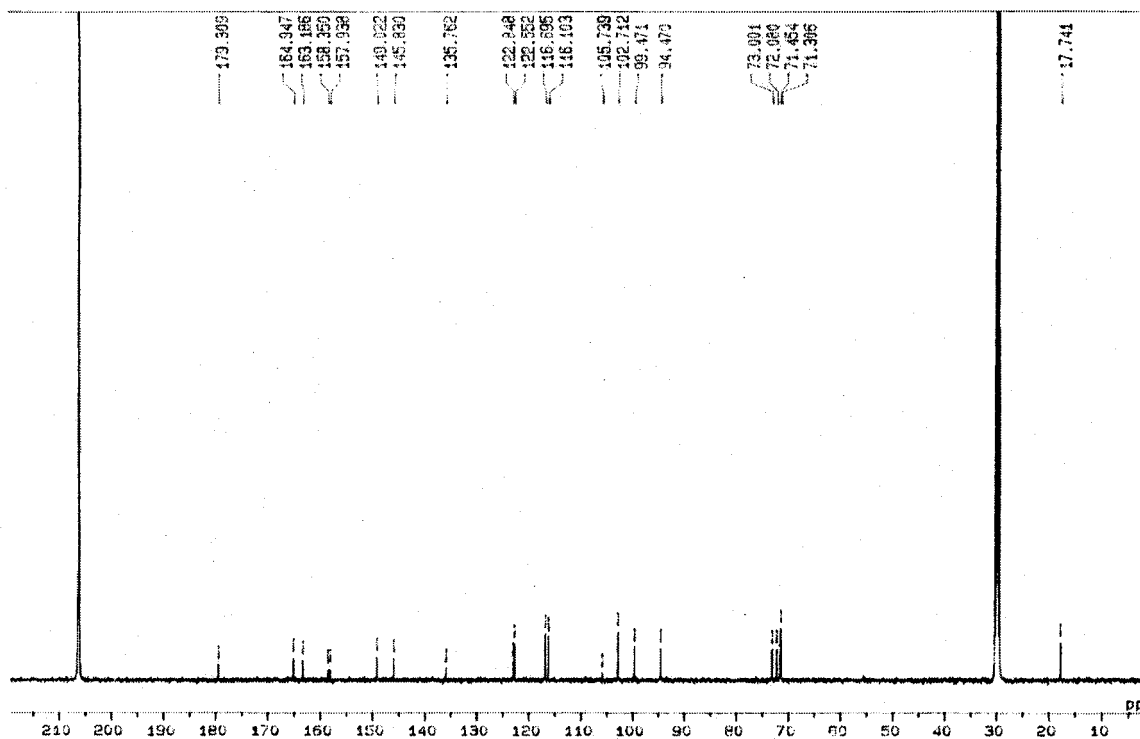


Figure 31  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) of compound B-7 (acetone- $d_6$ )

