

การสกัดและตรวจสอบแอลกอฮอล์เบื้องต้นจากกรอบตลับ

สมใจ หมายมั่น

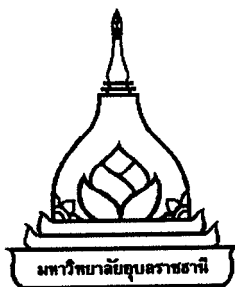
การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2549

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



**EXTRACTION AND PRELIMINARY DETECTION OF ALKALOIDS
FROM *ABUTILON INDICUM***

SOMJAI MAIMUN

**AN INDEPENDENT STUDY SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN SCIENCE EDUCATION
FACULTY OF SCIENCE
UBON RAJATHANEE UNIVERSITY**

YEAR 2006

COPYRIGHT OF UBON RAJATHANEE UNIVERSITY



ใบรับรองการค้นคว้าอิสระ
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์

เรื่อง การสกัดและตรวจสอบแอลคาลอยด์เบื้องต้นจากครอบตลับ

ผู้วิจัย นายสมใจ หมายมัน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. โชติ จิตรังษี) อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ดร.พินกร แก้วอินทร์) กรรมการ

.....
(ดร.อภิรักษ์ พันธุมชัย) กรรมการ

.....
(ดร.จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ) คณบดี

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รับรองแล้ว

.....
(ศาสตราจารย์ ดร. ประกอบ วิโรจน์กูฏ)

อธิการบดี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2549

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยเรื่อง การสกัดและการตรวจสอบแอลคาลอยด์ที่เป็นสมุนไพรจากครอบครัวสำเร็จลงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ทินกร แก้วอินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้คอยดูแล รวมทั้งให้ข้อมูลและความรู้ที่ต้องใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. โชติ จิตรังษี อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ช่วยให้คำแนะนำพร้อมทั้งชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนให้กำลังใจ ให้คำปรึกษาในการแก้ปัญหา และตรวจสอบจนรายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือ และให้คำชี้แนะ พร้อมทั้งให้ความอนุเคราะห์ในทุก ๆ อย่าง ขอกราบขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่อนุเคราะห์สถานที่ สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ตลอดการทำวิจัย

(นายสมใจ หมายมั่น)

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การสกัดและตรวจสอบแอลคาลอยด์เบื้องต้นจากครอบตลับ

โดย : สมใจ หมายมั่น

ชื่อปริญญา : ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : วิทยาศาสตร์ศึกษา

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. โชติ จิตรัมย์

ศัพท์สำคัญ : ครอบตลับ แอลคาลอยด์ น้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์ ปฏิกริยาการเกิดสี

ผลการศึกษาการสกัดและตรวจสอบชนิดของแอลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์ทางยา จากผล ลำต้น และ ใบของสมุนไพรครอบตลับโดยการหมักด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และ น้ำ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่าความสามารถในการสกัดของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด เรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไป ตรวจสอบ เพื่อยืนยันว่ามีสารแอลคาลอยด์ โดยใช้ น้ำยาดกตะกอนพบว่าให้ผลเป็นบวก ต่อ น้ำยาดกตะกอนทั้ง 6 ชนิดคือ Dragendorff's, Hager's, Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent แสดงให้เห็นว่าในสารสกัดทุกชนิดมีสารแอลคาลอยด์ เมื่อนำสารสกัดไปตรวจสอบแอลคาลอยด์เฉพาะกลุ่ม โดยใช้ปฏิกิริยาเฉพาะและปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล และไอโซควิโนลีนเพื่อยืนยันว่าเป็นแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดลและไอโซควิโนลีน น้ำยาที่ใช้ทดสอบได้แก่ กรดกำมะถันเข้มข้น กรดไนตริกเข้มข้น และ Erdmann's reagent จากผลการตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีสามารถยืนยันได้ว่าใน ใบ ลำต้น และผลของครอบตลับ จะมีสารซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล และ ไอโซควิโนลีน

ABSTRACT

TITLE : EXTRACTION AND PRELIMINARY DETECTION OF ALKALOIDS
FORM *ABUTILON INDICUM*

BY : SOMJAI MAIMUN

DREGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : SCIENCE EDUCATION

CHAIR : ASSOC. Ph.D.CHOTE JITRANGSRI

KEYWORDS : *ABUTILON INDICUM* / ALKALOIDS / ALKALOID PRECIPITATING
COLOR TEST

The study of extraction and qualitative analysis of alkaloids from *Abutilon indicum* with the maceration method of four solvents methanol, ethanol, acetone and water at the standard temperature for 168 hours showed that the extraction abilities of them from the most to less effective order were as follow; methanol, ethanol, acetone and water. The residue were analysed with the alkaloid detecting agents to confirm alkaloids and then the positive result had been found to all of the 6 alkaloid precipitating reagents Dragendorffs, Hager's, Krant's, Mayer's Valser's and Wagner's reagent. This result showed alkaloids in all residues. The residues were determined with specific test and color test of indole alkaloids and isoquinoline by using concentrate sulfuric acid, concentrate nitric acid Erdmann's reagent, it was able to confirm from color test that there were indole alkaloids and isoquinoline in the leaves, trunks and fruit of *Abutilon indicum*

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญในการวิจัย	1
1.2 ความสำคัญและปัญหา	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ลักษณะทั่วไปของกรอบคัลป์	5
2.2 แอลคาลอยด์	6
2.3 สมบัติและประโยชน์ของแอลคาลอยด์	8
2.4 การแบ่งประเภทแอลคาลอยด์	9
2.5 การสกัดแอลคาลอยด์	17
2.6 การสกัดด้วยตัวทำละลาย	19
2.7 การเลือกตัวทำละลายในการสกัดในการสกัด	20
2.8 วิธีสกัด	21
2.9 การตรวจสอบแอลคาลอยด์	22

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3. การทดลอง	
3.1 การเตรียมเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมี	24
3.2 ขั้นตอนการเตรียมสมุนไพรก่อนการสกัด	25
3.3 การสกัดแอลคาลอยด์โดยวิธีการหมัก	25
3.4 การตรวจสอบเพื่อยืนยันว่ามีแอลคาลอยด์	28
3.5 การตรวจพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์โดยการทดสอบด้วย ปฏิกิริยาเคมีเฉพาะกลุ่ม	29
4. ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 การสกัดสารจากครอบตลับ	32
4.2 การทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยน้ำยาตกตะกอนทั่วไป	38
4.3 การพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์โดยการทดสอบด้วยปฏิกิริยา เคมีเฉพาะกลุ่ม	42
4.4 การพิสูจน์ปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล	48
5. วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง	
5.1 สรุปผลการทดลอง	51
5.2 วิจารณ์การทดลอง	52
5.3 ข้อเสนอแนะ	52
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	56
ก. การเตรียมรีเอเจนต์	57
ข. การทดสอบรีเอเจนต์กับตัวทำละลายบริสุทธิ์	60
ค. การคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของแอลคาลอยด์	67
ประวัติผู้วิจัย	70

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงน้ำยาตกตะกอน ส่วนประกอบและสีของตะกอนที่ได้จากการตรวจสอบ เพื่อยืนยันว่ามีสารแอลคาลอยด์	28
4.1 แสดงลักษณะสารละลายของใบ เมื่อหมักด้วย เอทานอล แอซีโตนและน้ำ เป็นเวลา 3, 24, 72, 120, และ 168 ชั่วโมงก่อนกรองและระเหยแห้ง	33
4.2 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของใบกรอบตลับ น้ำหนักของสารสกัด และร้อยละ โดยน้ำหนัก ของสารสกัด เมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอลแอซีโตน และน้ำ	34
4.3 แสดงลักษณะสารละลายของลำต้น เมื่อหมักด้วย เมทานอล เอทานอลแอซีโตน และน้ำเป็นเวลา 3, 24, 72, 120, และ 168 ชั่วโมง และลักษณะ ของสารสกัดหลังกรอง และระเหยแห้ง	35
4.4 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของลำต้นกรอบตลับ น้ำหนักของสารสกัดและร้อยละ โดยน้ำหนักของสารสกัด เมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ	36
4.5 แสดงลักษณะของสารละลายของผล เมื่อหมักด้วย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ เป็นเวลา 3, 24, 72, 120, และ 168 ชั่วโมง และลักษณะของสารสกัด หลังกรองและระเหยแห้ง	37
4.6 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของผลกรอบตลับ น้ำหนักของสารสกัด และร้อยละโดยน้ำหนัก ของสารสกัด เมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ	38
4.7 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของใบ	39
4.8 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของลำต้น	40
4.9 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของผล	41
4.10 การทดสอบด้วย Vitali-motion Reaction	42
4.11 การทดสอบด้วย Rathenasinkam Reaction	43

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 การทดสอบด้วย Ninhydrin test	43
4.13 การทดสอบด้วย Chen's test	44
4.14 การทดสอบด้วย Fluorescence test	45
4.15 การทดสอบด้วย Thalleiquin test	45
4.16 การทดสอบด้วย Froehde's reagent ที่อุณหภูมิ 25°C	46
4.17 การทดสอบด้วย Froehde's reagent ที่อุณหภูมิ 80°C	47
4.18 การทดสอบด้วย Mandelin's reagent	47
4.19 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคลของใบ	48
4.20 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคลของลำต้น	49
4.21 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคลของผล	49
ข.1 สีของสารละลายเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาคตะกอนแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิด	61
ข.2 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มโทรเพน กับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	62
ข.3 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์ กลุ่มอีพรีดรีน กับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	63
ข.4 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มควิโนลีน กับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	64
ข.5 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคล กับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	65
ข.6 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์ กลุ่มไอโซควิโนลีนกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	66
ข.7 สีของตะกอนเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาคตะกอนแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิด	66
ค.1 ร้อยละ โดยน้ำหนักของสารสกัดที่ได้หลังจากปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยแห้ง	69

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของครอบตลับ	5
2.2	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Pyridine	10
2.3	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Imidazole	11
2.4	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Nor-lupinane	11
2.5	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Purine	11
2.6	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Tropane	12
2.7	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Quinoline	12
2.8	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Isoquinoline	13
2.9	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Indole	13
2.10	ตัวอย่างสูตร โครงสร้างของแอลคาลอยด์เออ โกมีทริน	15
2.11	สูตร โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Indole	16

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญในการวิจัย

การศึกษาสารประกอบอินทรีย์ในธรรมชาติ ซึ่งเรียกกันทั่วไปว่า สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural products) มีมาเป็นเวลานาน นักวิทยาศาสตร์พบสิ่งที่น่าสนใจมากมายในกระบวนการสังเคราะห์สารเหล่านี้ในธรรมชาติ (*in vivo* production) สารเหล่านี้จำนวนมากมีประโยชน์ในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ในห้องปฏิบัติการหรือชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) [3]

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป็นสารที่จำเป็นต่อกระบวนการต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต สารที่ให้พลังงานหรือทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของอวัยวะสำคัญ สารเหล่านี้มีสมบัติที่เรียกว่าเป็น biologically active molecules เนื่องจากมีผลต่อกระบวนการของสิ่งมีชีวิต ตัวอย่างสารเหล่านี้ ได้แก่ Toxin, hormones drugs มนุษย์ในสมัยโบราณใช้สารเหล่านี้เป็นยา ยาพิษ เครื่องเทศ ในปัจจุบันมนุษย์ได้ค้นคว้าจนสามารถนำสารประกอบเหล่านี้มาใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง โรคเอดส์ โรคหัวใจบางชนิดและใช้เป็นเครื่องสำอาง

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในพืชสมุนไพรเป็นผลผลิตจากธรรมชาติที่มนุษย์รู้จักนำมาใช้เป็นประโยชน์ เพื่อการรักษาโรคภัยไข้เจ็บ ได้แก่ เรสเซอเพน (Reserpine) พบในพืช *Alstonia constricta* และรากของระย้อมน้อย (*Rauwolfia serpentina*) ในวงศ์เอพอไซนาซีอี (Apocynaceae) เป็นพืชพื้นเมืองทางภาคเหนือของอินเดีย มีฤทธิ์ในการระงับประสาทที่ไม่ทำให้หลับ ใช้เป็นยาลดความดันโลหิต รักษาโรคประสาทและโรคนอนไม่หลับ [7] จิงโกไลด์ บี (ginkgolide B) เป็นสารจากใบแปะก๊วย (*Ginkgo biloba* L.) ในวงศ์ จิงโกซีอี (Ginkgoaceae) ซึ่งนิยมใช้กันมากในวงการแพทย์ทั่วโลก ช่วยป้องกันและรักษาความสมบูรณ์ของเส้นเลือดฝอย ปรับระบบหมุนเวียนของเลือดและต่อต้านการอักเสบ การบวม จึงใช้ในผู้ป่วยที่เลือดไปเลี้ยงสมองไม่พอ ผนังเส้นเลือดแดงทำงานไม่ปกติ ป้องกันการเกิดอัมพาต ใช้กับโรคที่เกี่ยวกับความชรา เช่น วิงเวียน ปวดศีรษะ หูอื้อ ใช้ปรับอารมณ์ผู้สูงอายุ [7] และโคเคน (Cocaine) เป็นแอลคาลอยด์ที่พบในใบของต้นโคคา (*Erythroxylum coca* Lamarck) ในวงศ์

อิริโทรซิลลาซีอี (Erythroxylaceae) ถ้าใช้สารนี้ในปริมาณน้อยจะลดความเมื่อยล้า เพิ่มกำลังใจในการทำงาน และรู้สึกสบาย เมื่อใช้เป็นเวลานานติดต่อกันจะเกิดการติดยา (physical addiction) มีอาการเศร้าซึม หดหู่ (deep depression) ชาวพื้นเมืองในอเมริกาใต้ใช้ประโยชน์ดังกล่าวมานาน ต่อมาในปี พ.ศ.2403 ไนมันน์ (Niemann) ค้นพบสมบัติการเป็นยาชาเฉพาะที่ (local anaesthetics) [4] วงการแพทย์ปัจจุบันต้องอาศัยผลิตภัณฑ์ยาจากธรรมชาติเพื่อเป็นแหล่งผลิตยาในการบำบัดโรค ประมาณร้อยละ 40 ของตำรายารวมทั้งยาสามัญประจำบ้านล้วนมาจากธรรมชาติ [9] นอกจากนี้สมุนไพรในรูปอาหารเสริมสุขภาพ (health foods) หรือยาชง (teas) ประเภทต่าง ๆ ที่มาจากธรรมชาติก็เป็นที่ยอมรับกันมากในตลาดทางเอเชีย ตะวันออก อเมริกา และยุโรป ปัจจุบันประเทศไทยมีการตื่นตัวในเรื่องอาหารเสริมสุขภาพเป็นอันมาก เช่น โสม (*Panax ginseng* C.A. Meyer) เชื่อว่าจะทำให้สุขภาพแข็งแรง กระชุ่มกระชวย มีกำลังวังชา และช่วยให้ร่างกายปรับเข้ากับสภาวะต่าง ๆ ได้ดี [4]

