



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์โรทีนอยด์

Cytotoxic Activity Study of Rotenoid Derivatives

โดย

ฐิติพรรณ นิมสุข และนฤมล เตียงเล็ก

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2556

รหัสโครงการวิจัย ...มจ.1-55-045...



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์โรทีโนยด์

Cytotoxic Activity Study of Rotenoid Derivatives

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2555

จำนวน 245,000 บาท

หัวหน้าโครงการ

นางสาวฐิติพรรณ จิมสุข

ผู้ร่วมโครงการ

นางสาวนฤมล เสียงเล็ก

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

...28.../...มกราคม.../..2556...

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์โรทีนอยด์

Cytotoxic Activity Study of Rotenoid Derivatives

ฐิติพรรณ ชิมสุข¹ และ นฤมล เสี่ยงเล็ก¹

Thitiphan Chimsook¹ and Narumon Sianglek¹

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

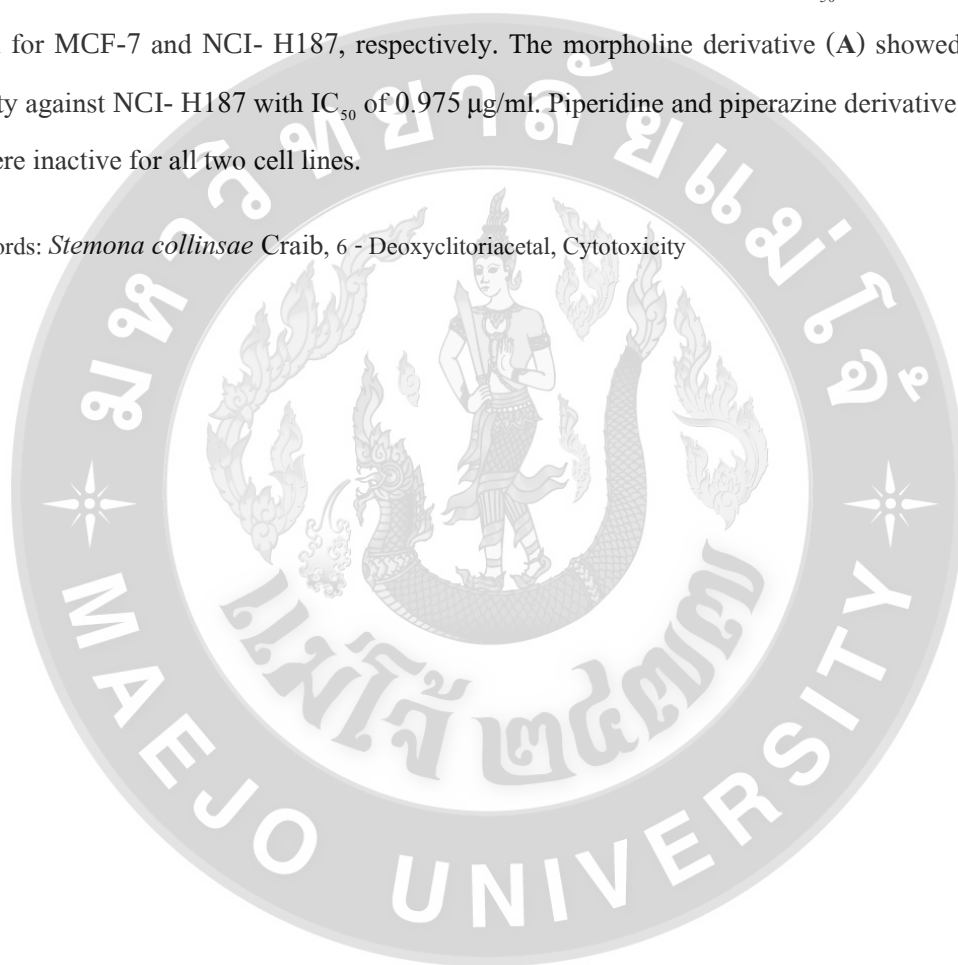
6-ดีออกซีโคลโทโรอะซิทอล (1) เป็นสารประกอบโรทีนอยด์ที่สกัดจากรากแห้งของ *Stemona collinsae* Craib. ในงานวิจัยนี้สารประกอบ 6-ดีออกซีโคลโทโรอะซิทอล ถูกเปลี่ยนเป็น สารอนุพันธ์ฟอกไซด์โดยการทำปฏิกิริยากับอีพิคลอโรไฮดริน และถูกเปิดวงด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบนำอนุพันธ์ทุกชนิดทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง ผลการทดลองพบว่า สารอนุพันธ์ฟอกไซด์ (2) ให้การออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และมะเร็งปอด (NCI- H187) โดยมีค่า IC_{50} 7.33 และ 3.21 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สารอนุพันธ์มอร์โฟลีน (A) มีการออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI- H187) โดยมีค่า IC_{50} 0.975 $\mu\text{g/ml}$ สารอนุพันธ์ไพเพอริดีนและไพเพอราซีน (B และ C) ไม่ให้การออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด