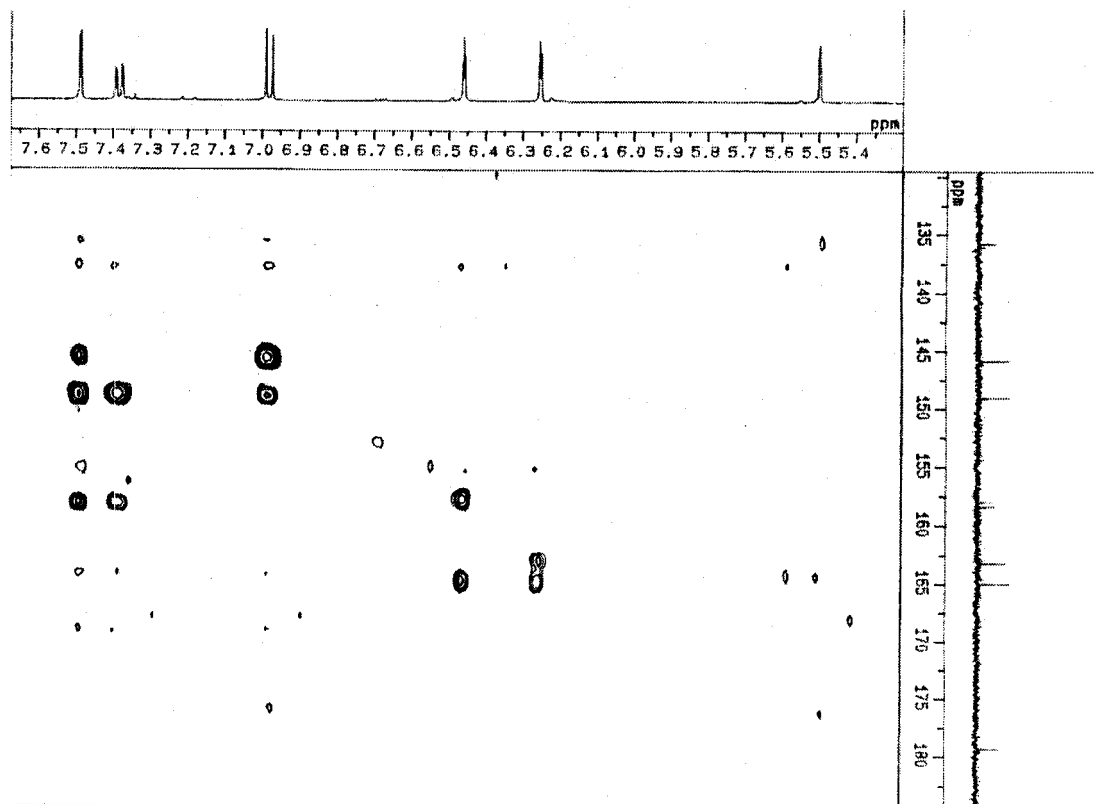


Figure 32 HMBC spectrum of compound B-7 (acetone- $d_6$ )