1.2 ความสำคัญและปัญหา

การนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาเพื่อการรักษาโรคนั้น แต่เดิมนำมาใช้ในรูปของพืชสด (fresh plant material) หรือนำมาตากแห้ง (dried plant material) ใช้ในรูปแบบยาต้ม ยาพอก หรือยาประคบ โดยมีได้อาศัยหลักวิทยาศาสตร์แต่อย่างใด ต่อมา มีการนำเอาสารสกัดจากสมุนไพรมาพัฒนาเป็นยาเตรียมง่าย ๆ ซึ่งอาจอยู่ในรูปของสารสกัดอย่างหยาบ (crude extract) เป็นสารสกัดจากสมุนไพรที่นำมาใช้โดยไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ มีส่วนผสมซับซ้อนของสารประกอบหลายชนิด หรือในรูปของสารบริสุทธิ์ (pure compound) แต่เนื่องจากสารสกัดอย่างหยาบใช้เวลาในการเตรียมสั้นกว่า และราคาต้นทุนถูกกว่าสารบริสุทธิ์ อีกทั้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรบางชนิดมาจากฤทธิ์ผสมผสานระหว่างสารหลาย ๆ ชนิด หากอยู่ในสภาพสารเดี่ยวหรือสารบริสุทธิ์อาจจะไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์อ่อนด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นทำให้ยาจากสมุนไพรอยู่ในรูปสารสกัดอย่างหยาบมากกว่า [7]

ครอบครัว เป็นพืชที่เกิดขึ้นได้ทั่วไปในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคอีสานของประเทศไทย ผู้สูงอายุนำมาทำเป็นสมุนไพรในการรักษาโรคเบาหวาน โรคความดัน และโรคกระเพาะอาหาร โดยการนำผล ใบ และลำต้น มาต้มกับน้ำสะอาดที่อุณหภูมิประมาณ 100°C จนได้สารสีน้ำตาลเข้ม คั้นวันละ 3 เวลา คือ เช้า เย็น และก่อนนอน ปรากฏว่าสามารถที่จะทำให้โรคเบาหวานและความดันทุเลาลงได้ และบางรายก็หายขาดไปเป็นปกติ [4]

ผู้ทำการวิจัยได้ออกสำรวจการใช้ประโยชน์จากครอบครัวในการใช้รักษาโรคความดัน โรคเบาหวาน และโรคกระเพาะอาหาร ที่อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ พบว่าประชาชนส่วนหนึ่ง นำมาใช้ในการรักษาโรคดังกล่าวเป็นประจำและได้ผลดี แต่คนเหล่านี้ยังไม่ทราบว่าในครอบครัว มีสารอินทรีย์ชนิดใดบ้างที่เป็นตัวยาสมุนไพรในการรักษาโรคดังกล่าว การทำงานวิจัยนี้ขึ้นเพื่อศึกษาวิธีการสกัดและตรวจสอบสารแอลคาลอยด์ที่เป็นสมุนไพรจากครอบครัว

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้น ประกอบกับครอบครัวที่มีอยู่ทั่วไปในพื้นที่ จังหวัดอำนาจเจริญ ซึ่งเป็นจุดเด่นที่นักวิจัยในพื้นที่จะให้ความสนใจในความสำคัญของสารที่เป็นสมุนไพรเป็นพิเศษ ผู้วิจัยจึงได้ตระหนักถึงความสำคัญของคุณลักษณะของครอบครัว ที่น่าจะมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น รักษาโรคเบาหวาน ความดัน และกระเพาะอาหาร เพื่อให้มีความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ และให้ได้คุณภาพมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข หากประสบผลสำเร็จจะได้มีการถ่ายทอดเทคโนโลยีนี้ต่อประชาชนในท้องถิ่น พื้นที่ใกล้เคียงและท้องถิ่นอื่น ๆ ให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นสมุนไพรจากครอบครัว ทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาความสำคัญทางสมุนไพรของครอบครัว ในกรณีป้องกันการสูญพันธุ์มีความสนใจ นำเอาเมล็ดพืชมาใช้เพื่อขยายพันธุ์ อีกทั้งการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของครอบครัว เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ การอนุรักษ์พันธุ์ และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของครอบครัวต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ

1.3.1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแอลคาลอยด์ที่มีความสำคัญทางยาจากครอบครัว

1.3.2 เพื่อศึกษาเทคนิค และวิธีการตรวจสอบแอลคาลอยด์จากครอบครัว

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ศึกษาองค์ประกอบและประโยชน์ของครอบครัวที่ใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคของท้องถิ่นและชุมชน

1.4.2 ออกสำรวจและหาตัวอย่างของครอบตลับที่มีแหล่งกำเนิดในพื้นที่จังหวัดอำนาจเจริญ และจังหวัดใกล้เคียง

1.4.3 พัฒนาผลิตภัณฑ์ของสมุนไพรครอบตลับการขยายพันธุ์และส่งเสริมการเพาะปลูกเพื่อ ป้องกันการสูญพันธุ์

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ศึกษาเทคนิคการสกัดและตรวจสอบสารประกอบประเภทแอลคาลอยด์

1.5.2 ทราบข้อมูลพื้นฐานของแอลคาลอยด์ที่มีในครอบตลับ เพื่อเป็นประโยชน์ในการ พัฒนาแอลคาลอยด์ที่ได้ในทางเภสัชวิทยา (ข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยระดับสูงต่อไป)

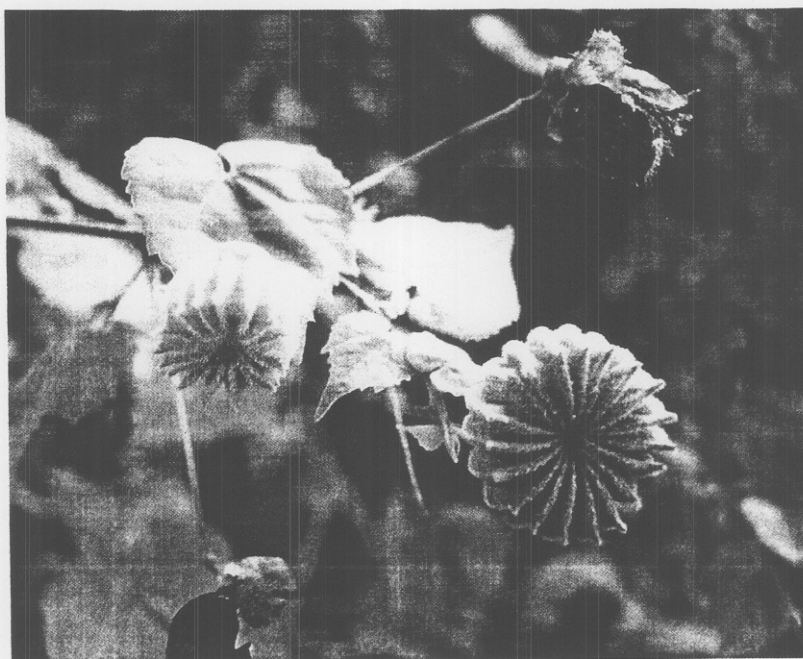
1.5.3 สามารถถ่ายทอดความรู้พื้นฐานในการศึกษาแก่นักเรียนและผู้สนใจ ซึ่งจะเป็น ประโยชน์ต่อการสร้างองค์ความรู้ท้องถิ่นและสร้างเสริมความเข้าใจเชิงวิทยาศาสตร์แก่สังคม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของครอบครัว

ครอบครัว หรือครอบครัวดี หรือครอบครัวจรรยา หรือคันกระดืบข้าว ขั้มอญ ตอแปบ (ไทย) ปอแปบ (พายัพ) โฝงผาง (โคราช) อีโป๊ะ (พิษณุโลก) จี้อ (อำนาจเจริญ) ครอบครัวจรรยา ตอแปบ ปอแปบ มะก่องข้าว (พายัพ) ก่องข้าว (เชียงใหม่) หญ้าขัดหลวง หญ้าขัดใบป้อม ขั้มอญหลวง ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Abutilon indicum* GBON วงศ์ Malvaceae เป็นพืชที่เกิดขึ้นได้ทั่วไปในพื้นที่ภาคเหนือ เช่น จังหวัดพิษณุโลก เชียงใหม่ เชียงราย และภาคอีสานของประเทศไทย เช่น จังหวัดอุบลราชธานี อำนาจเจริญ มุกดาหาร นครพนม สกลนคร และหนองคาย นอกจากนี้ยังเกิดได้ทั่วไปในประเทศเพื่อนบ้านเขตร้อน เช่น อินเดีย มาเลเซีย หมู่เกาะฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย [12]



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของครอบครัว

ต้น : เป็นพรรณไม้พุ่ม ลำต้นมีความสูงไม่เกิน 5 ฟุต จะขนสีขาวนวลทั้งต้น

ใบ : ครอบฟันสี ใบกลมโตประมาณ 7 – 8 ซม. มีรูปทรงกลมป้อมและแหลมที่ปลายใบ ใบบาง

ริมใบเป็นฟันเพียงเช่นครอบอื่น ๆ แต่โตกว่าและลักษณะแตกอ้ามาก

ดอก : ดอกมีสีเหลืองกลม และขนาดประมาณ 2 - 3 ซม.

ผล : ผลสีเขียวมีลักษณะเป็นฟันเพื่องคล้าย ๆ ฟันสีขาว มี 19 แฉก เมื่อแก่เต็มทีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม

การขยายพันธุ์ : โดยการใช้เมล็ด

ส่วนที่ใช้ : เมล็ด ใบ ลำต้น ดอกและราก ใช้เป็นยา

สรรพคุณ : ลำต้น ใช้บำรุงเลือดและขับลม ดอก ใช้ฟอกล้างลำไส้ให้สะอาด ใบใช้บ่มหนองให้เกิดและแตกเร็ว รากใช้รักษาอาการเป็นลมและใช้เป็นยาบำรุงธาตุ รักษาโรคจิต รักษาอาการไอรักษาโรคไข้ผอม เหลือง เป็นยาบำรุงกำลัง แพทย์พื้นบ้านตามชนบทใช้เป็นยาขับปัสสาวะ สมานเยื่ออ่อนตามทางเดินของปัสสาวะมิให้อักเสบ แก้โรคเบาหวาน น้ำปัสสาวะพิการ ขับตะกอนและไขขาวในกระเพาะปัสสาวะได้ดี และรักษาโรคความดัน [11]

2.2 แอลคาลอยด์ (Alkaloids)

แอลคาลอยด์ ตามคำจำกัดความเดิมหมายถึง สารประกอบที่มีไนโตรเจนในโครงสร้าง และมีสมบัติเป็นเบส (alkaloid; alkali – like) พบเฉพาะในพืชเท่านั้น ส่วนคำจำกัดความในปัจจุบันหมายถึง สารประกอบที่มีอะตอมของไนโตรเจนแต่ไม่ใช่เพปไทด์ หรือ นิวคลีโอไซด์ และจะมาจากพืช สัตว์ หรือ จุลินทรีย์ก็ได้ [1]

แอลคาลอยด์เป็นสารประกอบทุติยภูมิที่พบในพืชประเภทไม้ดอกเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากแอลคาลอยด์เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีโครงสร้างและคุณสมบัติแตกต่างกันอย่างมากมาย จึงเป็นการยากที่จะหาคำนิยามที่สามารถครอบคลุมแอลคาลอยด์ได้ทุกชนิด แต่คำนิยามกว้างๆ ของคำว่าแอลคาลอยด์คือ “แอลคาลอยด์เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง และประกอบด้วยไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม ซึ่งมักจะรวมอยู่ใน cyclic system แอลคาลอยด์มักจะเป็นสารที่เป็นพิษและสามารถออกฤทธิ์ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายคนและสัตว์ได้ สารเหล่านี้มักกระจายตัวจำกัดในพืช อาจพบได้บ้างในสัตว์และจุลินทรีย์” [10]

แอลคาลอยด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีฤทธิ์เป็นด่างมีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล อาจจะได้จากพืชหรือสัตว์ แต่สำหรับแอลคาลอยด์ที่แท้จริงจะต้องมีไนโตรเจน อยู่ใน heterocyclic ring มีสูตรโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัด [4]

แอลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุล พบมากในพืชชั้นสูง พบบ้างในพืชชั้นต่ำ ในสัตว์ และในจุลินทรีย์ จากการที่มีไนโตรเจนประกอบอยู่ด้วยทำให้แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็นด่าง จากคุณสมบัติความเป็นด่างนี้ทำให้เราสามารถสกัดแยกแอลคาลอยด์จากพืชได้โดยการให้ทำปฏิกิริยากับกรด ซึ่งจะเกิดเป็นเกลือของแอลคาลอยด์ที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ [7]

แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีสารตั้งต้นเป็นกรดอะมิโน จนถึงปัจจุบันมีการศึกษาโครงสร้างของแอลคาลอยด์อย่างกว้างขวาง และพบสารประกอบกลุ่มนี้ประมาณ 5,000 ชนิด กระจายอยู่ในพืชประมาณ 150 วงศ์ คิดเป็นร้อยละ 15-20 ของพืชชั้นสูงทั้งหมด และพบน้อยมากในพืชชั้นต่ำ แอลคาลอยด์กระจายตัวกว้างขวางในพืชใบเลี้ยงคู่ ตัวอย่าง เช่น วงศ์ Solanaceae ตัวอย่างพืชในวงศ์นี้คือ ลำโพง มันทฝรั่ง และยาสูบ แอลคาลอยด์ที่พบคือ atropine, solanine และ nicotine ตามลำดับ ส่วนในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวสามารถพบแอลคาลอยด์ 2 วงศ์เท่านั้นคือ Litaceae และ Amaryllidaceae ตัวอย่างพืชในวงศ์นี้คือ พลับพลึงและดอกคิงส์หัวขวาน แอลคาลอยด์ที่พบคือ galanthamine และ colchicines ตามลำดับ การกระจายตัวของแอลคาลอยด์ในพืชแต่ละวงศ์มักไม่สม่ำเสมอ และมักพบแอลคาลอยด์อยู่ในพืชบางสกุลเท่านั้น โดยทั่วไปพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกันหรือสกุลใกล้เคียงกันจะสร้างแอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กัน ยกเว้นแอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนจะพบได้ในหลาย ๆ สกุล ตัวอย่าง เช่น piperine ซึ่งพบในสกุล *Piper* ssp. ตัวอย่างพืชในสกุลนี้คือ พริกไทยดำและขาว (*Piper longum* linn.) และสามารถพบได้จากสกุล *Cuboba* ssp. ตัวอย่างพืชในสกุลนี้คือ *Cabeba censii*

พืชต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการสร้างและสะสมแอลคาลอยด์ในปริมาณที่ต่างกัน พืชบางชนิดเก็บสะสมแอลคาลอยด์ไว้ในปริมาณสูง เช่น ในเปลือกชิงโคนา จะพบแอลคาลอยด์สูงถึง 15% ของสารที่มีทั้งหมด แต่พืชบางชนิดจะสะสมแอลคาลอยด์ไว้ในปริมาณต่ำ เช่น ใบลำโพง จะมีแอลคาลอยด์เพียงร้อยละ 0.1-0.2 ของสารที่มีทั้งหมดเท่านั้น ซึ่งมักสะสมอยู่ในส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโตหรือสะสมในส่วนที่โตเต็มที่แล้ว เช่น ในใบ (ลำโพง, โคลา) ในดอก (ลำโพง พุดสามสี) ในผล (พริกต่างๆ) ในเมล็ด (กาแฟ โคลา) ในยาง (ฝิ่น) ในเปลือกลำต้น (ชิงโคนา) ในราก (ระย่อนน้อย โหระเดือยไก่ ลำโพง) และในเหง้า (ชิง ข่า) [7]

2.3 สมบัติและประโยชน์ของแอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์เป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่มากที่สุดกลุ่มหนึ่งที่ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (organic nitrogen compounds) คุณสมบัติโดยทั่วไปของแอลคาลอยด์คือ มักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) มีคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกันมาก [7]