คำสำคัญ: รากหนอนตายหยาก 6-ดีออกซีโคลโทโรอะซิทอล ความเป็นพิษต่อเซลล์

Abstract

6-deoxyclitoriacetal (**1**), a rotenoid substance extracted from the dried root of *Stemona collinsae* Craib. In this work, 6-deoxyclitoriacetal was converted to epoxide derivative by reacting with epichlorohydrin and ring-opened with N-heterocyclic compounds. All derivatives were tested for their cytotoxicities against cancer cell lines. The results showed that the epoxide derivative (**2**) showed strong cytotoxicity against all these cell lines with IC_{50} of 7.33 and 3.21 $\mu\text{g/ml}$ for MCF-7 and NCI- H187, respectively. The morpholine derivative (**A**) showed strong activity against NCI- H187 with IC_{50} of 0.975 $\mu\text{g/ml}$. Piperidine and piperazine derivative (**B** and **C**) were inactive for all two cell lines.

Keywords: *Stemona collinsae* Craib, 6 - Deoxyclitoriacetal, Cytotoxicity



สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	๗
สารบัญภาพ	๘
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
การตรวจเอกสาร	8
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	10
ผลการวิจัย	17
วิจารณ์ผลการวิจัย	34
สรุปผลการวิจัย	39
เอกสารอ้างอิง	41

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	สารเคมี
ตารางที่ 2	เครื่องมือและอุปกรณ์
ตารางที่ 3	ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (สารประกอบ 1)
ตารางที่ 4	ข้อมูลสเปกตรัมของ ¹ H-NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal
ตารางที่ 5	ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)
ตารางที่ 6	ข้อมูลสเปกตรัม ¹ H-NMR ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)
ตารางที่ 7	ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)
ตารางที่ 8	ข้อมูลสเปกตรัม ¹ H-NMR ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one
ตารางที่ 9	ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 10	ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a, 12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one	26
ตารางที่ 11	ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-Hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	28
ตารางที่ 12	ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	29
ตารางที่ 13	ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal	36

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ลักษณะหนอนตายหยากในสกุลต่าง ๆ	2
ภาพที่ 2	โครงสร้างของสารสำคัญในรากหนอนตายหยาก	3
ภาพที่ 3	โครงสร้างของสารประกอบ Morpholine, Piperidine และ Piperazine	4
ภาพที่ 4	การสังเคราะห์อนุพันธ์อพอกไซค์ของสารประกอบโรทีนอยด์	5
ภาพที่ 5	ตัวอย่างการเปิดวงอพอกไซค์ด้วยสารประกอบมอร์โฟลีน	5
ภาพที่ 6	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์	13
ภาพที่ 7	หลอด NMR และระดับของสารตัวอย่างที่เหมาะสม	14
ภาพที่ 8	อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal	16
ภาพที่ 9	สเปกตรัม ¹ H-NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal	17
ภาพที่ 10	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)	18
ภาพที่ 11	อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one	19
ภาพที่ 12	สเปกตรัม ¹ H-NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)	21
ภาพที่ 13	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)	22
ภาพที่ 14	อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	23

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 15	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	24
ภาพที่ 16	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)	25
ภาพที่ 17	อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	26
ภาพที่ 18	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	.27
ภาพที่ 19	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one(สารประกอบ C)	28
ภาพที่ 20	อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one	29
ภาพที่ 21	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno [3,4-b]chromen-12-one	30
ภาพที่ 22	ผลการทดสอบด้วยวิธีทีนเลเซอร์โครมาโทกราฟี	31

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 23	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (สารประกอบ 1) และอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ 2)	32
ภาพที่ 24	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a,12a- dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno [3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)	33
ภาพที่ 25	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a,12a-dihydro- 6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11- (2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)	34
ภาพที่ 26	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ C)	35