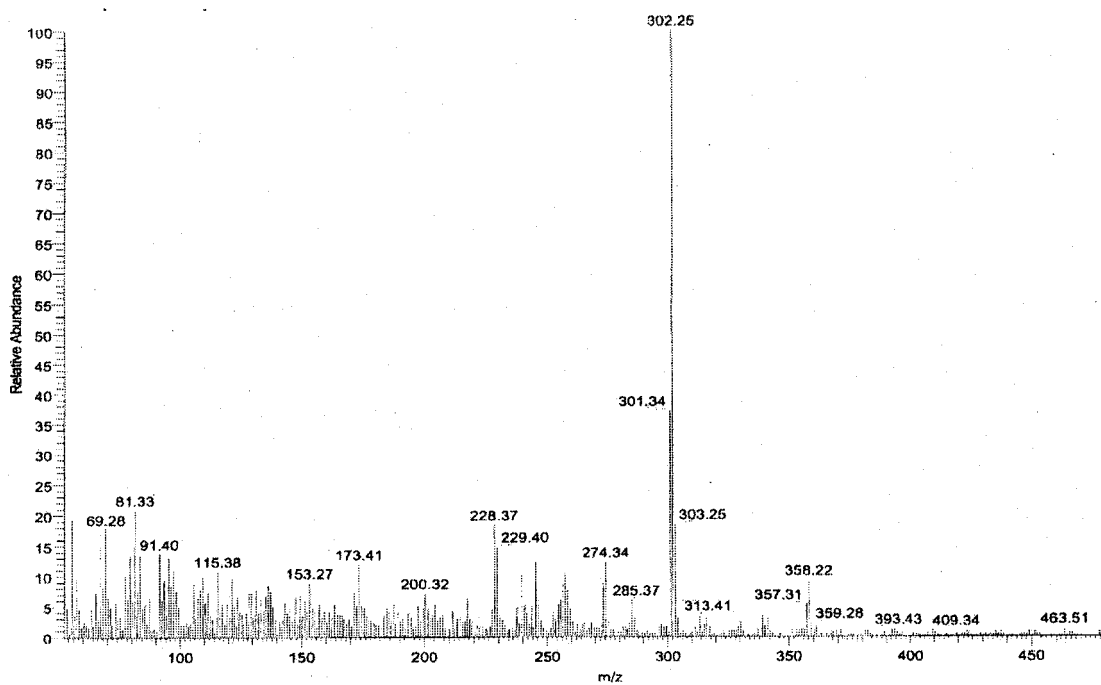


Figure 33 EI mass spectrum of compound B-8

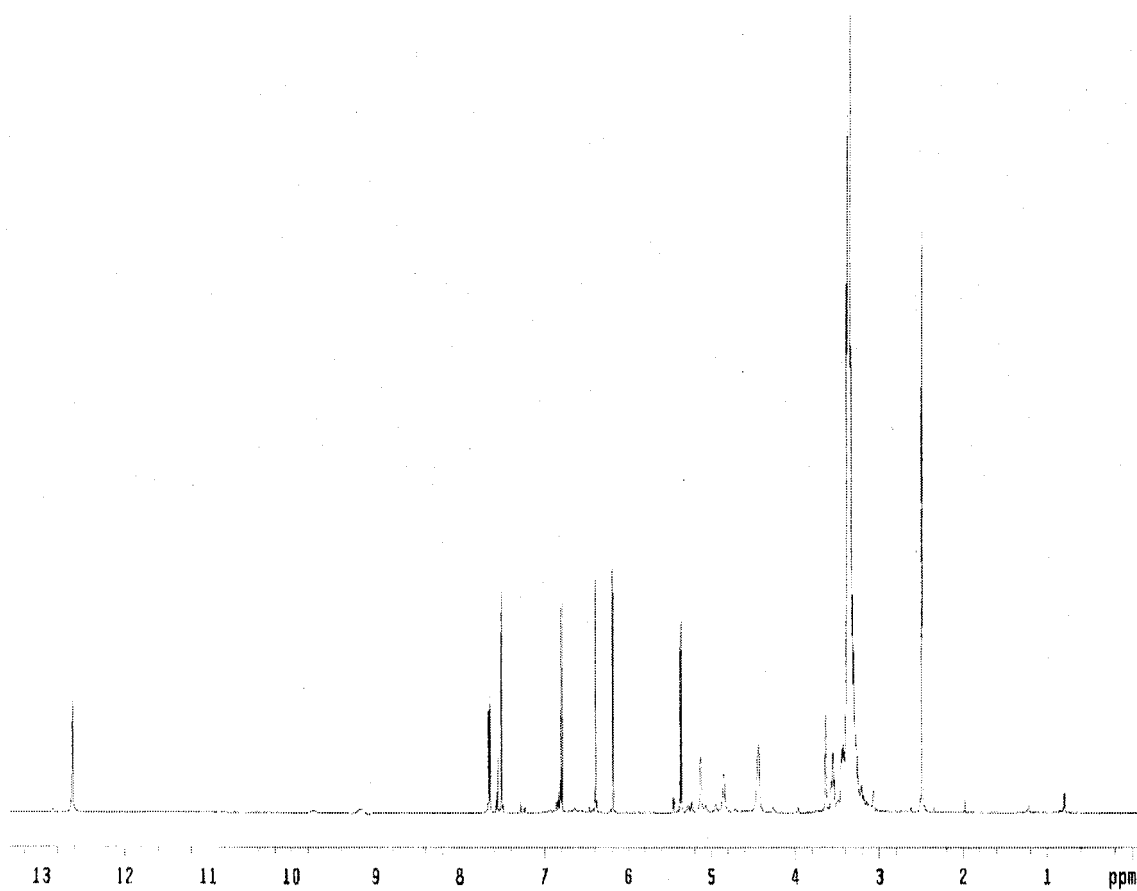
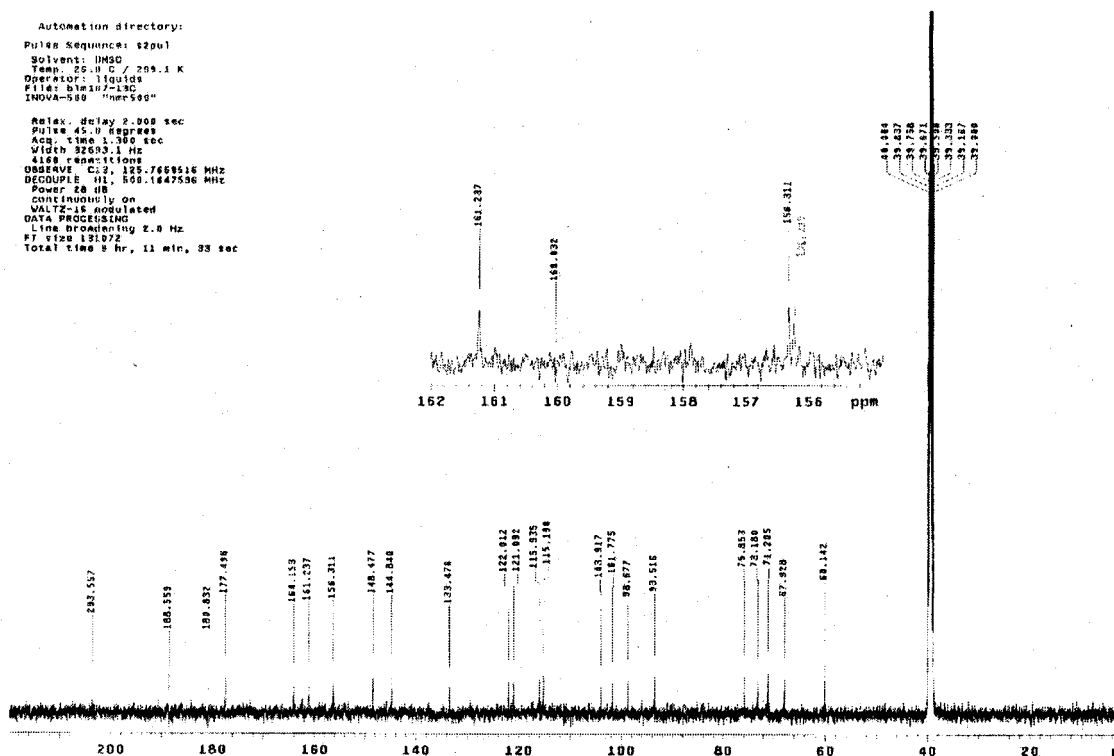