2.3.1 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย เช่น ควินิน (quinine) จากเปลือกต้นชิงโคนา (*Cinchona succirubra* Pav.) ในวงศ์รูเบียซีอี (Rubiaceae) ใช้รักษาไข้มาลาเรียจากเชื้อพลาสโมเดียมฟาลซิพารัม (*Plasmodium falciparum*) ซึ่งคือต่อยาสั่งเคราะห์คลอโรควิน (chloroquine)

2.3.2 ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น อะโทรปีน (atropine) จากใบเบลลาดอนนา (*Atropa belladonna* L.) ในวงศ์โซลานาซีอี (Solanaceae) มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จึงใช้เป็นยารักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้โดยใช้ร่วมกับยาลดกรด (antacid)

2.3.3 ใช้ต้านโรคมะเร็ง (antitumor) เช่น วินบลาสทีนซัลเฟต (vinblastine sulfate) และ วินคริสทีนซัลเฟต (vincristine sulfate) จากลำต้นเหนือดินของแพงพรวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus* (L.) G.DON.) ในวงศ์เอปอไซนาซีอี (Apocynaceae)

2.3.4 ฤทธิ์ระงับอาการปวด (analgesic) เช่น มอร์ฟีน (morphine) จากยางฝิ่น (*Papaver somniferum* L.) ในวงศ์พาพาเวราซีอี (Papaveraceae) ใช้ระงับปวดในการผ่าตัดต่าง ๆ

2.3.5 ฤทธิ์ระงับอาการไอ เช่น โคดีอีน (codeine) จากยางฝิ่น ในวงศ์พาพาเวราซีอี ออกฤทธิ์กดศูนย์ไอในสมอง มีฤทธิ์เสพติด

2.3.6 ฤทธิ์ลดความดันโลหิต เช่น เรสเซอเฟน จากรากต้นระย่มน้อยหรือ ควินิดีนซัลเฟต (quinidine sulfate) จากเปลือกต้นชิงโคนา (*Cinchona succirubra* Pav.) ในวงศ์รูเบียซีอี (Rubiaceae)

2.3.7 ฤทธิ์ขยายหลอดลม (bronchodilator) เช่น ทีโอฟิลลีน (theophylline) จากยอดและใบชา (*Camellia sinensis* O. Kunze) ในวงศ์ทีอาซีอี (Theaceae)

2.3.8 ฤทธิ์ลดน้ำมูก แก้วหวัด (decongestant) จากต้นของมั่วอิงหรือมาฮวง (*Ephedra equisetina* Bunge) ในวงศ์นีทาซีอี (Gnetaceae)

2.3.9ฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง ทำให้ร่างกายตื่นตัว กระตุ้นระบบการหายใจ และ ขับปัสสาวะได้เล็กน้อย จากเมล็ดสุกของคีนกาเฟ (*Coffea arabica* L.) ในวงศ์ Rubiaceae

2.4 การแบ่งประเภทแอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาครอบคลุมเกือบทุกระบบของร่างกายและจัดเป็นเภสัชภัณฑ์ธรรมชาติกลุ่มใหญ่ที่สุดที่ได้นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ มีการจัดแบ่งกลุ่มแอลคาลอยด์หลายวิธี วิธีที่นิยมมากที่สุดคือแบ่งกลุ่มตามสูตรโครงสร้างทางเคมีของ heterocyclic ring ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น pyrrolidine alkaloids หมายถึงแอลคาลอยด์ที่มี pyrrolidine ring ในโมเลกุล quinoline alkaloids หมายถึงแอลคาลอยด์ที่มี quinoline ring ในโมเลกุล หรือ indole alkaloids หมายถึงแอลคาลอยด์ที่มี indole ring ในโมเลกุล

2.4.1 แบ่งตามกลุ่มของพืชที่มีแอลคาลอยด์ (Taxonomic system)

เป็นการแบ่งแอลคาลอยด์ที่พบตามสกุลพืชที่พบแอลคาลอยด์นั้นๆ ตัวอย่าง เช่น cinchona, rauwolfia, ephedra, lupin, solanum alkaloid เป็นต้น

2.4.2 แบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา (Therapeutic system)

เป็นการแบ่งกลุ่มแอลคาลอยด์ที่พบตามการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ตัวอย่าง เช่น Atropine, hyoscyamine, pilocarpine, physostigmine, reserpine และ protoveratrine

2.4.3 แบ่งกลุ่มตามกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biogenetic system)

2.4.3.1 แอลคาลอยด์แบบอย่างหรือแอลคาลอยด์ที่แท้จริง (Typical or true alkaloids)
คือสารประกอบที่มีแอลคาลอยด์ครบถ้วน ได้แก่ [7]

- 1) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างทางเคมีที่ซับซ้อน มีไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม ในโมเลกุล และมักอยู่ในวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic ring)
- 2) มีฤทธิ์เป็นด่างและความเป็นด่างจะแตกต่างกันตามลักษณะของไนโตรเจนที่มีอยู่ในโมเลกุล

3) ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ทางสรีรวิทยา (physiological activity) ต่อมนุษย์และสัตว์

4) ส่วนมากชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) มาจากกรดอะมิโน (amino acid)

ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของ ไนโตรเจน อาจมีข้อยกเว้นบ้างที่สังเคราะห์มาจากสารตั้งต้นชนิดอื่น

5) เป็นเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของเมแทบอลิซึมทุติยภูมิ (secondary metabolism) ของสิ่งมีชีวิตซึ่งถูกควบคุมโดยพันธุกรรม

6) การกระจายตัวของแอลคาลอยด์ในสิ่งที่มีชีวิตค่อนข้างจำกัด มีอยู่เฉพาะบางกลุ่มเท่านั้น ไม่ได้กระจายทั่วไป

2.4.3.2 Protoalkaloid เป็นแอลคาลอยด์ที่มีการชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนหรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน แต่แอลคาลอยด์เหล่านี้มีไนโตรเจนอยู่นอกวง ตัวอย่างเช่น cochicine

2.4.4 แบ่งกลุ่มตามโครงสร้างทางเคมี (Chemical system)

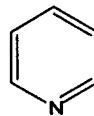
การจัดแบ่งกลุ่มของแอลคาลอยด์ตามโครงสร้างทางเคมีเป็นที่นิยมมากที่สุด สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.4.4.1 Non- heterocyclic alkaloids (alkaloids amine) เป็นแอลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง ส่วนใหญ่เป็นอนุพันธ์ของ phenylethylamine ซึ่งมีชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน phenylamine หรือ tyrosine

2.4.4.2 Heterocyclic alkaloids เป็นแอลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่ในวง สามารถแบ่งกลุ่มตามโครงสร้างพื้นฐานได้ดังนี้

1) Pyridine และ Piperidine alkaloids

แอลคาลอยด์กลุ่มนี้จัดเป็น simple alkaloids เนื่องจากมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน และมีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็น pyridine ซึ่งเป็น tertiary base และ piperidine ซึ่งเป็น secondary base โดยโครงสร้างของ piperidine ส่วนใหญ่ได้จากกรดอะมิโนและอนุพันธ์ของกรดอะมิโน Lysine ดังแสดงโครงสร้างในภาพที่ 2.2

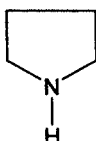


ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Pyridine

2) Imidazole alkaloids

เป็นแอลคาลอยด์กลุ่มเล็กๆ มีการกระจายตัวแคบที่ใช้ประโยชน์ทางยา ได้แก่ พิโลคาร์พีน (pilocarpine) จากพืชสกุลพิโลคาร์ปัส (*Pilocarpus* spp.) ในวงศ์รูทาซีอี (Rutaceae)

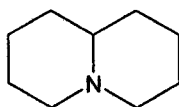
มีฤทธิ์กระตุ้นมัสคารินิกรีเซปเตอร์(muscarinic receptor) ในตา ทำให้เกิดการหดตัวของรูม่านตา จึงใช้เป็นยารักษาโรคต้อหิน (glaucoma) สมุนไพรที่มีพิโลคาร์พีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ เมื่อเก็บไว้นาน ๆ พิโลคาร์พีน ไม่คงตัวจะสลายตัวไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งไม่มีฤทธิ์ในการรักษา



ภาพที่ 2.3 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Imidazole

3) Nor-lupinane alkaloids

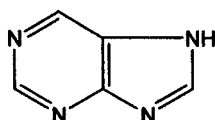
แอลคาลอยด์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นสารพิษ ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ทางยา เช่น ลูพานีน(lupanine) พบได้ในพืชสกุลลูพินัส (*lupinus* spp.) ในวงศ์พาลีโอนาซีอี(Papilionaceae)



ภาพที่ 2.4 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Nor-lupinane

4) Purine alkaloids

มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานคือ Purine ที่เกิดจาก Pyrimidine จับกับ Imidazole สูตรโครงสร้างของ Purine ไม่พบในธรรมชาติแต่จะพบเป็นอนุพันธ์ต่างๆ ของ Purine ที่ใช้ประโยชน์ทางยา ได้แก่ ทีโอฟิลลีน มีฤทธิ์ขยายหลอดลม

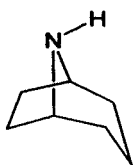


ภาพที่ 2.5 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Purine

5) Tropane alkaloids

เป็นแอลคาลอยด์กลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัด คือมีฤทธิ์ในการขยายม่านตา และมีฤทธิ์เป็นยาชาเฉพาะที่ ปัจจุบันใช้แอลคาลอยด์ใน

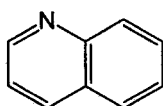
กลุ่ม Tropane เป็นส่วนประกอบในยามากมายหลายประเภท เช่น ขำรักษาแผลในกระเพาะอาหาร ยาแก้ท้องร่วง ยาขยายม่านตา ใช้เป็นยาทาเฉพาะที่ เป็นต้น



ภาพที่ 2.6 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Tropane

6) Quinoline alkaloids

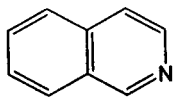
เป็นแอลคาลอยด์กลุ่มเล็กและมีการกระจายตัวแคบ แต่มีความสำคัญทางยา มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง quinoline ที่เป็น full conjugated bicyclic system ที่ประกอบด้วย benzene ring ที่เชื่อมต่อกับ Pyridine ring ซึ่งได้จากชีวสังเคราะห์ของกรดอะมิโน Tryptophan โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์กลุ่มนี้มีความหลากหลาย



ภาพที่ 2.7 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Quinoline

7) Isoquinoline alkaloids

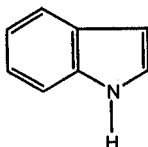
เป็นแอลคาลอยด์กลุ่มใหญ่ มีแอลคาลอยด์หลายชนิดที่นำมาใช้เป็นยา รักษาโรค เช่น มอร์ฟีน และโคดีอีน ซึ่งพบในยางที่กรีดจากผลของฝิ่น ใช้เป็นยาระงับปวดในการผ่าตัดต่างๆ แต่ทำให้เกิดการเสพติดได้ นอกจากนี้โคดีอีนยังมีคุณสมบัติระงับอาการไอ โดยการกดศูนย์ไอในสมอง จึงใช้เป็นส่วนประกอบในยาแก้ไอ



ภาพที่ 2.8 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Isoquinoline

8) Indole alkaloids

แอลคาลอยด์ในกลุ่มนี้มีความสำคัญมากในทางเภสัชวิทยา เนื่องจากมีแอลคาลอยด์หลายตัวที่ใช้เป็นยา มีการกระจายตัวกว้างขวางในพืชหลายวงศ์ โครงสร้างพื้นฐานเป็น bicyclic ที่ประกอบด้วย Pyrole ring เชื่อมต่อกับ Benzene ring มีชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนและอนุพันธ์ของกรดอะมิโน Tryptophene และ Tryptamine กับพวก Monoterpenoid unit (C-9 ถึง C-10) โครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์กลุ่มนี้มีความหลากหลายมาก ดังแสดงโครงสร้างในภาพที่ 2.9



Indole

ภาพที่ 2.9 สูตรโครงสร้างพื้นฐานของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Indole

ตัวอย่างแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Indole

1) Ergometrine

แหล่งที่พบ เอโกมีทริน พบในเชื้อราเอกกอด (ergot, *Claviceps purpurea*) ในวงศ์คลาวิพิทาซีอี (Clavicipitaceae) มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.10 [7] การออกฤทธิ์ทางยา มีฤทธิ์ทำให้มดลูกบีบตัว (oxytotic agent) ใช้ในการช่วยคลอดบุตร

2) Reserpine

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี มีลักษณะเป็นผลึกใส ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวที่ 156-157 °C เป็นแอลคาลอยด์จำพวกด่างอ่อน (Carbocyclic ring E) มีโครงสร้างดังแสดงในรูป 2.11

แหล่งที่พบ พบในพืช *Alstonia constricta* และรากของระย่อมน้อย *Rauwolfia serpentina* Benth. Ex Kurz. ในวงศ์เอพโพไซนาซีอี (Apocynaceae) เป็นพืชพื้นเมืองทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้มาจากพืชที่ชาวอินเดียใช้เป็นยารมึนพิษ [3] การออกฤทธิ์ทางยา มีฤทธิ์ในการระงับประสาทที่ไม่ทำให้หลับ ใช้เป็นยาลดความดันโลหิต รักษาโรคประสาทและโรคนอนไม่หลับ

3) Vincristine and Vinblastine

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี มีลักษณะเป็นผลึกใส ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวที่ 231-232 °C สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และเบนซีน มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.11

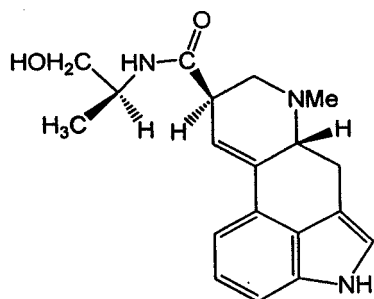
แหล่งที่พบ สกัดได้จากต้นพวงพญฝรั่ง (*Catharanthus roseus* (L) G. Don.) ในวงศ์เอพโพไซนาซีอี (Apocynaceae) การออกฤทธิ์ทางยา มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) สูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (highly potent anti-tumour agents)

วินบลาสทีนซัลเฟตใช้รักษามะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดหนึ่งหรือเรียกว่าโรคฮอดกินส์ (Hodkin's disease) และวินคริสทีนซัลเฟตใช้รักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน (acute lymphoblastic leukemia) ในเด็ก [7]

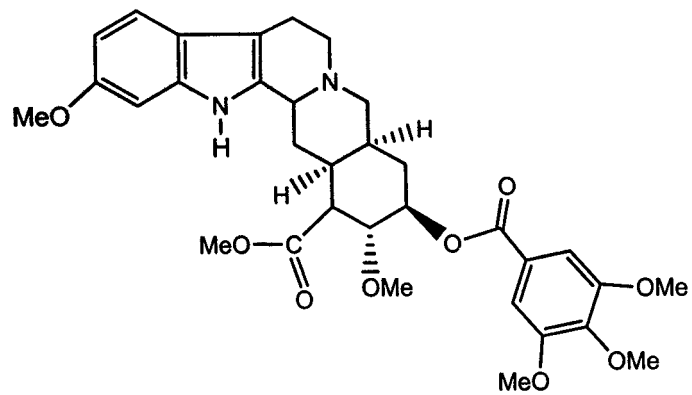
4) Strychnine

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี มีลักษณะเป็นผลึกใส ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวที่ 237-238 °C สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และเบนซีน มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.11