คำนำ

ในปัจจุบันมีการตื่นตัวในการใช้สารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมากขึ้นเพื่อมุ่งหวังที่จะศึกษาการแยกสารออกฤทธิ์จากพืช การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการวิเคราะห์โครงสร้างสารออกฤทธิ์ที่สำคัญเพื่อมาทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ นอกจากนี้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นมีการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์อย่างมากมาหลายด้าน ทั้งทางด้านการดูแลสุขภาพ การรักษาโรคของมนุษย์ ตลอดจนการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูที่เกี่ยวข้องกับการผลิตทางการเกษตร

หนอนตายหยาก

หนอนตายหยากเป็นพันธุ์ไม้ในตระกูล Stemonaceae เป็นพวกพันธุ์ไม้เถา สามารถเลื้อยไปตามพื้นดิน หรืออาจพันขึ้นต้นไม้ตามต้นไม้ชนิดอื่น มีรากเป็นพวงคล้ายกระชาย จากหนังสือรายชื่อพืชสมุนไพร ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กองวิจัยทางแพทย์, 2527; การะเกด, 2540; ญัตติตรา, 2528;) และสถาบันวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ได้จัดรากหนอนตายหยากไว้เป็นพวกราชยาถ่ายพยาธิ หนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ประโยชน์โดยหมอพื้นบ้านเพื่อรักษาอาการแก๊ส (ทวีศักดิ์, 2542) ขับเสมหะ ขับลม แก้พยาธิ นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำคั้นจากรากหนอนตายหยากในการกำจัดศัตรูพืช (บุญยัณิสร์, 2494) และมีการนิยดพ่นใช้ในการกำจัดเห็บหมัด และไร ในฟาร์มปลาสัตว์ (ประคอง, 2520) ซึ่งจากการเลือกใช้นี้อาจนำมาใช้ทดแทนสารปราบศัตรูพืชและสัตว์ทางการเกษตรได้ (ประคองและคณะ 2523)

หนอนตายหยากในตระกูล Stemonaceae ที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิดด้วยกันคือ *Stemona tuberosa* , *S. collinsae* และ *S. curtisii* (รูปที่ 1) จากการศึกษาทดลองของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์แสดงให้เห็นว่ารากหนอนตายหยาก *Stemona curtisii* มีคุณสมบัติในการฆ่าลูกน้ำยุงและหนอนแมลงวันได้ (เลาจนา และประคอง, 2520; วาสนา, 2544)



กะเพียด หรือหนอนตายหยากชนิด

Clitoria hanceana



ต้นและดอกหนอนตายหยากชนิด

Stemona tuberosa Lour



ต้นและดอกหนอนตายหายาก (รากลิง)