Figure 34  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) of compound B-8 ( $\text{DMSO}-d_6$ )

Automation directory:  
 Pulse Sequence: g2pul  
 Solvent: DMSO  
 Temp: 25.0 C / 298.1 K  
 Operator: liquids  
 File: b1m107-13C  
 INOVA-500 "hmr500"  
 Relax. delay 2.000 sec  
 Pulse 45.0 degrees  
 Acq. time 1.360 sec  
 Width 32693.1 Hz  
 4168 repetitions  
 OBSERVE C13, 125.7668516 MHz  
 DECOUPLE H1, 500.1647536 MHz  
 Power 28 dB  
 continuously on  
 WALTZ-16 modulated  
 DATA PROCESSING  
 Line broadening 2.0 Hz  
 FT size 131072  
 Total time 5 hr, 11 min, 33 sec



### บรรณานุกรม

- สมภพ ประธานธรรมาลักษณ์. (2539) **อนุกรมวิธานพืชสมุนไพร** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรินติ้ง เฮาส์.
- วงศ์สถิต นั้วกุลและนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2540) สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี 1 **วารสารสมุนไพร** 4(2): 29-41.
- วงศ์สถิต นั้วกุลและพร้อมจิต ศรีลัมพ์. (2541) สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี 2 **วารสารสมุนไพร** 5(1): 21-51.
- วงศ์สถิต นั้วกุลและฉวี ใจแก้ว. (2541) สมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานี 3 **วารสารสมุนไพร** 5(2): 28-56.
- ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศและนิจศิริ เรืองรังสี. (2548) องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของต้นสิรินธรวัลดี **วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์** 19: 13-19.
- Achenbach, H., Stocker, M., and Constenla, A. M. (1988) Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca* **Phytochemistry** 27: 1835-1841.
- Almanza, G.R. Mollinedo, P.A., Vila, J.L., Callapa, G., and Sauvain, M. (2001) Flavonoids of *Bauhinia guianensis* **Res. Bolivia. Quim.** 18: 47-52.
- Anjaneyulu, A.S.R., Reddy, A. V.R., and Reddy, D.S.K. (1986) Racemosol: a new tetracyclic phenol from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron** 42: 2417-2420.
- Apisantiyakom, S., Kittakoop, P., Manyum, T., Kirtikara, K., Bremner, J.B., and Thebtaranonth, Y. (2004) Novel biologically active bibenzyls from *Bauhinia saccocalyx* Perre. **Chem. Biodivers.** 1: 1694-1701.
- Bhartiya, H.P., Dubey, P., Katiyar, S.B., and Gupta, P.C. (1979) A new chalcone glycoside from *Bauhinia purpurea* **Phytochemistry** 18: 689.
- Bhartiya, H.P., and Gupta, P.C. (1981) A chalcone glycoside from the seeds of *Bauhinia purpurea* **Phytochemistry** 20: 2051.
- Braca, A., Tommasi, N.D., Bari, L.D. Pizza, C., Politi, M., and Moreli, I. (2001) Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis* **J. Nat. Prod.** 64: 892-895.
- Chang, L.C. and Kinghorn, A.D. in Tringali, C.ed. (2001) **Bioactive Compounds from Natural Sources** Great Britain: Taylor and Francis.
- Chen, C.C., Chen, Y.P., Hsu, H.Y., and Chen, Y.H. (1984) New flavones from *Bauhinia championii* Benth. **Chem. Pharm. Bull.** 32: 166-169.