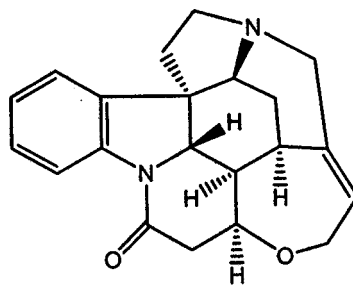
แหล่งที่พบ ได้มาจากต้นโล่ดั้น (*Strychnos nuxvomica*) หรือเมล็ดของ *Strychnos ignatii* ในวงศ์โลกานีอาซีอี (Loganiaceae) การออกฤทธิ์ทางยา มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง เป็นยาพิษร้ายแรงใช้เป็นยาเบื่อสัตว์จำพวกหนู และใช้เบื่อปลาในบ่อ [1]



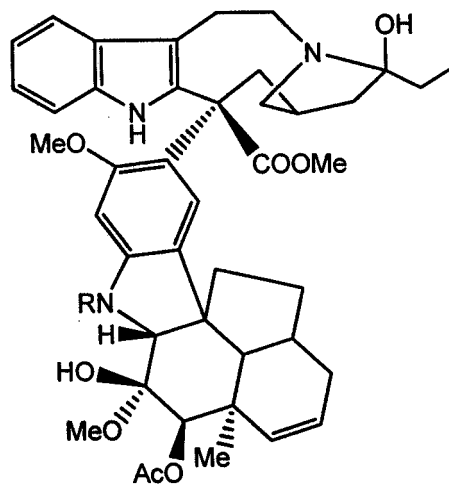
ภาพที่ 2.10 ตัวอย่างสูตรโครงสร้างของแอลคาลอยด์เอโกมีทริน [7]



Reserpine



Strychnine



vinblastine ; R = Me

vincristine ; R = CHO

ภาพที่ 2.11 ตัวอย่างสูตรโครงสร้างของแอลคาลอยด์ในกลุ่ม Indole [1]

2.5 การสกัดแอลคาลอยด์ (Extraction)

หลักในการสกัดแอลคาลอยด์อาศัยความรู้ที่ว่า [4]

2.5.1 alkaloid base จำนวนมากไม่ละลายน้ำ แต่ละลายใน organic solvent เช่น CHCl_3 , ether หรือ alcohol

2.5.2 เบสแอลคาลอยด์เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดได้เกลือที่ละลายในน้ำ หรือแอลกอฮอล์ ละลายได้น้อยในตัวทำละลายอินทรีย์

2.5.3 สามารถเปลี่ยนเกลือแอลคาลอยด์ กลับไปเป็นเบสแอลคาลอยด์โดยทำปฏิกิริยากับ เบส ซึ่งเบสแอลคาลอยด์จะตกตะกอนออกจากชั้นน้ำ

สำหรับแอลคาลอยด์บางชนิด มีความเป็นเบสที่ต่ำกว่าปกติ เช่น colchicine จะไม่แสดง คุณสมบัติการละลายดังกล่าวข้างต้น ทำให้การตรวจสอบได้ผลลบลง (false negative) หรือ แอลคาลอยด์ บางชนิดละลายน้ำได้ดี เช่น Quarternary alkaloids การสกัดและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี ทัวไปซึ่งจะทิ้งชั้นน้ำ ทำให้การตรวจสอบแอลคาลอยด์ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ ไม่พบแอลคาลอยด์ ประเภทนี้ นั่นคือเกิด false negative ดังนั้นการตรวจสอบแอลคาลอยด์จึงต้องตรวจสอบทั้งชั้นน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ [4]

แอลคาลอยด์เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่พบในพืช โดยทั่วไปแอลคาลอยด์มีฤทธิ์เป็น เบสและมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ดังนั้นสารจำพวกแอลคาลอยด์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในทางยา การ สกัดและการแยกแอลคาลอยด์จากพืชอาศัยคุณสมบัติในการที่แอลคาลอยด์สามารถทำปฏิกิริยากับกรด เป็นเกลือได้ เกลือของแอลคาลอยด์นี้ละลายได้ในน้ำ จึงทำให้แยกแอลคาลอยด์ออกจากสารอื่นๆ ในพืช ได้ง่าย ส่วนแอลคาลอยด์ในรูปอิสระจะไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม เอทานอล เป็นต้น ในพืช แอลคาลอยด์จะรวมตัวกับกรดอินทรีย์อยู่ในรูปของเกลือ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูปอิสระก่อนที่จะทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัด แอลคาลอยด์จากพืช สามารถทำได้หลายวิธี คือ [7]

วิธีที่ 1 สกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่รวมกับน้ำเช่น คลอโรฟอร์ม อีเธอร์

โคคลอโรมีเทน การสกัดด้วยวิธีนี้จะต้องทำผงยาให้อยู่ในสภาพต่าง (โดยการเติมต่างปริมาณเล็กน้อย) เช่น Ca(OH)_2 , NaOH , NH_4OH หรือ Na_2CO_3 เพื่อเปลี่ยนแอลคาลอยด์ให้อยู่ในรูปอิสระ แล้วจึงทำการ สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้เหมาะสำหรับการสกัดแอลคาลอยด์จากพืชปริมาณน้อย เช่น การวิจัย

แต่ควรระวังในการเติมต่างถ้าปริมาณมากเกินไปอาจทำให้ยากต่อการสกัดและตัวทำละลายอินทรีย์ค่อนข้างอันตรายต่อสุขภาพ ไม่นิยมในทางอุตสาหกรรม เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูง

วิธีที่ 2 สกัดด้วยตัวทำละลายที่ผสมกับน้ำได้ เช่น เอทานอล เมทานอล แอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดแอลคาลอยด์ได้ทั้งในรูปเกลือ และรูปอิสระ จึงเป็นที่นิยมใช้ในการสกัด แอลคาลอยด์จากพืช ข้อดีคือตัวทำละลายสามารถซึมผ่านตัวอย่างสมุนไพรได้ดี ทำให้ไม่ต้องสิ้นเปลือง ตัวทำละลายอย่างวิธีที่ 1 แต่อาจสูญเสียแอลคาลอยด์ที่อยู่ในรูป quaternary salt ที่ไม่สามารถละลายได้

วิธีที่ 3 สกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายแอลกอฮอล์เจือกรด จะได้แอลคาลอยด์มาในรูป เกลือของกรดอินทรีย์ รวมทั้งเมคิสของสารอินทรีย์อื่นๆ ปนออกมาด้วยดังนั้นจึงควรจะต้องทำให้สาร บริสุทธิ์โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เสียก่อน แล้วแยกชั้นน้ำมาตกตะกอนแอลคาลอยด์ด้วยการ เติมน้ำ แล้วทำการสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายอีกครั้ง จะได้สารที่บริสุทธิ์ขึ้น เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการ สกัดแอลคาลอยด์ทางอุตสาหกรรม เนื่องจากค่าใช้จ่ายต่ำ แต่การใช้น้ำสกัดจะทำให้ลดปริมาณได้ยาก มักเกิดฟองและอาจมีสารอื่นปนออกมามาก ยากต่อการกำจัดสารปนเปื้อนและยากต่อการกำจัดตัวทำ ละลายหลังการสกัดเสร็จสิ้น

วิธีที่ 4 สกัดด้วย Prollius fluid (Ether: Chloroform: Ethanol: Ammonia อัตราส่วน 25:8:2.5:1) จะได้แอลกอฮอล์ออกมาในรูปอิสระ และเกลือของแอลกอฮอล์ แต่การสกัดด้วยวิธีนี้จะ สูญเสียแอลคาลอยด์ในรูป quaternary salt และ N-oxide ซึ่งไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายนี้ และ สิ้นเปลืองตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวเนื่องจากไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และยากต่อการกำจัด ทั้ง แต่การเลือกวิธีสกัดแอลคาลอยด์ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของแอลคาลอยด์ที่ต้องการรวมทั้งสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในสมุนไพรนั้นด้วย แอลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์เป็นด่างปานกลางและด่างแก่จะสามารถสกัดจากพืชได้ ด้วยวิธีทั้ง 3 ดังกล่าวข้างต้นและสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการ partition ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ กับสารละลายกรดและด่าง แต่แอลคาลอยด์จำพวกด่างอ่อนจะสามารถ form salt กับกรดอินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรด acetic, citric และ tartaric ซึ่งเกลือเหล่านี้จะสามารถละลายได้ในตัวทำละลาย อินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม ดังนั้นจึงสามารถใช้คุณสมบัตินี้ในการแยกแอลคาลอยด์จำพวกด่างอ่อน ออกจากแอลคาลอยด์ที่เป็นด่างแก่ได้ การผลิตแอลคาลอยด์ในทางอุตสาหกรรม มักนิยมใช้วิธีตกผลึก แอลคาลอยด์ในรูปของเกลือ ซึ่งสามารถจะทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการตกผลึกซ้ำหลาย ๆ ครั้ง

สำหรับการสกัดพืชปริมาณน้อย เช่นในการวิจัย อาจแยกแอลคาลอยด์ได้โดยใช้ Column หรือ Thin layer chromatography ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณแอลคาลอยด์ที่ต้องการแยก การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของแอลคาลอยด์ที่แยกได้ อาจใช้วิธี TLC ซึ่งจะบอกถึงชนิดและปริมาณคร่าวๆ ของแอลคาลอยด์ในพืชได้

การที่จะเลือกใช้วิธีสกัดแบบใดนั้น จะต้องพิจารณาทั้งสมบัติและปริมาณของสารที่เราต้องการสกัดรวมทั้งตัวทำละลายที่ใช้ให้เหมาะสม เพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ในปริมาณมากที่สุดโดยใช้ตัวทำละลายน้อยที่สุด

2.6 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในเคมีอินทรีย์ สำหรับแยกสารและทำให้บริสุทธิ์ เช่นการสกัดแยกสารประกอบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ การสกัดแยกสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการออกจากของผสมในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ต่าง ๆ

2.6.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม [4]

เป็นการใช้ทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากของผสมซึ่งเป็นของแข็ง การเลือกตัวทำละลายที่ใช้สกัดโดยวิธีนี้ มีหลักการที่คล้ายคลึงกับการหาตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสาร

วิธีปฏิบัติกันโดยทั่วไป มักทำโดยแช่ของแข็งที่ต้องการสกัดแยกสารอินทรีย์ที่ต้องการในตัวทำละลายที่ใช้สกัดเป็นเวลานานๆ ในภาชนะที่เหมาะสม หรือใช้เครื่องมือสกัดแบบซ็อกเลต(soxhlet extractor) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ออกแบบเพื่อสำหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด และสามารถสกัดได้อย่างต่อเนื่อง (continuous extraction) มักนิยมใช้ในกรณีที่สารที่ต้องการจะสกัดละลายได้น้อยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัด หรือสำหรับสกัดสารประกอบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีอยู่จำนวนน้อย และจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายสำหรับสกัดเป็นจำนวนมาก

หลักการของเครื่อง soxhlet extractor คล้ายกับเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดแบบ continuous liquid-liquid extraction กล่าวคือ การทำให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอ แล้วกลั่นตัวเป็นของเหลวหยดลงผ่านสารที่จะสกัด (ซึ่งเป็นของแข็งที่บรรจุใน thimble) เมื่อตัวทำละลายใน extracting chamber มีปริมาณสูงถึงระดับ ก็จะเกิดกาลักน้ำแล้วไหลลงสู่ขวดรองรับ (หรือขวดกลั่น) ตัวทำละลายที่

พาสารลงมาในวอเตอร์รับนี้จะถูกระเหยกลับกลายเป็นไอขึ้นไปอีก ส่วนสารที่สกัดได้จะยังคงอยู่ในวอเตอร์รับ แล้วไอก็จะกลั่นตัวเป็นของเหลวหยดลงบนสารที่ต้องการสกัดซ้ำอีก เป็นดังนี้ไปเรื่อยๆ

2.6.2 การสกัดสารที่ต้องการออกจากของผสมที่เป็นของเหลว

เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสกัดสารที่ต้องการออกจากของผสมที่เป็นของเหลว ในทางปฏิบัตินิยมสกัดแยกสารอินทรีย์ออกจากของผสม (ซึ่งนำไปละลาย หรือแขวนลอยอยู่ในน้ำ) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ แต่สามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น สารต่างๆ ที่มีอยู่ในของผสม จะละลายอยู่ทั้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และชั้นน้ำ มากน้อยตามความสามารถในการละลายของสารนั้นๆ ในตัวทำละลายทั้งสอง

ตามหลักของการละลายโดยทั่วไป สารที่แตกตัวเป็นไอออนได้ หรือสารที่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ ก็จะละลายอยู่ในชั้นน้ำเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สารไม่มีขั้ว หรือมีสภาพขั้วต่ำ ก็จะอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (ซึ่งส่วนใหญ่มีสภาพขั้วต่ำ) เช่น อีเธอร์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เป็นต้น โดยทั่วไปพบว่า ในตัวทำละลายคู่หนึ่งๆ สารชนิดหนึ่งจะละลายในตัวทำละลายทั้งสองชั้นเป็นอัตราส่วนคงที่ ณ อุณหภูมิหนึ่ง อัตราส่วนนี้เรียกว่า สัมประสิทธิ์การแจกแจง (Distribution Coefficient) หรือสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (Partition Coefficient) ซึ่งมักใช้อักษรย่อว่า K ค่าคงตัวนี้จะบอกให้ทราบว่า สารที่ต้องการจะละลายอยู่ในตัวทำละลายแต่ละชั้นของตัวทำละลายคู่หนึ่งๆ มากน้อยเพียงใด ที่ภาวะสมดุล และอุณหภูมิคงที่ค่าหนึ่ง โดยสามารถเขียนได้เป็น

$$K = C_1 / C_2$$

เมื่อ C_1 เป็นความเข้มข้นของสารที่ต้องการในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ และ C_2 เป็นความเข้มข้นของสารนั้นในชั้นน้ำ

2.7 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด [7]

หลังจากทำการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการสกัดแล้วควรเลือกตัวทำละลายสกัดให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการสกัด โดยตัวทำละลายสกัดดังกล่าวควรมีคุณสมบัติดังนี้ [4]

2 . 7 . 1 มีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่น ๆ ได้น้อย (selectivity) เนื่องจากสารสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งอาจมีโครงสร้างสลับซับซ้อนมากน้อยต่างกัน และมีอยู่ในพืชทั้งในสภาพอิสระและรวมตัวกับสารอื่น ๆ ใน

สภาพเกลือหรือสารประกอบเชิงซ้อน ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารสำคัญที่ต้องการสกัด นอกเหนือจากควมมีขั้วของสารสำคัญดังกล่าว ในการเลือกตัวทำละลายสกัดมีกฎทั่วไปว่า สิ่งที่มีเหมือนกันย่อมละลายในกันและกัน (like dissolve like) เช่น คุณสมบัติสารสำคัญมีขั้ว ก็ควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด

2.7.2 มีความคงตัวดี และหาง่าย ราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

2.7.3 ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

2.7.4 สภาพของพืชสมุนไพรที่ทำการสกัด เช่น เมล็ด เป็นส่วนที่ไม่มีไขมันอยู่มาก ควรขจัดไขมันพวกนี้ออกก่อนโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ประเภทไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน ปีโตรเลียมอีเทอร์ แล้วจึงนำกากพืชที่เหลือไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

2.7.5 ควรมีจุดเดือดไม่สูงมากนัก เพื่อที่จะกำจัดออกไปจากสารที่ต้องการได้ง่ายภายหลังการสกัด