ชนิด *Stemona collinsae* Craib

รากหนอนตายหายากชนิด

Stemona tuberosa Lour

และ *S. collinsae* Craib

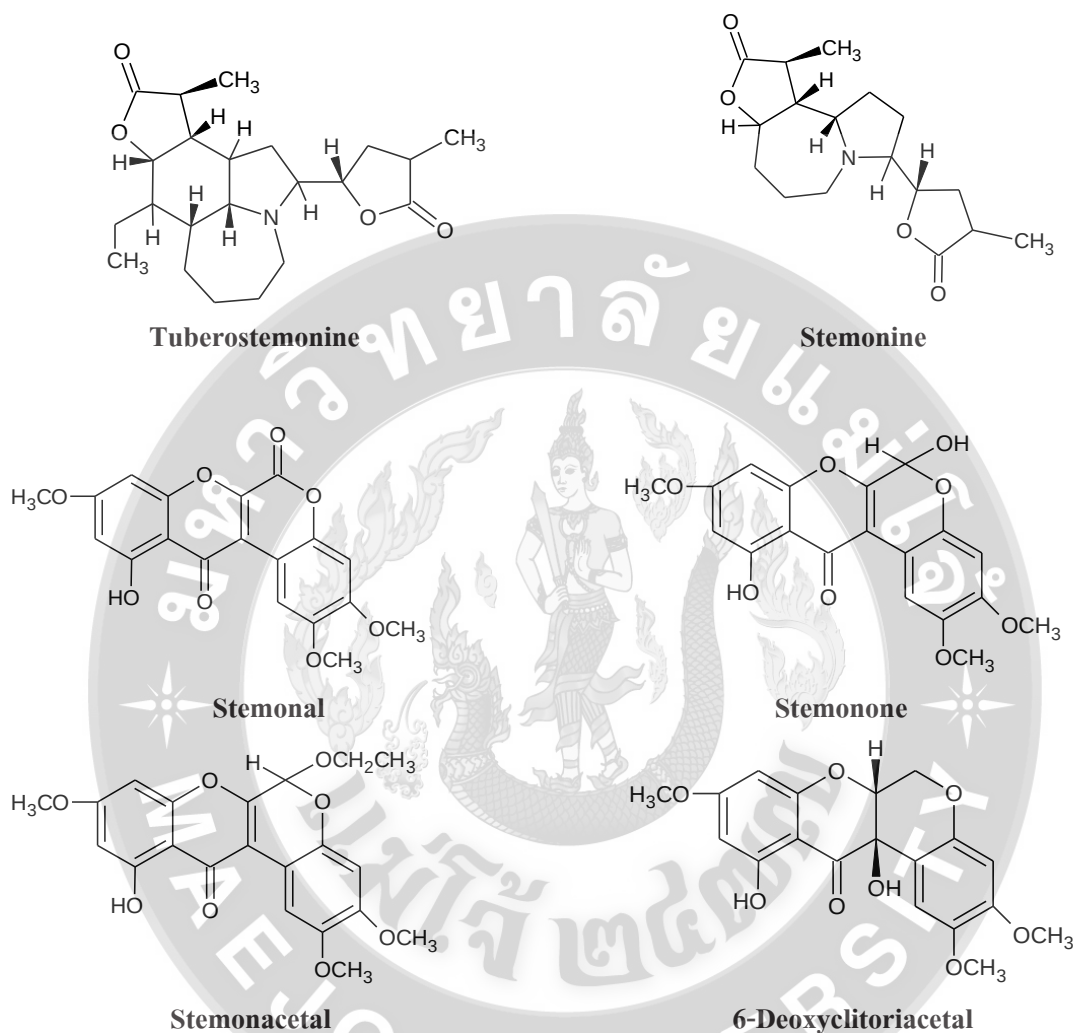
รูปที่ 1 ลักษณะหนอนตายหายากในสกุลต่าง ๆ (สุธาพันธ์, 2544)

ประโยชน์ของหนอนตายหายากเป็นที่รู้จักทั่วไป โดยจะนำรากมาใช้เป็นยาทางการแพทย์แผนโบราณ และการสาธารณสุข ตลอดจนทั้งทางด้านการเกษตร สำหรับทางการแพทย์แผนโบราณและการสาธารณสุข รายงานว่า ในประเทศจีนนำพืช *Stemona tuberosa* Lour. มาใช้เป็นยาแก้ไอและขับเสมหะ ยาขับลม ยาถ่ายพยาธิ และใช้เป็นสารกำจัดแมลง ส่วนประเทศไทยใช้พืชนี้ในการกำจัดแมลง รายงานว่า ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใช้ *Stemona collinsae* Craib, *Stemona japonica* (Bl.) Miq. *Stemona moluccana* (Bl.) Wright *Stemona tuberosa* Lour. และ *Stemona sessilifolia* (Miq.) Franch. ในการกำจัดแมลง ส่วนการนำหนอนตายหายากมาใช้ทางการแพทย์นั้น ได้มีการนำเอารากของหนอนตายหายากมาทำให้ละเอียด ละลายน้ำและนำมา กรอง แล้วนำน้ำที่กรองได้มาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช (สุภาพและสมหมาย, 2523) นำมาใส่แผลของโค-กระบือที่มีหนอนไขอยู่ หรือทาตามแผลเพื่อป้องกันแมลงตอมหรือวางไข่

สารประกอบโรทีนอยด์

สารสำคัญที่พบในหนอนตายหายากมี 2 ประเภทคือ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสารที่ไม่ใช่อัลคาลอยด์ โดยสารกลุ่มอัลคาลอยด์เป็นสารที่พบเป็นส่วนใหญ่ได้แก่ Stemofoline Stemonine อนุพันธ์ของสารทั้งสองและ Tuberostemonine เป็นต้น ส่วนสารที่ไม่ใช่อัลคาลอยด์ ได้แก่ สารประกอบไบเบนซิล สเติลบินอยด์และ กลุ่มโรทีนอยด์ โรทีนอยด์มีคุณสมบัติคล้าย isoflavones สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด ซึ่งสารเหล่านี้เป็น Oxygen ring compounds ซึ่ง Skeleton structure เหมือนกับ rotenone ได้แก่ Stemonal Stemonone Stemonacetal และ 6-

deoxyclitoriacetal เป็นต้น ซึ่งโครงสร้างกลุ่มสารสำคัญที่พบในรากหนอนตายหยาก แสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 โครงสร้างของสารสำคัญในรากหนอนตายหยาก