- Dewick, P.M. (1998) **Medicinal natural products** Great Britain: John Wiley and sons LTD.
- Duret, S., and Paris, R.R. (1977) Nepalese plants. V. The flavonoid of several species of *Bauhinia*: *B. vahhii*, *B. variegata* and *B. malabarica* (Leguminosae) **Plant Med. Phytother.** 11: 213.
- Estrada, O., Hasegawa, M., Gonzales-Mujica, F., Motta, N., Perdomo, E., Solorzano, A., Mendez, J., Mendez, B., and Zea, E.G. (2005) Evaluation of flavonoids from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase system **Phytother. Res.** 19: 859-863.
- Fernandez, J., Reyes, R., Ponce, H., Oropeza, M., VanCalsteren, M.R., Jankowski, C., and Campos M.G. (2005) Isoquercitrin from *Argemone platyceras* inhibits carbachol and leukotriene D<sub>4</sub>-induced contraction in guinea-pig airways. **European J. Pharmacol.** 552:108-115.
- Fort, D.M., Jolad, S.D., and Nelson, S.T. (2001) Lithospermide from *Bauhinia fassoglensis* (Fabaceae) **Biochem. Sys. Ecol.** 29: 439-441.
- Gupta, A.K., Vidyapati, T.J., and Chauhan, J.S. (1980) Chemical examination of the stem of *Bauhinia variegata* Linn. **Planta Med.** 38: 174-176.
- Harborne, J.B. (1994) **The Flavonoids : Advances in research since 1986** Cambridge University Press, Great Britain.
- Hattori, M., Huang, X.C., Che, Q.M., Kawata, Y., Tezuka, Y., Kikuchi, T., and Namba, T. (1992) 6-hydroxy kaempferol and its glycosides from *Cathamus tinctorius* petals **Phytochemistry** 31: 4001-4004.
- Ibewuiké, J.C., Ogundaini, A.O., Ogungbamila, F.O., Martin, M.T., Gallard, J.F., Bohlin, L., and Pais, M. (1996) Pilostigmin, a 2-phenoxychromane, and c-methylflavonols from *Piliostigma thonningi* **Phytochemistry** 43: 687-690.
- Iribarren, A.M., and Pomilio, A.B. (1983) Components of *Bauhinia candicans* **J. Nat. Prod.** 46: 752-753.
- Iribarren, A.M., and Pomilio, A.B. (1984) Sitosterol-3-O- $\beta$ -xylopyranoside from *Bauhinia candicans* **Phytochemistry** 23: 2087-2088.
- Iribarren, A.M., and Pomilio, A.B. (1985) Sitosterol-3-O- $\beta$ -riburonofuranoside from *Bauhinia candicans* **Phytochemistry** 24: 360-361.