2.7.6 ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารหรือตัวทำละลายอื่นๆ ที่จะใช้ร่วม

2.8 วิธีสกัด

2.8.1 การหมักหรือแช่ (maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและตัวทำละลายสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในสมุนไพรออกมาได้

การสกัดสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทในตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสม จะทำเป็นเวลานาน 7 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับ หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรองแยกกากออกจากตัวทำละลายสกัด วิธีการสกัดนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้ตัวทำละลายสกัดน้อย จึงประหยัด และเนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนจึงเหมาะสมกับการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบูรณ์เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและตัวทำละลายสกัดที่ใช้ ทำให้อัตราของการสกัดชะงักลง จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้

สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรอย่างสมบูรณ์

2.8.2 เพอร์โคเลชัน (percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้ตัวทำละลายสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมทั้งละลายเองค้ประกอบออกจากผงสมุนไพรออกมา โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (percolater)

2.8.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำนองเดียวกับเพอร์โคเลชัน แต่ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ซอกซ์เลตเอ็กซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ

2.9 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบเพื่อยืนยันว่ามีสารประกอบแอลคาลอยด์อยู่ในสารสกัด ทำได้โดย

2.9.1 การตรวจเพื่อยืนยันว่ามีสารแอลคาลอยด์

2.9.1.1 น้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์ (Precipitating agents) เป็น รีเอเจนต์ที่ทำให้น้ำยาดกตะกอนกับแอลคาลอยด์ ในสารละลายที่เป็นกรดเจือจาง กลไกการเกิดตะกอนระหว่างแอลคาลอยด์กับน้ำยาเคมีมีหลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของน้ำยานั้น ๆ แบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือ

1) น้ำยาซึ่งประกอบด้วยกรดออกซิเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำปฏิกิริยากับแอลคาลอยด์ได้เกลือตกตะกอนได้แก่ silicotungstic acid, phosphotungstic acid และ phosphomolybdic acid

2) น้ำยาซึ่งประกอบด้วย halogen ทำปฏิกิริยากับแอลคาลอยด์ให้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบหลวม ๆ ซึ่งตกตะกอน ได้แก่ Wagner's, Bouchardat's, Mayer's และ Valser's reagent

3) น้ำยาที่อาศัยการรวมตัวของกรดอินทรีย์กับแอลคาลอยด์ ที่มีฤทธิ์เป็นด่างให้เป็นเกลือซึ่งไม่ละลายน้ำ เช่น Hager's reagent

2.9.1.2 Spraying agent ใช้ตรวจสอบแอลคาลอยด์ในรูปอิสระ น้ำยาที่นิยมใช้ได้แก่ Dragendorff's spray reagent น้ำยานี้จะให้สีส้มแดงกับแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่ [5]

2.9.2 การตรวจพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่มีโลหะหนัก เช่น โปรท ทอง แพลทินัม และแคดเมียม ได้เกลือที่ไม่ละลายน้ำ เราจึงใช้น้ำยาที่มีโลหะหนักเหล่านี้ตรวจหาแอลคาลอยด์ แม้ว่าแอลคาลอยด์ขนาด 10- 100 μg ก็สามารถตรวจพบได้ ที่นิยมใช้คือ Modified Dragendorff's reagent ซึ่งจะให้สีส้มแดงกับแอลคาลอยด์ ส่วนใหญ่การตรวจสอบด้วยรีเอเจนต์ควรใช้รีเอเจนต์ชนิดต่าง ๆ กัน 4-5 ชนิด ป้องกันการผิดพลาด เพราะรีเอเจนต์แต่ละตัวมีความไวต่อแอลคาลอยด์ไม่เท่ากัน

หลังจากได้ตรวจพบแอลคาลอยด์แล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการทดสอบแยกประเภทของแอลคาลอยด์ ซึ่งอาจทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีระหว่าง functional group ในแอลคาลอยด์กับน้ำยาที่เหมาะสม หรืออาศัยคุณสมบัติเด่นเฉพาะตัวอื่น ๆ เช่น การเรืองแสง ส่วนการบ่งชี้แยกแอลคาลอยด์แต่ละชนิดในกลุ่มเดียวกัน อาจทำได้โดยใช้ microcrystal test โดยแอลคาลอยด์แต่ละชนิดจะให้ผลึกที่มีลักษณะเฉพาะตัวกับน้ำยาที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังอาจใช้ความแตกต่างในการละลายของแอลคาลอยด์และอนุพันธ์ในตัวทำละลายต่าง ๆ ช่วยในการแยกอีกด้วย

บทที่ 3

การทดลอง

ขั้นตอนการเตรียมพืชสมุนไพรอุปกรณ์และสารเคมีก่อนสกัดและตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไป และการทดสอบปฏิกิริยาเคมีเฉพาะกลุ่มสามารถทำได้ดังนี้

3.1 การเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 การเตรียมตัวทำละลายโดยการศึกษาคุณสมบัติของตัวทำละลายแต่ละชนิดทั้งข้อดีและข้อเสียก่อนที่จะนำมาใช้เป็นตัวทำละลาย ดังต่อไปนี้

3.1.1.1 น้ำ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียคือ สามารถละลายองค์ประกอบออกมาได้มาก เช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเนื้ที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล แป้ง ล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าไม่ใส่สารกันบูด นอกจากนี้ น้ำระเหยได้ดีที่อุณหภูมิห้อง ถ้าต้องการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่ไอน้ำออกไป ซึ่งอาจเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ [6]

3.1.1.2 เอทานอล (Ethanol) จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ เอทานอล มีข้อดีกว่าดังนี้

- 1) มีความจำเพาะ (selectivity) ในการละลายมากกว่าน้ำ
- 2) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- 3) หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย

3.1.1.3 เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (polar active constituent) เช่นเดียวกับเอทานอล แต่นิยมใช้เอทานอลมากกว่า เพราะราคาถูกกว่าและมีความเป็นพิษน้อยกว่า

3.1.1.4 แอซีโตน (acetone) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญได้ดี เช่นเดียวกับเมทานอลและเอทานอล

3.1.2 การเลือกตัวทำละลายที่จะใช้สกัด ได้แก่ เมทานอล 95 % เอทานอล 95 % แอซีโตน และน้ำ

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสมุนไพรก่อนการสกัด

3.2.1 การเตรียมครอปกลับก่อนการสกัด จะต้องมีการพิสูจน์ชนิดของพืชให้ถูกต้องทั้ง ชื่อไทยและชื่อวิทยาศาสตร์ นำมาทำความสะอาดไม่ให้มีสิ่งปนเปื้อน เช่น ดินทราย โลเคน เห็ดรา เป็นต้น

3.2.2 นำตัวอย่างพืชสมุนไพรครอปกลับ ตากแดดให้แห้ง 3 วันจากนั้นนำเฉพาะส่วนที่เป็นลำต้น ผล และใบ มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำมาบดด้วย เครื่อง Blender MXT 2001 PW จนละเอียดบรรจุตัวอย่างพืชสมุนไพรส่วนละประมาณ 500 กรัมเก็บไว้ในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร ปิดฝาให้สนิทเพื่อเก็บไว้ทำการทดลองต่อไป

3.3 การสกัดแอลกอฮอล์โดยวิธีการหมัก (Maceration)

3.3.1 ชั่งตัวอย่างพืชสมุนไพรครอปกลับ (ลำต้น ผลและใบ) ที่บดละเอียดอย่างละประมาณ 2.00 กรัม บรรจุในโหลหมักชนิดโลหะ นำมาสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.3.2 โหลหมักที่ 1-3 เติมสารละลายเมทานอล เข้มข้น เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงในโหลหมักทั้ง 3 โหล ปิดฝาให้สนิท

3.3.3 โหลหมักที่ 4-6 เติมสารละลายเอทานอล เข้มข้นเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงในโหลหมักทั้ง 3 โหล ปิดฝาให้สนิท

3.3.4 โหลหมักที่ 6-9 เติมสารละลายแอซีโตน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในโหลหมักทั้ง 3 โหล ปิดฝาให้สนิท

3.3.5 โหลที่ 10-12 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงในโหลหมักทั้ง 3 โหล ปิดฝาให้สนิท

3.3.6 หมักทิ้งไว้บนที่กผลที่สังเกตได้ทุก 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง ตามลำดับ

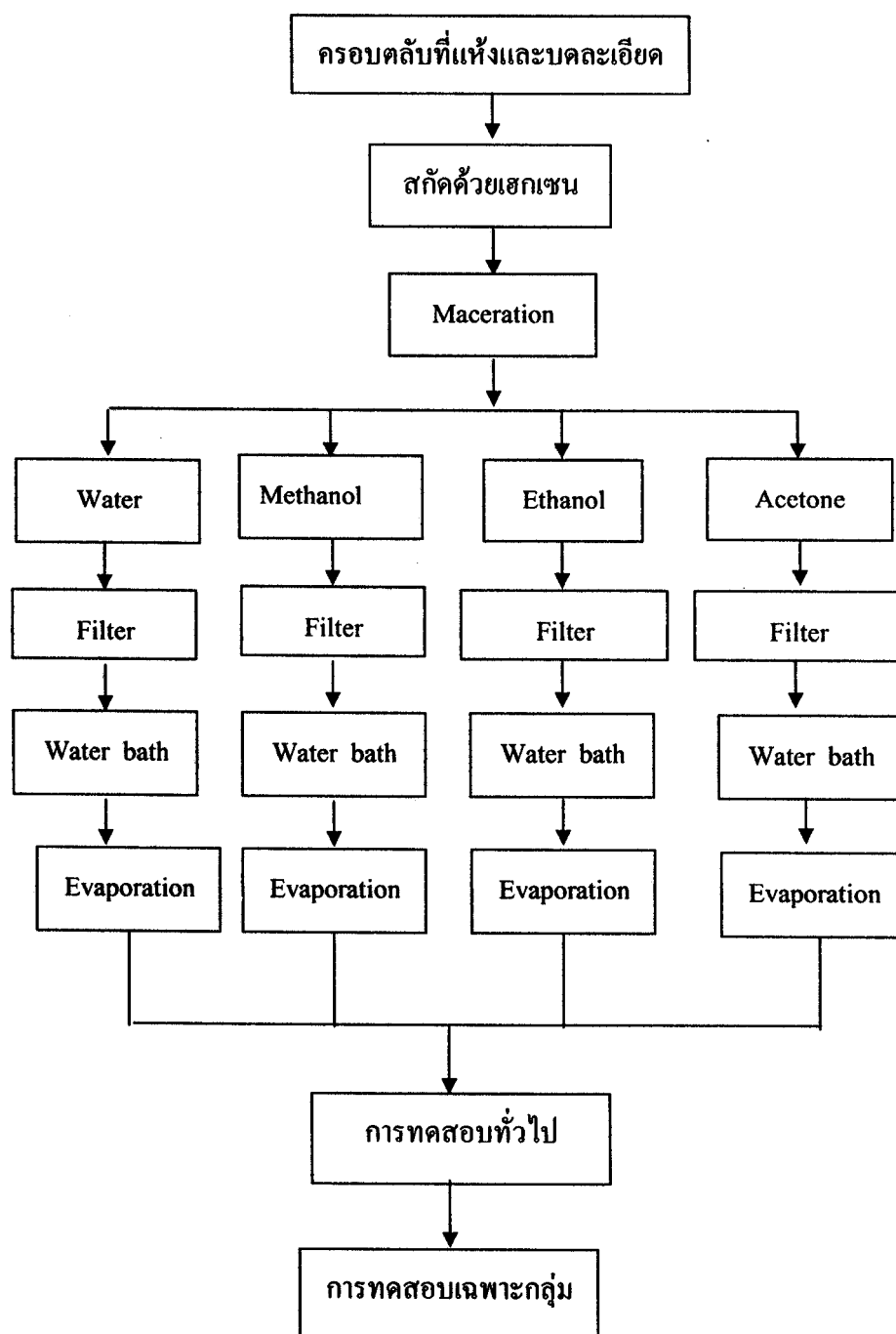
3.3.7 หมักทิ้งไว้ถึง 168 ชั่วโมง บีบสารสกัดออกจากกากให้มากที่สุด จากนั้นให้ความร้อนกับโหลหมักทั้ง 12 โหลมากกว่าอุณหภูมิห้องเล็กน้อย

3.3.8 นำสารที่สกัดทั้งหมดมากรองขณะที่ร้อน โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 41 จากนั้นปล่อยให้สารละลายระเหยจนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 วันบันทึกผลอีกครั้งหนึ่ง

3.3.9 นำ สารสกัดที่ได้จากข้อ 8 แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำมาทดสอบหาแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาคตะกอนแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิด อีกส่วนหนึ่งนำมาทดสอบด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่ม

หมายเหตุ ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรองแยกกากออกจากน้ำยาสกัด

ขั้นตอนดำเนินการทดลอง



3.4 การตรวจสอบเพื่อยืนยันว่ามีสารแอลคาลอยด์

เป็นการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปใช้วิธีการตรวจสอบด้วยน้ำยาตกตะกอน (Precipitating Test)

ตารางที่ 3.1 แสดงน้ำยาตกตะกอน ส่วนประกอบและสีของตะกอนที่ได้จากการตรวจสอบเพื่อยืนยันว่ามีสารแอลคาลอยด์

น้ำยา	ส่วนประกอบ	สีของตะกอน
Dargendorffs	Potassium bismuth iodide	ส้ม
Hager's	Picric acid	เหลือง
Krant's	Iodine-zinc chloride	ส้มน้ำตาลแดง
Mayer's	Potassium mercuric iodide	ขาว
Valser's	Potassium mercuric iodide	ขาวนวล
Wagner's	Iodine in Potassium iodide	น้ำตาลแดง

ในการรายงานว่ามีแอลคาลอยด์มากหรือน้อยในพืชที่ทดสอบใช้สัญลักษณ์ +, ++, +++ +++++ แสดงปริมาณที่มากขึ้นตามลำดับ ถ้าจะให้เป็น semiquantitative อาจใช้เปรียบเทียบตะกอนที่เกิดขึ้นกับตะกอนที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานของแอลคาลอยด์ที่มีความเข้มข้นที่แน่นอนเมื่อใช้รีเอเจนต์และวิธีทดสอบชนิดเดียวกัน

ถ้าได้ผลลบทุกรีเอเจนต์ แสดงว่าไม่มีแอลคาลอยด์เลย

ถ้าได้ผลบวกอาจจะมีแอลคาลอยด์หรือไม่ก็ได้ เพราะสารประกอบในธรรมชาติที่มี N อยู่ อาจทำให้เกิดผลบวกอำพราง (false-positive reaction) ได้เช่น coumarin, α -pyrone, anthraquinone, protein albuminous เป็นต้น

วิธีป้องกันผลบวกอำพราง คือการนำเอาน้ำยาสกัดชั้นต้น มาทำให้บริสุทธิ์ขึ้น ด้วยการทำน้ำยาสกัดให้เป็นค้างแล้วสกัดด้วย CHCl_3 นำไปทดสอบต่อไป

วิธีตรวจสอบ

หยดสารละลาย 0.5% ของแอลคาลอยด์ 2-3 หยด บนแผ่นสไลด์ (ในกรณีมีตะกอนสีขาว ขาวนวลหรือเหลืองอ่อน เดิมกรดเจือจาง 1 หยด แล้วจึงหยดน้ำยาทดสอบ 1-2 หยด (ระวังอย่าหยด น้ำยามากเกินไป) สังเกตสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น บันทึกผลการทดลองโดยใช้สัญลักษณ์ดังนี้

+	ขุ่นเล็กน้อย
++	ขุ่นมาก
+++	เกิดตะกอนชัดเจน
++++	เกิดตะกอนจำนวนมาก
-	ไม่ขุ่น/ไม่เกิดตะกอน
±	ขุ่นน้อยมาก

3.5 การตรวจพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์โดยทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมีเฉพาะกลุ่ม

3.5.1 กลุ่ม Tropane alkaloids มีวิธีการทดสอบดังนี้

3.5.1.1 Vatali-Morin Reaction

- 1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงใน evaporating dish เล็กน้อย
- 2) เดิมกรดไนตริกเข้มข้น แล้วนำไปประเหยแห้งบน water bath จะได้คราบสีเหลือง
- 3) ทิ้งไว้ให้เย็นเติมสารละลายเอซีโตนลงไป 10 หยด ตามด้วย 3เปอร์เซ็นต์ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล 2 หยด จะได้สีม่วงเกิดขึ้นทันที และสีจะจางหายไปเมื่อตั้งทิ้งไว้

3.5.1.2 Rathenasinkam reaction

- 1) ใส่สารสกัดแอลคาลอยด์ลงในหลอดทดลอง เดิมโพแทสเซียมไนเตรท 10 มิลลิกรัมและเดิมกรดกำมะถันเข้มข้น 10 หยด

2) สกัดด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยใช้ Separation funnel นำชั้นคลอโรฟอร์มไประเหยแห้งบนอ่างอังไอน้ำ

3) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรจำนวน 1-2 หยด จะได้สีม่วง

3.5.2 กลุ่ม Quinoline alkaloids ทำการทดสอบ 2 ปฏิกริยา คือ

3.5.2.1 Fluorescence test

1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงใน evaporating dish เล็กน้อย

2) ต้มกรดกำมะถันเข้มข้น ปริมาตร 5 หยด ละลายสารสกัดแอลคาลอยด์แล้วนำไปส่องแสง UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตรจะเรืองแสงสีฟ้า

3.5.2.2 Thalleiquin test

1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายกรดแอซีติกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

2) เติมน้ำโบรมีนลงไป 3 หยด เขย่าแล้วเติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นลงไป 2 หยดจะได้สารละลายสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อเติมกรดเพิ่มขึ้น

3.5.3 กลุ่ม Isoquinoline alkaloids ทำการทดสอบ 2 ปฏิกริยา คือ

3.5.3.1 Froehde's reagent มีวิธีการทดสอบดังนี้

1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงใน evaporating dish เล็กน้อย

2) หยดสารละลาย ammonium molybdate ในกรดกำมะถันเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 3 หยด โดยจะเกิดสารละลายได้หลายสี

3.5.3.2 Mandelin's reagent มีวิธีการทดสอบดังนี้

1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงใน evaporating dish เล็กน้อย

2) หยดสารละลาย ammonium vanadate ในกรดกำมะถันเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 3 หยด และหยดสารละลาย ammonium molybdate ในกรดกำมะถันเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 3 หยด สังเกตสีที่เกิดขึ้น โดยสารละลายจะเกิดสีม่วง

3.5.4 กลุ่ม Indole alkaloids ทำการทดสอบ 3 ปฏิกริยา คือ

3.5.4.1 Froehde's reagent มีวิธีการทดสอบดังนี้

- 1) นำ Residue แอลคาลอยด์ใส่ลงใน evaporating dish เล็กน้อย
- 2) หยดสารละลาย ammonium molybdate ในกรดกำมะถันเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 3 หยด โดยจะได้สีเหลืองกับ reserpine alkaloid

3.5.4.2 Mandelin's reagent โดยการสังเกตสีที่เกิดขึ้นจะได้สารละลายหลายสี

3.5.4.3 Erdmann's reagent วิธีการทดสอบดังนี้

- 1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ใน evaporating dish เล็กน้อย
- 2) หยดสารละลายกรดไนตริกเข้มข้นในกรดกำมะถันเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 3 หยด สังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที โดยสารละลายจะได้สีเหลืองเข้ม

3.5.5 กลุ่ม Alkaloidal amines ทำการทดสอบ 2 ปฏิกริยาดังนี้

3.5.5.1 Ninhydrin test

- 1) นำ สารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 5 หยด
- 2) เติมสารละลาย ninhydrin เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นำไปต้ม 5 นาที เติม amyl alcohol 10 หยด เขย่าจะได้สีม่วงในชั้นของ amyl alcohol

3.5.5.2 Chen's test

- 1) นำสารสกัดแอลคาลอยด์ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์(II) ซัลเฟตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้สักครู่ เติม 1-2 หยดของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 5 N จะได้สีม่วงน้ำเงิน
- 2) เติม Ether 1 มิลลิตร ทิ้งไว้ให้แยกชั้นจะได้สีม่วงในชั้นของ Ether

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การสกัดสารจากครอบตลับ

4.1.1 เมื่อนำใบของครอบตลับจำนวน 2.02, 2.00, 2.07 และ 2.08 กรัม ใส่ลงในตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ สังเกตสารละลายตามระยะเวลา 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 168 ชั่วโมง ลักษณะของสารละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลง จึงนำสารละลายทั้ง 4 โดไปกรอง เมื่อนำไประเหยแห้งได้สารละลายมีลักษณะและปริมาณดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะสารละลายของใบ เมื่อหมักด้วย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำเป็น เวลา 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง ก่อนกรองและระเหยแห้ง

เวลาในการ สกัด(ชั่วโมง)	ตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร			
	Methanol	Ethanol	Acetone	น้ำ
3	สารละลายมีสี เขียวตกตะกอน อย่างรวดเร็ว	สารละลายสีเขียว อ่อนปนเหลืองอม ขาวตกตะกอน	สารละลายสีเขียว ตกตะกอน อย่างรวดเร็ว	สารละลายสีเหลือง เข้ม ตกตะกอน มีสารแขวนลอย เล็กน้อย
24	สารละลายสีเขียว ตกตะกอน อย่างรวดเร็ว	สารละลายสีเขียว เข้มปนสีเหลือง	สารละลายสีเขียว ตกตะกอน	สารละลาย สีเหลืองเข้ม ตกตะกอน
72	สารละลายสีเขียว ปนดำ	สารละลาย สีเขียวปนดำ	สารละลาย สีเขียวปนดำ	สารละลาย สีน้ำตาล
120	สารละลายสีเขียว ปนดำ	สารละลายสีเขียว ปนดำ	สารละลาย สีเขียวปนดำ	สารละลาย สีน้ำตาล
168	สารละลาย สีเขียวเข้ม	สารละลาย สีเขียวเข้ม	สารละลาย สีเขียวเข้ม	สารละลาย สีน้ำตาล
ระเหยแห้ง	สารสกัด สีเหลืองเข้ม	สารสกัดสีเขียวเข้ม	สารสกัดสีน้ำตาล	สารสกัด สีน้ำตาลเข้ม

จากการสังเกตผลการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง นำสารสกัดมาละลายในตัว
ทำละลายเดิมทั้ง 4 ชนิดปริมาตร 10 มิลลิลิตรสีของสารสกัดจากใบของกรอบกลับไม่มีการเปลี่ยนแปลง
ต่อไปอีก จึงปล่อยให้ระเหยแห้งและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัดได้ผลดังแสดงใน
ตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของใบกรอบตลับ น้ำหนักของสารสกัดและร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดเมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ

น้ำหนักกรอบตลับ (กรัม)	ตัวทำละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
น้ำหนักกรอบตลับแห้ง	2.02	2.00	2.07	2.08
น้ำหนักสารสกัด	0.89	0.48	0.34	0.40
ร้อยละโดยน้ำหนัก	43	24	16	13

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดของใบจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดตัวทำละลายที่สกัดได้เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ

4.1.3 เมื่อนำลำต้นของกรอบตลับจำนวน 2.02 ,3.05, 2.08 และ 3.05 กรัม ใส่ลงในตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ สังเกตสารละลายตามระยะเวลา 3, 24 72,120 และ 168 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 168 ชั่วโมงลักษณะของสารละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลง จึงนำสารละลายทั้ง 4 โถไปกรอง เมื่อนำไประเหยแห้งได้สารละลายมีลักษณะและปริมาณดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสารละลายของลำต้น เมื่อหมักด้วย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ เป็นเวลา 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง และลักษณะของสารสกัดหลังกรองและระเหยแห้ง

เวลาในการสกัด(ชั่วโมง)	ตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
3	สารละลายสีเขียวปนเหลืองมีสารแขวนลอย	สารละลายสีเขียวปนเหลืองตกตะกอนมีสารแขวนลอยเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว	สารละลายสีเขียวปนเหลืองตกตะกอน	สารละลายสีเหลืองตกตะกอนมีฟองอากาศเกิดขึ้นมีสารแขวนลอยเล็กน้อย
24	สารละลายสีเขียวปนเหลือง	สารละลายสีเขียวปนเหลืองตกตะกอน	สารละลายสีเขียวปนเหลืองตกตะกอน	สารละลายสีเหลืองตกตะกอนมีฟองอากาศเกิดขึ้น
72	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล
120	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล
168	สารละลายสีเขียวปนดำ	สารละลายสีเขียวปนดำ	สารละลายสีเขียวปนดำ	สารละลายสีน้ำตาล
ระเหยแห้ง	สารสกัดสีเขียวนปนเหลือง	สารสกัดสีเหลือง	สารสกัดสีเหลือง	สารสกัดสีเหลือง

จากการสังเกตผลการทดลองเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 168 ชั่วโมง นำสารสกัดจากลำต้นมาละลายในตัวทำละลายเดิมทั้ง 4 ชนิดปริมาตร 10 มิลลิลิตรสีของสารสกัดจากลำต้นของกรอบกลับไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไปอีก จึงปล่อยให้ระเหยแห้งและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัดได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของลำต้นกรอบตลับ น้ำหนักของสารสกัด และร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัด เมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ

น้ำหนักกรอบตลับ (กรัม)	ตัวทำละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
น้ำหนักกรอบตลับแห้ง	2.02	3.05	2.08	3.05
น้ำหนักสารสกัด	0.45	0.72	0.16	0.37
ร้อยละโดยน้ำหนัก	22	24	8	12

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดของลำต้นจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดตัวทำละลายที่สกัดได้เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้คือ เอทานอล เมทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ

4.1.3 เมื่อนำผลของกรอบตลับจำนวน 3.06, 3.01, 3.31 และ 3.05 กรัม ใส่ลงในตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ สังเกตสารละลายตามระยะเวลา 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 168 ชั่วโมง ลักษณะของสารละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลง จึงนำสารละลายทั้ง 4 โถไปกรอง เมื่อนำไประเหยแห้งได้สารละลายมีลักษณะและปริมาณดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงลักษณะของสารละลายของผล เมื่อหมักด้วย เมทานอล เอทานอลแอซีโตน และน้ำ เป็นเวลา 3, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง และลักษณะของสารสกัดหลังกรอง และระเหยแห้ง

เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	ตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
3	สารละลายสีขาวขุ่นและขาวอมเหลือง ตกตะกอนอย่างรวดเร็ว	สารละลายสีขาวขุ่นตกตะกอน	สารละลายสีขาวขุ่นตกตะกอนเมื่อเขย่ามีสีดำ	สารละลายสีน้ำตาลปนเหลืองตกตะกอน มีสารแขวนลอยเล็กน้อย
24	สารละลายสีขาวขุ่น	สารละลายสีขาวขุ่น	สารละลายสีขาวขุ่นตกตะกอน	สารละลายสีน้ำตาลปนเหลืองตกตะกอน
72	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาลเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม
120	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาล	สารละลายสีเหลืองเข้มปนน้ำตาลเข้ม	สารละลายสีเหลืองเข้ม
168	สารละลายสีเขียวปนเหลือง	สารละลายสีเขียวปนเหลือง	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายสีเหลือง
ระเหยแห้ง	สารสกัด สีเหลืองปนน้ำตาลเข้ม	สารสกัดสีน้ำตาล	สารสกัดใสไม่มีสี	สารสกัดสีน้ำตาล

จากการสังเกตผลการทดลองเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 168 ชั่วโมง นำสารสกัดจากผลมาละลายในตัวทำละลายเดิมทั้ง 4 ชนิดปริมาตร 10 มิลลิลิตรสีของสารสกัดจากผลของกรอบกลับไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไปอีก จึงปล่อยให้ระเหยแห้งและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัดได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงน้ำหนักตัวอย่างของผลครอบกลับ น้ำหนักของสารสกัด และร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัด เมื่อหมักด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ

น้ำหนักครอบกลับ (กรัม)	ตัวทำละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
น้ำหนักครอบกลับแห้ง	3.06	3.01	3.31	3.05
น้ำหนักสารสกัด	0.78	0.39	0.51	0.18
ร้อยละโดยน้ำหนัก	26	13	15	6

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดของลำต้นจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดตัวทำละลายที่สกัดได้เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้คือ เมทานอล แอซีโตน เอทานอล และน้ำตามลำดับ

4.2 การทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยน้ำยาตกตะกอนทั่วไป

นำสารสกัดของใบ ลำต้น และผล ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และนำมาทำการทดสอบหาแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาตกตะกอน Dragendorff's, Hager's Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7, 4.8 และ 4.9

หมายเหตุ การสกัดแอลคาลอยด์จะต้องปรับน้ำยาสกัดชั้นตอน crude extract ให้มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนก่อนนำมาทดสอบกับน้ำยาทดสอบชนิดต่าง ๆ อีก 4 - 5 ชนิด

ตารางที่ 4.7 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของใบ

น้ำยาทดสอบ	ตัวทำละลาย			
ก. น้ำยาคตกตะกอน	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Dragendorff's reagent	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้ม
Hager's reagent	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีเหลือง	สารละลายสีน้ำตาลปนเหลือง
Krant's reagent	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเขียวปนเหลือง	สารละลายสีส้มปนน้ำตาล
Mayer's reagent	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีน้ำตาล
Valser's reagent	สารละลายสีเหลืองปนเขียว	สารละลายสีเหลืองปนเขียว	สารละลายสีเหลืองปนน้ำตาล	สารละลายสีขาวปนน้ำตาล
Wagner's reagent	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีเขียว

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาคตกตะกอน Dragendorff's, Hager's, Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent สารละลายของใบในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับน้ำยาคตกตะกอนทั้ง 6 ชนิด สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีสารแอลคาลอยด์

ตารางที่ 4.8 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของลำต้น

น้ำยาทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Dragendorff's reagent	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้มปนเหลือง
Hager's reagent	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีเหลือง	ตะกอนสีเหลือง
Krant's reagent	สารละลายสีส้มปนน้ำตาล	สารละลายสีส้มปนน้ำตาล	สารละลายสีส้มปนน้ำตาล	สารละลายสีส้มปนน้ำตาล
Mayer's reagent	สารละลายสีขาวใส	สารละลายสีขาว	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีขาวขุ่น
Valser's reagent	สารละลายสีขาวใส	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวปนเหลือง	สารละลายสีขาวนวล
Wagner's reagent	สารละลายใสปนเหลือง	สารละลายใสปนเหลือง	สารละลายใสปนเขียว	สารละลายใสปนเขียว

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาตกตะกอน Dragendorff's, Hager's, Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent สารละลายของลำต้นในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับน้ำยาตกตะกอนทั้ง 6 ชนิด สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีสารแอลคาลอยด์