- Iribarren, A.M., and Pomilio, A.B. (1987) Sitostero-3-O- $\alpha$ -D-xyluronofuranoside from *Bauhinia candicans* **Phytochemistry** 26: 857-858.
- Jain, S., and Srivastava, B.K. (2001) Flavonoids from the seed coat of *Bauhinia racemosa* **Oriental J. Chem.** 17: 521-522.
- Jenkins, T., Bhattacharyya, J., Majetich, G., Teng, Q., de Fatima, A.M., and Almedia, R. (1999) Flavonoids from the root bark of *Dioclea grandiflora* **Phytochemistry** 52: 723-730.
- Kang, T.H., Jeong, S.J., Kim, N.Y., Higuchi, R., and Kim, Y.C. (2000) Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizia julibrissin* Durazz **J. Ethnopharmacol.** 71: 321-323.
- Kittakoop P., Kirtikara K., Tanticharoen M., and Thebtaranonth Y. (2000) Antimalarial preracemosols A and B, possible biogenetic precursors of racemosol from *Bauhinia malabarica* Roxb. **Phytochemistry** 55: 349-352.
- Kuo, Y-H., Yeh, M-H., and Huang, S-L. (1998) A novel 6-butyl-3-hydroxyflavanone from heartwood of *Bauhinia purpurea* **Phytochemistry** 49: 2529-2530.
- Larsen, K., Larsen, S.S., Vidal, J.E. In Smitinand, T and Larsen, K. eds. (1985) **Flora of Thailand Vol. IV Part I** Bangkok: The Tistr Press.
- Laux, D.O., Stefani, G.M., and Gottlieb, O.R. (1985) Bausplendin, a dimethylenedioxyflavone from *Bauhinia splendens* **Phytochemistry** 24: 1081-1084.
- Magalhaes, A.F., Azevedo Tozzi, M.A., Helena, B., Sales, L.N., and Magalhaes, E.G. (1996) Twenty-three flavonoids from *Longchocarpus subglaucescens* **Phytochemistry** 42: 1459-1471.
- Maillard, M.P., Recio-Iglesias, M.C., Saadou, M., Stoeckli-Evans, H., and Hostettmann, K. (1991) Novel antifungal tetracyclic compound from *Bauhinia rufescens* Lam. **Helv. Chim. Acta** 74, 791-799.
- Markham, K.R., Terni, B., Stanley, R., and Mabry, T.J. (1978) Carbon-13 NMR studied of Flavonoids III **Tetrahedron** 34: 1389-1397.
- Matthes, H.W.D., Luu, B., and Ourisson, G. (1980) Cytotoxic components of *Zingiber zerumbet*, *Curcuma zedoaria* and *C. domestica* **Phytochemistry** 19: 2643-2650.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and van Beek, T.A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts **Food. Chem.** 85: 231-237.

- Okuwute, S.K., Ndukwe, G.I., Watanabe, K., and Ohno, N. (1986) Isolation of griffolide from the stem bark of *Bauhinia thonningii* **J. Nat. Prod.** 49: 716-717.
- Papus, M.A. (1998) **Antioxidants status, diet, nutrition and health** New York: CRC Press
- Pettit, G.R., Nuramata, A., Iwamoto, C., Usami, Y., Yamada, T., Ohishi, H., and Gordon, M.C. (2006) Antineoplastic agents. 551. Isolation and structures of bauginiastatins 1-4 from *Bauhinia purpurea* **J. Nat. Prod.** 69: 323-327.
- Prabhakar, P., Gandhidasan, R., Raman, P.V., Krisnasamy, N.R., and Nanduri, S. (1994) De-O-methylracemosol: a tetracyclic 2,2-dimethylchroman from the roots of *Bauhinia racemosa* **Phytochemistry** 36: 817-818.
- Seyoum, A., Asres, K., and El-Fiky, F.K. (2006) Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Phytochemistry** 67:2058-2070.
- Torssell, K.G.B. (1997) **Natural Product Chemistry** Sweden: Swedish Pharmaceutical Press.
- Viana, E.P. Santa-Rosa, R.S., Almeida, S.S.M.S., and Santos, L.S. (1999) Constituents of the stem bark of *Bauhinia guianensis* **Fitoterapia** 70: 111-112.
- Yadava, R.N., and Tripathi, P. (2000) A novel flavone glycoside from the stem of *Bauhinia purpurea* **Fitoterapia** 71: 88-90.
- Yadava, R.N., and Sodhi, S. (2001) A novel flavone glycoside 6,4'-dihydroxy-3'-prenyl-3,5,7,5'-tetramethoxyflavone-6-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside from the seeds of *Bauhinia purpurea* **Asian J. Chem.** 13: 529-533.
- Yadava, R.N., and Reddy, V.M.S. (2001) A new flavone glycoside, 5-hydroxy-7,3',4',5'-tetramethoxyflavone 5-O- $\beta$ -D-xylanopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside from *Bauhinia variegata* Linn. **J. Asian Nat. Prod. Res.** 3: 341-346.
- Zhou, Y-Y., Cui, C-B., Cai, B., Han, B., and Sun, Q-S. (2005) A new phenanthraquinone from the stems of *Bauhinia variegata* L. **J. Asian Nat. Prod. Res.** 7: 835-838.

ภาคผนวก

ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมที่วางแผน กิจกรรมที่ดำเนินการ ผลที่ได้รับ

กิจกรรม (ตามแผน)	กิจกรรมที่ดำเนินการ	ผลที่ได้รับ
เก็บรวบรวมพืชและเตรียมวัสดุและอุปกรณ์	เก็บรวบรวมพืชและเตรียมวัสดุและอุปกรณ์	ได้ตัวอย่างพืชและพร้อมที่จะทำการทดลองต่อไป
การสกัดสาร	การสกัดสาร	ได้สารสกัด
วิเคราะห์ปริมาณ flavonoid ในพืชสมุนไพร	วิเคราะห์ปริมาณ flavonoid ในพืชสมุนไพร	ทราบปริมาณ flavonoid ในพืชสมุนไพรและได้นำพืชที่มีปริมาณ flavonoid มากที่สุดไปแยกบริสุทธิ์ต่อไป
การแยกสารให้บริสุทธิ์	การแยกสารให้บริสุทธิ์	ได้สารบริสุทธิ์
การศึกษาสูตรโครงสร้างสารที่แยกได้	การศึกษาสูตรโครงสร้างสารที่แยกได้	ทราบสูตรโครงสร้างสารที่แยกได้
วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย	วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย	วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัยได้
เขียนรายงานการวิจัย	เขียนรายงานการวิจัย	ได้รายงานการวิจัย

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่จากบางส่วนของโครงการวิจัยนี้

Kaewamatawong, R., Kitajima, M., Kogure, N., and Takayama, H. 2008. Flavonols from *Bauhinia malabarica*. Journal of Natural Medicines. DOI 10.1007/s11418-008-0249-9.



สรุปการใช้จ่ายงบประมาณโครงการวิจัย

รายการ	จำนวน
หมวดค่าใช้สอย	146,125.00
หมวดค่าตอบแทน	217,018.40
หมวดค่าวัสดุ	136,842.95
รวม	499,986.35

## ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) (นาย,นาง,นางสาว) นางสาว ระวีวรรณ แก้วอมดวงค์  
(ภาษาอังกฤษ) (Mr.,Mrs.,Miss) Miss Rawiwun Kaewamatawong

2. เพศ หญิง

3. ตำแหน่งปัจจุบัน (อาจารย์,ผศ.,รศ.,ศ.) ผศ.ระดับ 8

4. ที่อยู่ (ที่ทำงาน)

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 85 ถ.วาริน-เดชอุดม อ.วารินชำราบ

จังหวัด อุบลราชธานี รหัสไปรษณีย์ 34190

โทรศัพท์ 045-353670 โทรสาร 045-288384

5. ประวัติการศึกษา

5.1 ปริญญาตรีสาขา เกษศาตร์ สถาบัน มหาวิทยาลัยรังสิต ปีที่สำเร็จ 2537

5.2 ปริญญาโทสาขา เกษศาตร์ สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีที่สำเร็จ 2539

5.3 ปริญญาเอกสาขา เกษศาตร์เคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีที่สำเร็จ 2546

6. ผลงานวิจัยย้อนหลังตั้งแต่ปี ค.ศ. 2002 ถึงปัจจุบัน

### 6.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

- Likhitwidayawud, K., Kaewamatawong, R., Ruangrunsi. 2005. Mono- and biflavonoids from *Ochna integerrima*. Biochemical Systematics and Ecology., 33: 527-536.

- Kaewamatawong, R., Likhitwidayawud, K., Ruangrunsi, N. 2007. Chemical constituents of *Polyalthia parviflora*. Journal of Natural Medicines, 61: 349-350.

- Kaewamatawong, R., Kitajima, M., Kogure, N., Takayama, H. 2008. Flavonols from *Bauhinia malabarica*. Journal of Natural Medicines. DOI 10.1007/s11418-008-0249-9.

### 6.2 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ

- ระวีวรรณ แก้วอมดวงค์และทรงพร จึงมั่นคง. 2549.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPHและปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วารสารวิชาการ ม.อบ., 8: 76-88.