ตารางที่ 4.9 ผลการตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปของผล

น้ำยาทดสอบ	ตัวทำละลายของผล			
ก. น้ำยาคกตะกอน	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Dragendorff's reagent	สารละลาย สีน้ำตาล ปนเหลือง	สารละลาย สีน้ำตาล ปนเหลือง	สารละลาย สีน้ำตาล ปนเหลือง	สารละลายสีส้ม ปนเหลือง
Hager's reagent	สารละลาย สีเหลืองเข้ม	สารละลาย สีเหลืองเข้ม	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเหลืองเข้ม
Krant's reagent	สารละลาย สีเหลืองเข้ม	สารละลาย สีเหลือง	สารละลายสีเขียว ปนเหลือง	สารละลายสีส้ม ปนน้ำตาล
Mayer's reagent	สารละลาย สีขาว	สารละลาย สีขาว	สารละลาย สีขาวปนเหลือง	สารละลาย สีขาวขุ่น
Valser's reagent	สารละลายสี ขาวปนเหลือง	สารละลาย สีขาวนวล	สารละลาย สีขาวนวล	สารละลาย สีขาวปนเหลือง
Wagner's reagent	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเขียว	สารละลาย สีเขียว

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาคกตะกอน Dragendorff's, Hager's, Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent สารละลายของผลในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับน้ำยาคกตะกอนทั้ง 6 ชนิด สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีสารแอลคาลอยด์

4.3 การพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์โดยการทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมีเฉพาะกลุ่ม

นำสารสกัด ของใบ ลำต้น และผลที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ มาทำการทดสอบหาแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่ม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17 และ 4.18

หมายเหตุ การสกัดแอลคาลอยด์จะต้องปรับน้ำยาสกัดชั้นตอน crude extract ให้มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนก่อนนำมาทดสอบกับน้ำยาทดสอบ

4.3.1 การทดสอบ กลุ่ม Tropane alkaloids

ตารางที่ 4.10 การทดสอบด้วย Vitali-motion Reaction

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกต			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเขียวอ่อน	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้มเข้ม
ลำต้น	สารละลายสีเหลือง	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายสีเขียว
ผล	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีเขียวอ่อน	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง

ตารางที่ 4.11 การทดสอบด้วย Rathenasinkam Reaction

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลายสีส้มเข้ม	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเขียวอ่อน
ลำต้น	สารละลายสีเขียว	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายสีเหลือง	สารละลายใสไม่มีสี
ผล	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีเขียวอ่อน

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี สารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับ Vitali-motion Reaction และ Rathenasinkam Reaction สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีกลุ่มโทรเปนแอลคาลอยด์

4.3.2 การทดสอบ กลุ่ม Alkaloidal Amines หรือ Ephedrine alkaloids

ตารางที่ 4.12 การทดสอบด้วย Ninhydrin test

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง ตะกอนสีขาวขุ่น
ลำต้น	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง
ผล	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง	สารละลายสีม่วงปนเหลือง

ตารางที่ 4.13 การทดสอบด้วย Chen's test

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)
ลำต้น	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)
ผล	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสีฟ้า)

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี สารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับ Ninhydrin test และ ให้ผลลบกับ Chen's test สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีแอลคาลอยด์อัลเคอีนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

4.3.3 การทดสอบ กลุ่ม Quinoline alkaloids

ตารางที่ 4.14 การทดสอบด้วย Fluorescence test

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้หลังเติมสารละลาย กรด H_2SO_4 และส่องด้วยแสง UV ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	ตะกอนสีน้ำตาลเข้มเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีน้ำตาลเข้มเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีน้ำตาลเข้มเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีเหลืองปนน้ำตาลเรืองแสงสีส้ม
ลำต้น	ตะกอนสีขาวนวลปนน้ำตาลเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีขาวนวลปนน้ำตาลเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีขาวนวลปนน้ำตาลเรืองแสงสีส้ม	ตะกอนสีขาวนวลปนน้ำตาลเรืองแสงสีส้ม
ผล	ตะกอนสีเหลืองปนน้ำตาลเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีขาวนวลปนน้ำตาลเรืองแสงสีฟ้า	ตะกอนสีน้ำตาลเข้มเรืองแสงสีส้ม	ตะกอนสีน้ำตาลเรืองแสงสีส้ม

ตารางที่ 4.15 การทดสอบด้วย Thalleiquin test

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลายสีเหลืองเข้ม	สารละลายสีเหลืองปนเขียว	สารละลายสีเขียว	สารละลายสีน้ำตาล
ลำต้น	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายสีเหลืองอ่อน	สารละลายสีเหลือง	สารละลายใสไม่มีสี
ผล	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีเหลืองอ่อน	สารละลายสีเหลืองอ่อน	สารละลายสีเหลือง

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี สารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวก กับ Fluorescence test และ Thalleiquin test สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีกลุ่มควิโนลีนแอลคาลอยด์

4.3.4 การทดสอบ กลุ่ม Indole alkaloid

ตารางที่ 4.16 การทดสอบด้วย Froehde's reagent ที่อุณหภูมิ 25 °C

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้หลังเติมสารละลาย ammonium molybdate + H ₂ SO ₄			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลาย สีเหลืองอ่อน	สารละลาย สีเหลืองอ่อน	สารละลายสี เหลือง ปนเขียว	สารละลาย สีเหลืองปนน้ำตาล
ลำต้น	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเหลืองอ่อน	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเหลือง
ผล	สารละลาย สีเหลืองเข้ม	สารละลายสี เหลือง	สารละลาย สีเหลือง	สารละลาย สีเหลือง

ตารางที่ 4.17 การทดสอบด้วย Froehde's reagent ที่อุณหภูมิ 80°C

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ
ลำต้น	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ
ผล	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ	สารละลาย น้ำเงินเข้มและ เปลี่ยนเป็นสีดำ

ตารางที่ 4.18 การทดสอบด้วย Mandelin's reagent

การทดลองที่	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
ใบ	สารละลาย สีเหลืองเข้ม	สารละลายสี เหลืองปนส้ม	สารละลายสี เหลืองปนส้ม	ตะกอนสีน้ำตาล
ลำต้น	สารละลาย สีขาวนวล	สารละลาย สีขาวนวล	สารละลาย สีขาวนวล	สารละลาย สีขาวนวล
ผล	ตะกอนสีขาว สารละลาย สีเหลืองเข้ม	ตะกอนสีขาว สารละลายสีฟ้า	ตะกอนสีขาว สารละลายสีฟ้า	ตะกอนสีน้ำตาล สารละลาย สีเขียวเข้ม

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี สารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวก กับ Froehde's reagent ที่อุณหภูมิ 25 และ 80 °C และ Mandelin's reagent สังเกตจากความเข้ม

ของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีกลุ่มอินโดลแอลคาลอยด์

4.4 การพิสูจน์ปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล

นำสารสกัด ของใบ ลำต้น และผล ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ มาทำการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดลด้วยน้ำยาตกตะกอน conc.H₂SO₄, conc.HNO₃ และ Erdmann's reagent ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 19, 20 และ 21

ตารางที่ 19 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดลของใบ

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
น้ำยาตกตะกอน	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
conc.H ₂ SO ₄	ตะกอนสีน้ำตาล	สารละลายสีแดงปนน้ำตาล	สารละลายสีดำตกตะกอน	สารละลายสีเหลืองปนเขียว
conc.HNO ₃	สารละลายสีเขียวตกตะกอน	สารละลายสีแดงส้มตกตะกอน	สารละลายสีเขียวตกตะกอน	สารละลายใสตกตะกอนสีน้ำตาล
Erdmann's reagent	สารละลายสีเหลืองตะกอนสีขาว	สารละลายใสไม่มีสีตะกอนสีขาว	สารละลายสีเหลืองตะกอนสีขาว	สารละลายใสไม่มีสีตะกอนสีขาว

ตารางที่ 4.20 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคลของลำต้น

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
น้ำยาคตกอน	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
conc.H ₂ SO ₄	ตะกอนสีน้ำตาล	ตะกอนสีแดง ปนน้ำตาล	ตะกอนสีดำ	สารละลาย สีเหลืองอมเขียว
conc.HNO ₃	สารละลายสีเขียว ตะกอนสีขาว	สารละลายสีแดง ตะกอนสีส้ม	สารละลายสีเขียว ตะกอนสีขาว	สารละลายใส มีตะกอน สีน้ำตาล
Erdmann's reagent	สารละลายสีเขียว ตะกอนสีขาว	สารละลาย สีเหลือง ตะกอนสีขาว	สารละลายสีส้ม ตะกอนสีขาว	สารละลาย สีน้ำตาล ตะกอนสีขาว

ตารางที่ 4.21 การตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของแอลคาลอยด์กลุ่มอิน โคลของผล

การทดสอบ	ตัวทำละลายของผล			
น้ำยาคตกอน	Methanol	Ethanol	Acetone	น้ำ
conc.H ₂ SO ₄	สารละลาย สีแดงปนเหลือง	สารละลาย สีแดง	สารละลายใส ตะกอนสีดำ	สารละลาย สีเหลืองปนเขียว
conc.HNO ₃	สารละลายใส ตะกอนสีดำ	สารละลายสีส้ม ตะกอนสีดำ	สารละลายใส ตะกอนสีดำ	สารละลายใส ตะกอนสีขาว
Erdmann's reagent	สารละลาย สีเหลือง ตะกอนสีขาว	ตะกอนสีขาวขุ่น	สารละลาย สีเหลือง ตะกอนสีขาว	ตะกอนสีน้ำตาล

จากการสังเกตและวิเคราะห์ผลการทดลองเมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี สารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับ conc.H₂SO₄, conc. HNO₃ และ Erdmann's reagent สังเกตจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีกลุ่มอิน โคลแอลคาลอยด์

4.5 สรุปผลการทดลอง

4.5.1 วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

4.5.1.1 เมื่อคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดจากใบ ผล และลำต้นของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ตัวทำละลายที่สกัดได้มากที่สุดคือ เมทานอล ส่วนเอทานอล แอซีโตน และน้ำ ร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดขึ้นอยู่กับสภาวะการทดลอง

4.5.1.2 เมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ทั่วไปด้วยน้ำยาตกตะกอน Dragendorff's Hager's, Krant's, Mayer's, Valser's และ Wagner's reagent สารละลายของใบ ลำต้น และผลใน ตัวทำละลายของเมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ ให้ผลบวกกับน้ำยาตกตะกอนทั้ง 6 ชนิด จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบพบสารแอลคาลอยด์ทุกรีเอเจนต์

4.5.1.3 เมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีสารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายของเมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำให้ผลบวกต่อรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบแอลคาลอยด์ที่พบได้แก่ กลุ่มอินโดน ควิโนลีน ไอโซควิโนลีน และดัลเอมีน

4.5.1.4 เมื่อทำการทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเฉพาะกลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีสารละลายของใบ ผล ลำต้น ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดให้ผลบวกกับ $\text{conc.H}_2\text{SO}_4$, conc.HNO_3 และ Erdmann's reagent สัมผัสจากความเข้มของสีและปริมาณของตะกอนที่เกิดขึ้น จึงสามารถยืนยันได้ว่าในสารสกัดที่นำมาทดสอบมีกลุ่มอินโดลแอลคาลอยด์

4.5.2 วิเคราะห์ผลการทดลอง

เมื่อคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดจากใบ ของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ตัวทำละลายที่สกัดได้มากไปน้อยคือ เอทานอล เมทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ ส่วนร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดจากลำต้นตัวทำละลายที่สกัดได้มากไปน้อยคือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำตามลำดับ และร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดจากผลของตัวทำละลายที่สกัดได้มากไปน้อยคือ เมทานอล แอซีโตน เอทานอล และน้ำตามลำดับ สาเหตุเนื่องจากการขังหามวลของสารและการคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักมีค่าคลาดเคลื่อน สามารถแก้ไขได้โดยการทดลอง 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

บทที่ 5

วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการสกัดและตรวจสอบแอลคาลอยด์จากตัวอย่างของครอบตลับคือ ผล ลำต้น และใบ ด้วยเทคนิคการหมักด้วยตัวทำละลาย โดยการหมักผงพืชในภาชนะปิดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง ปรากฏผลดังนี้

5.1.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมคือ 7 วัน (168 ชั่วโมง) ติดต่อกัน เนื่องจากสีของสารละลายคงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไปอีก

5.1.2 ตัวทำละลายที่เหมาะสมและสกัดได้มากที่สุดเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยคือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ ตามลำดับ

5.1.3 นำสารสกัดที่ได้มาละลายในตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ ที่ร้อนปริมาณอย่างละ 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้ได้สารสกัด กรองสารสกัดที่ได้นำมาทำให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักสารสกัด และคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดที่ได้ ปรากฏว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลายของเมทานอลได้ ร้อยละโดยน้ำหนักมากที่สุดเฉลี่ยร้อยละ 30 ส่วน เอทานอล แอซีโตน และน้ำ ได้ร้อยละ 20, 13 และ 10 ตามลำดับ

5.1.4 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ทั่วไป โดยการทดสอบกับน้ำยาคกตะกอน ปรากฏว่า แอลคาลอยด์ที่พบจากการทดสอบได้แก่ แอลคาลอยด์กลุ่ม อินโดล โทรเพน ควิโนลีน ไอโซควิโนลีน และคัลเอมีน เพราะให้ผลบวกกับน้ำยาคกตะกอนที่ใช้ทดสอบทั้ง 6 ชนิด

5.1.5 การพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์ด้วยปฏิกิริยาเคมีเฉพาะกลุ่มโดยใช้การทดสอบ Froehde's reagent และ Mandelin's reagent สารละลายของผล ลำต้น และใบ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสีเหลืองเข้มตามลำดับ จากผลการทดลองยืนยันได้ว่าสารที่นำมาทดสอบส่วนหนึ่งจะมีโครงสร้างของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล และกลุ่มไอโซควิโนลีน ส่วนการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี (color test) ของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล เพื่อยืนยันว่าเป็นแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล น้ำยาที่ใช้ทดสอบได้แก่ กรดกำมะถันเข้มข้น กรดไนตริกเข้มข้น และErdmann's reagent จากผลการตรวจสอบปฏิกิริยาการเกิดสีสามารถยืนยันได้ว่าในใบ ลำต้น และผลของครอบตลับแอลคาลอยด์ที่พบส่วนมากจะมีโครงสร้าง

หลักเป็นแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล โดยสังเกตจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารตัวอย่างกับน้ำยาทดสอบชนิดต่าง ๆ จากผลการทดลองแอลคาลอยด์ที่ตรวจสอบจะมีโครงสร้างส่วนหนึ่งเป็นเรสเซอพินแอลคาลอยด์ ใช้เป็นยาลดความดันโลหิต รักษาโรคประสาท และโรคนอนไม่หลับ ซึ่งชาวบ้านใช้ครอบคัลป์ในการรักษาโรคความดันและโรคเบาหวาน โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิเท่ากับจุดเดือดของสารละลาย [4]

5.2 วิจัยการทดลอง

5.2.1 สารสกัดของแอลคาลอยด์ที่สกัดได้โดยการหมักด้วยตัวทำละลายไม่บริสุทธิ์ เมื่อนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง NMR พิกที่เกิเกิดขึ้นไม่ชัดเจนทำให้หาสูตรโครงสร้างโมเลกุลของสารไม่สามารถแก้ไขได้โดยใช้ชุดอุปกรณ์ Soxhlet's extraction ซึ่งเป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง

5.2.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin-layer Chromatography สีของสารที่แยกได้เป็นแถบยาวไม่ชัดเจนทำให้ไม่สามารถหาค่า R_f ของสารได้ สามารถแก้ไขได้โดยใช้ Column Chromatography

5.2.3 การวิเคราะห์หาร้อยละโดยน้ำหนักของสารที่สกัดได้ มีค่าคลาดเคลื่อนสาเหตุเนื่องมาจากการชั่งสารเพียงครั้งเดียวสามารถแก้ไขได้โดยการทดลอง 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรใช้ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดแยกให้มากขึ้น เพื่อที่จะให้สามารถแยกแอลคาลอยด์ที่อาจจะมีอยู่ในพืชที่ใช้ในการทดลองแต่มีปริมาณน้อย ซึ่งการทดลองนี้ไม่สามารถแยกและทราบปริมาณของแอลคาลอยด์นั้น ๆ ได้

5.3.2 ในการทดลองในขั้นทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ; NMR ควรทำการแยกแอลคาลอยด์ด้วยเทคนิค Column Chromatography และทำการทดสอบสารที่ออกจากคอลัมน์ด้วยเทคนิค Thin-layer Chromatography ควบคู่ไปด้วย เพื่อให้ทราบว่ามีการถูกแยกออกมาหรือไม่ และควรเพิ่มความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่เป็นเท่าใด

5.3.3 ควรทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแอลคาลอยด์ที่แยกได้ให้มากขึ้น เช่น จุดเดือด จุดหลอมเหลวการหมุนระนาบของแสงโพลาไรซ์ ความคงทนต่อความร้อน ความสามารถในการละลายน้ำ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประยุกต์ใช้ทางเภสัชวิทยา และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาทางคลินิกเพื่อพัฒนาในการใช้เป็นยาต่อไป

5.3.4 ควรใช้ข้อมูลจากเทคนิคอื่น ๆ ประกอบการวิเคราะห์โครงสร้างของแอลคาลอยด์ที่
แยกได้ ตัวอย่าง เช่น Infrared Spectroscopy ; IR หรือ Mass Spectrometry

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- [1] โชติ จิตรังษี เอกสารประกอบการบรรยายวิชาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2548.
- [2] บุญสาร โขธมาตย์ 6/1 หมู่ 8 ถนนขยางกูร พุทธอุทยาน ต. บุ่ง อ. เมือง จ. อำนาจเจริญ (ข้อมูลส่วนตัว), 2547.
- [3] นาดยา งามโรจนวิทย์ คู่มือปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.
- [4] เพ็ญพรรณ เวชวิทย์ การสกัดและการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2534.
- [5] คู่มือปฏิบัติการเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ ภาควิชาเภสัชเวท สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2534.
- [6] คู่มือปฏิบัติการพฤกษเคมี สำหรับนักศึกษาเภสัชศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหิดล, 2534.
- [7] รัตนา อินทรานุปกรณ์ การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.
- [8] วินิจ พรหมอารักษ์ เอกสารประกอบการบรรยายวิชาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2548.
- [9] เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง แนวทางการพัฒนาสมุนไพรของประเทศไทย สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2547.
- [10] เอมอร์ โสมนะพันธ์ และคณะ การตรวจสอบแอลคาลอยด์เฉพาะกลุ่ม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหิดล, 2547.
- [11] เสรียม พงษ์บุญรอด ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย แพทย์แผนโบราณชั้น 1 และผู้ช่วยแพทย์แผนปัจจุบันพนักงานวิทยาศาสตร์แผนกสมุนไพรแห่งกองเภสัชกรรม กรมวิทยาศาสตร์, 2547.
- [12] K.N Gaid and K.S Chopra Phytochemical Investigation of *Abutilon Indicu*, Laboratory Poona : India, 1976.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมรีเอเจนต์

ภาคผนวก

ก. การเตรียมรีเอเจนต์

ก.1 Dragendroff's reagent

- 1) Bismuth nitrate 8.00 กรัม
- 2) Nitric acid 20.0 มิลลิลิตร
- 3) Potassium iodide 27.20 กรัม
- 4) น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ละลาย Bismuth nitrate ในกรดดินประสิว แล้วละลาย potassium iodide ในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เทสารละลาย potassium iodide ลงในสารละลาย Bismuth nitrate เติมน้ำกลั่นจนครบ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ก.2 Dragendroff's spray reagent

- 1) Stock solution A: ละลาย bismuth nitrate 0.85 กรัม ในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร และ glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร
- 2) Stock solution B: ละลาย Potassium iodide 8.00 กรัม ในน้ำ 20 มิลลิลิตร
- 3) Spray solution: ผสม Stock solution A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน เติม glacial acetic acid 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ก.3 Hager's reagent

ละลาย Picric acid ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จนอิ่มตัว (จะได้สารละลายสีเหลืองใสอ่อนๆ)

ก.4 Krant's reagent

ละลาย bismuth nitrate 4.00 กรัม ใน conc.nitric acid 10 มิลลิลิตร ละลาย potassium iodide 0.72 กรัม ในน้ำกลั่น เทสารละลาย potassium iodide ลงในสารละลาย bismuth nitrate เติมน้ำกลั่นให้ครบ 50 มิลลิลิตร

ก.5 Mayer's reagent

- 1) Mercuric chloride 1.36 กรัม

2) Potassium iodide 5.00 กรัม

3) น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ละลาย mercuric chloride ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร ละลาย Potassium iodide ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นเทสารละลาย mercuric chloride ลงในสารละลาย Potassium iodide เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

ก.6 Valser's reagent

ละลาย Potassium iodide 1.00 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติม Red Mercuric Iodide 0.20 กรัม ลงทีละน้อยจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบ 50 มิลลิลิตร

ก.7 Wagner's reagent

1) Iodine 1.30 กรัม

2) Potassium iodide 2.00 กรัม

3) น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ละลาย Potassium iodide ในน้ำกลั่นแล้วค่อยๆ เติม Iodine ลงไปจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

ก.8 Bromine water

1) Potassium bromide 15.00 กรัม

2) Potassium bromate 3.00 กรัม

3) น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

เวลาที่จะทดสอบ ใช้สารละลายที่เตรียมได้ 5 ส่วน ผสมกับ conc.hydrochloric acid 1 ส่วน เตรียมแล้วใช้ทันที

ภาคผนวก ข
การทดสอบรีเอเจนต์กับตัวทำละลาย

ข. การทดสอบรีเอเจนต์กับตัวทำละลายบริสุทธิ์

ข.1 เมื่อนำน้ำยาคะตะกอนของแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิดไปทดสอบกับตัวทำละลายบริสุทธิ์คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 6 ชนิดแสดงได้ ดังตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 สีของสารละลายเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาคะตะกอนแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิด

น้ำยาคะตะกอน	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Dragendorff's reagent (น้ำยาสีส้ม)	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม	สารละลายสีส้ม
Hager's reagent (น้ำยาสีเหลือง)	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง
Krant's reagent (น้ำยาสีเหลือง)	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลือง
Mayer's reagent (น้ำยาสีขาวนวล)	สารละลายใส ไม่มีสี	สารละลายใส ไม่มีสี	สารละลายใส ไม่มีสี	สารละลายใส ไม่มีสี
Valser's reagent (น้ำยาสีชมพู)	สารละลายสีชมพูอ่อน	สารละลายสีชมพูอ่อน	สารละลายสีชมพูอ่อน	สารละลายสีชมพูอ่อน
Wagner's reagent (น้ำยาสีน้ำตาลแดง)	สารละลายสีน้ำตาลแดง	สารละลายสีน้ำตาลแดง	สารละลายสีน้ำตาลแดง	สารละลายสีน้ำตาลแดง

ข.2 การทดสอบแอลคาลอยด์กลุ่มโทรเปน

เมื่อทำการทดสอบด้วย Vitali – Motion reaction และ Rathenasinkam Reaction กับตัวทำละลายคือ เมทานอล, เอทานอล, แอซีโตน และน้ำ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแสดงได้ดังตารางที่ ข.2

ตารางที่ ข.2 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มโทรเปนกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Vitali-motion Reaction (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ methanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ ethanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ acetone)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของน้ำ)
Rathenasinkam Reaction (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ methanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ ethanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ acetone)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของน้ำ)

ข.3 การทดสอบแอลคาลอยด์กลุ่มอีพรีดรีน

เมื่อทำการทดสอบด้วย Ninhydrin test และ Chen's test กับตัวทำละลายคือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแสดงได้ดังตารางที่ ข.3

ตารางที่ ข.3 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มอีพรีดรีน กับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Ninhydrin test (สารละลายสีขาว นวล)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสี ขาวนวลของ Ninhydrin)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสี ขาวนวลของ Ninhydrin)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสี ขาวนวลของ Ninhydrin)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายสี ขาวนวลของ Ninhydrin)
Chen's test (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ methanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ ethanol)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของ acetone)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สีของน้ำ)

ข.4 การทดสอบแอลคาลอยด์กลุ่มควิโนลีน

เมื่อทำการทดสอบด้วย Fluorescence test และ Thalleiquin test กับตัวทำละลายคือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแสดงได้ ดังตารางที่ ข.4

ตารางที่ ข.4 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มควิโนลีนกับ ตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Fluorescence test	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายใส ไม่มีสี)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลายใส ไม่มีสี)
Thalleiquin test (สารละลาย สีเหลืองอ่อน)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลาย สีเหลืองอ่อน)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลาย สีเหลืองอ่อน)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลาย สีเหลืองอ่อน)	ไม่เปลี่ยนแปลง (สารละลาย สีเหลืองอ่อน)

ข.5 การทดสอบแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดล

เมื่อทำการทดสอบด้วย Froehde's reagent และ Mandelin's reagent กับตัวทำละลายคือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และน้ำ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแสดงได้ดังตารางที่ ข.5

ตารางที่ ข.5 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มอินโดลกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Froehde's reagent (สารละลายสีขาวนวล)	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายใสไม่มีสี
Mandelin's reagent (สารละลายสีขาวนวล)	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายใสไม่มีสี
Erdmann's reagent (สารละลายใสไม่มีสี)	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี
Conc. H_2HO_4 (สารละลายใสไม่มีสี)	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี
Conc. HNO_3 (สารละลายใสไม่มีสี)	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี	สารละลายใสไม่มีสี

ข.6 การทดสอบแอลคาลอยด์กลุ่มไอโซควิโนลีน

เมื่อทำการทดสอบด้วย Froehde's reagent และ Mandelin's reagent กับตัวทำละลายคือ เมทานอล เอทานอล, แอซีโตน และน้ำ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดแสดงได้ดังตารางที่ ข.6

ตารางที่ ข. 6 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และปฏิกิริยาเฉพาะของแอลคาลอยด์กลุ่มไอโซควิโนลีนกับตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบ	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
Froehde's reagent (สารละลายสีขาวนวล)	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายใสไม่มีสี
Mandelin's reagent (สารละลายสีขาวนวล)	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายสีขาวนวล	สารละลายใสไม่มีสี

ตารางที่ ข.7 สีของตะกอนเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาตกตะกอนแอลคาลอยด์ทั้ง 6 ชนิด

ชนิดของน้ำยาตกตะกอน	สีของตะกอน
Dragendorff's reagent	สีส้ม
Hager's reagent	สีเหลือง
Krant's reagent	สีส้ม-น้ำตาล
Mayer's reagent	สีขาว
Valser's reagent	สีขาวนวล
Wagner's reagent	สีน้ำตาลแดง

ภาคผนวก ก
การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของแอลกอฮอล์

ค. การคำนวณหาร้อยละโดยน้ำหนักของแอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์ที่แยกได้สามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักได้ดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของสารตัวอย่าง}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ค.1 สารสกัดของใบที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และ น้ำ เมื่อชั่งสารตัวอย่างมา 2.02, 2.00, 2.07 และ 2.08 กรัม หลังจากการสกัดได้ปริมาณของสารสกัด 0.89, 0.48, 0.34 และ 0.40 กรัม ตามลำดับ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักได้ดังนี้

$$\text{a) เมทานอล (\% w/w)} = \frac{0.89 \times 100}{2.02} = 43 \%$$

$$\text{b) เอทานอล (\% w/w)} = \frac{0.39 \times 100}{2.00} = 24 \%$$

$$\text{c) แอซีโตน (\% w/w)} = \frac{0.51 \times 100}{2.07} = 16 \%$$

$$\text{d) น้ำ (\% w/w)} = \frac{0.18 \times 100}{2.08} = 13 \%$$

ค.2 สารสกัดของลำต้นที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และ น้ำ เมื่อชั่งสารตัวอย่างมา 2.02, 3.05, 2.08 และ 3.05 กรัม หลังจากการสกัดได้ปริมาณของสารสกัด 0.45, 0.72, 0.16 และ 0.37 กรัม ตามลำดับ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักได้ดังนี้

$$\text{a) Methanol (\% w/w)} = \frac{0.45 \times 100}{2.02} = 22 \%$$

$$\text{b) Ethanol (\% w/w)} = \frac{0.72 \times 100}{3.05} = 24 \%$$

$$\text{c) Acetone (\% w/w)} = \frac{0.16 \times 100}{2.08} = 8 \%$$

$$\text{d) น้ำ (\% w/w)} = \frac{0.37 \times 100}{3.05} = 12 \%$$

ก.3 สารสกัดของผลที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล แอซีโตน และ น้ำ เมื่อชั่งสารตัวอย่างมา 3.06 , 3.01 , 3.31 และ 3.05 กรัม หลังจากการสกัดได้ปริมาณของสารสกัด 0.78 , 0.39 , 0.51 และ 0.18 กรัม ตามลำดับ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักได้ดังนี้

$$\text{a) เมทานอล (\% w/w)} = \frac{0.78 \times 100}{3.06} = 26 \%$$

$$\text{b) เอทานอล (\% w/w)} = \frac{0.39 \times 100}{3.01} = 13 \%$$

$$\text{c) แอซีโตน (\% w/w)} = \frac{0.51 \times 100}{3.31} = 15 \%$$

$$\text{d) น้ำ (\% w/w)} = \frac{0.18 \times 100}{3.05} = 6 \%$$

ตารางที่ ก.1 ร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัด ที่ได้หลังจากปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยแห้ง

การทดลองที่ 1 มวลของกรอบคัลป์	ร้อยละของ สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (% โดยน้ำหนัก)			
	เมทานอล	เอทานอล	แอซีโตน	น้ำ
1. ใบ	42.99	24	16.425	13.23
2. ลำต้น	22.28	23.60	7.692	12.13
3. ผล	25.49	12.96	15.41	5.90
ร้อยละเฉลี่ย	30.25	20.183	13.176	10.23

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ

นายสมใจ หมายมัน

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคาม, พ.ศ. 2522-2525

การศึกษาระดับบัณฑิต วิทยาศาสตร์ (สาขาเคมี)

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2526-2532 อาจารย์ 1 ระดับ 3 โรงเรียนกำแพง

อำเภอ อุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ

พ.ศ. 2533-ปัจจุบัน ครูชำนาญการ โรงเรียนอำนาจเจริญ

อำเภอ เมือง จังหวัดอำนาจเจริญ

ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน

ครูชำนาญการ โรงเรียนอำนาจเจริญ

อำเภอ เมือง จังหวัดอำนาจเจริญ

โทรศัพท์ (045)511959