นักวิทยาศาสตร์ในหลายประเทศได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และสารอื่นในรากของหนอนตายหยากชนิดต่าง ๆ โดยในช่วงปี ค.ศ. 1934-1958 มีนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นทำการแยกสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) จาก *Stemona tuberosa* Lour. พบว่ามีสารอัลคาลอยด์ คือ stemonidine ($C_{19}H_{30}O_5N$) และ tuberstemonine ($C_{22}H_{23}O_4N$) isotuberstemonine hypotuberstemonine และ oxatuberstemonine เป็นต้น (Shiengthong, D *et al.*, 1974; Mathias, L. *et al.*, 1997; Ollevier, T. *et al.*, 2002)

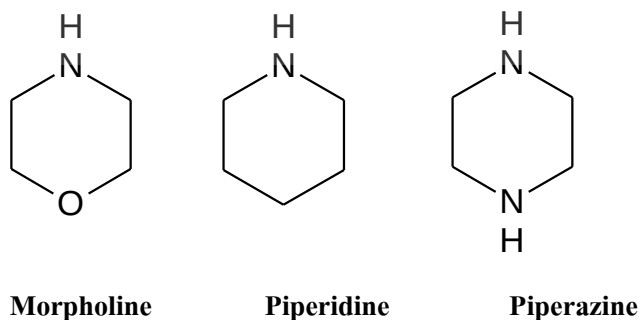
ในปี 2003 Roengsumran S. และคณะ (Roengsumran, S. *et al*,2003; Khorphueng, P. *et al*, 2006) พบว่าสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal ที่สกัดได้จากรากต้นหนอนตายหายาก *Stemna Collinsae* Craib มีโครงสร้างดังรูปที่ 2 มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ขณะที่สารประกอบโรทีนอยด์อื่น ๆ เช่น Stemonal Stemonacetal และ Stemonone ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์สารประกอบโรทีนอยด์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากการเพิ่มวงอ็อกไซด์ที่โครงสร้างสารประกอบโรทีนอยด์ และทำการเปิดวงอ็อกไซด์ด้วยสารประกอบไฮโดรไลติก (Yenesew *et al*,2006; Wpp. S. *et al*, 2008)

สารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (Heterocyclic compounds)

โมเลกุลที่เป็นวงแหวนในวงแหวนมีอะตอมอื่นที่ไม่ใช่คาร์บอนอะตอมอยู่ในวงด้วย สำหรับวงแหวน Heterocyclic มักพบในโครงสร้างของสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological properties) หลายชนิด สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกแบ่งตามโครงสร้างได้ 2 แบบ

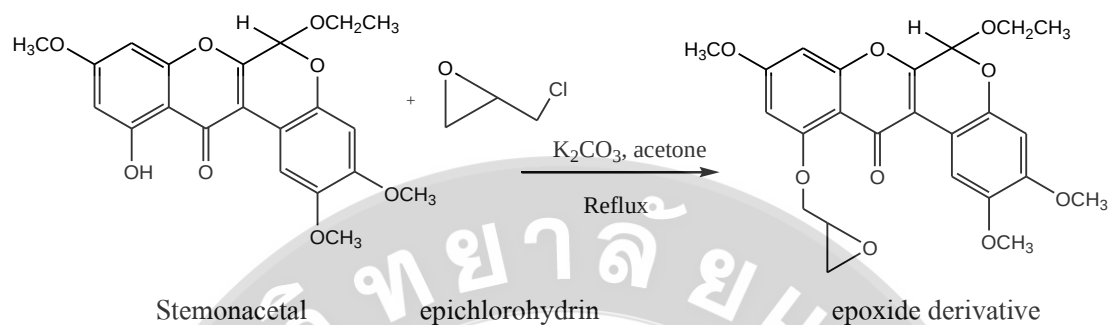
1. Aliphatic heterocyclic compounds สารที่เป็นวง (cyclic) ที่มีอะตอมอื่นนอกจากคาร์บอนสมบัติทางเคมีส่วนใหญ่เหมือนกับสารที่เป็นโซ่เปิด (acyclic) เช่น lactones กับ acyclic esters หรือ lactams กับ acyclic amides และ cyclic ethers กับ acyclic ethers
2. Aromatic heterocyclic compounds สารที่เป็นวง (cyclic) และมีสมบัติเป็นอะโรมาติก (Aromaticity) จะมีสมบัติทางเคมีที่ต่างจาก Aliphatic heterocyclic compounds และ แบ่งตามโครงสร้างที่สำคัญได้แก่ 5-membered aromatic heterocyclics , 6-membered aromatic heterocyclics และ Fused-ring aromatic heterocyclics

สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่สนใจในการศึกษา คือ Morpholine, Piperidine และ Piperazine ซึ่งเป็น Aliphatic heterocyclic compounds ประกอบด้วยอะตอมคาร์บอน และอะตอมอื่นนอกจากคาร์บอนคือ อะตอมไนโตรเจน และอะตอมออกซิเจน โดยโครงสร้างทั้ง 3 ชนิด แสดงดังรูป 3

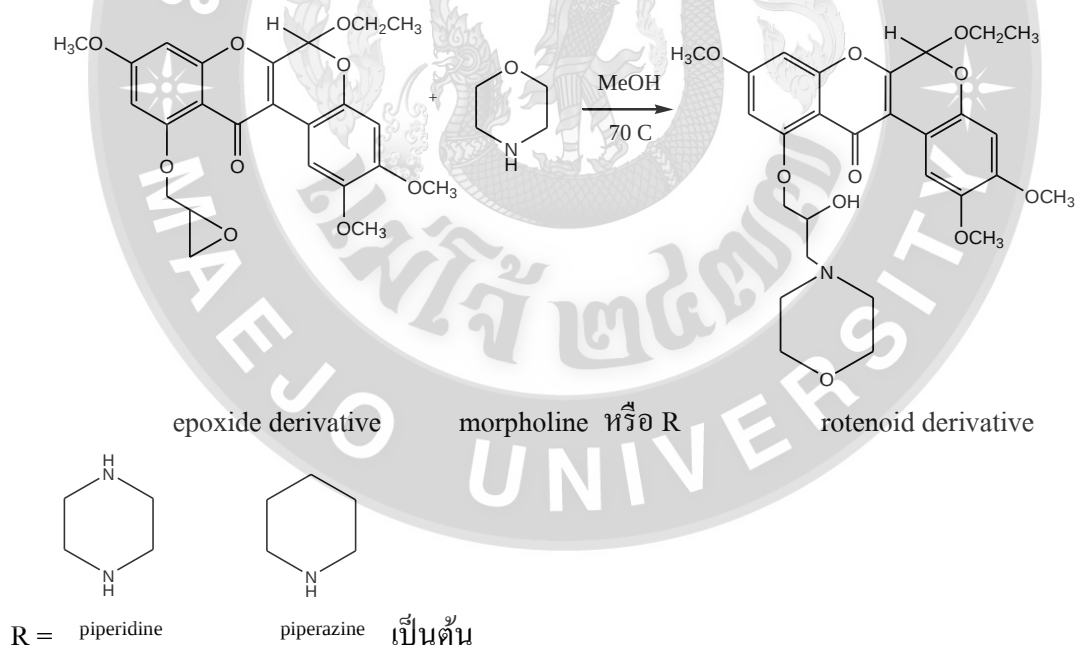


รูปที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบ Morpholine, Piperidine, และ Piperazine

แผนภาพตัวอย่างแนวทางการสังเคราะห์อนุพันธ์สารประกอบโรทีนอยด์ผ่านการเปิดวง
อีพอกไซด์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบแสดงดังรูปที่ 4 และ 5



รูปที่ 4 การสังเคราะห์อนุพันธ์อีพอกไซด์ของสารประกอบโรทีนอยด์
(Ilyas Kureshy, R. *et al*, 2007)



รูปที่ 5 ตัวอย่างการเปิดวงอีพอกไซด์ด้วยสารประกอบมอร์โฟลีน

(Woo, S. *et al*, 2008; Kurteva, V. and Lyapova, M. *et al*, 2004)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. สกัดสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยากโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี
2. คัดแปลงโครงสร้างสารประกอบโรทีนอยด์ที่สกัดได้เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปัจจัยด้านโครงสร้าง ชนิดอะตอม ที่มีอิทธิพลต่อการออกฤทธิ์ที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง
2. สร้างกลุ่มอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง และเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งด้วยสมุนไพร

การตรวจเอกสาร

เทพ เชียงทองและคณะ (1974) พบสารสำคัญจากรากหนอนตายหยากซึ่งเป็นสารในกลุ่ม rotenoids ทั้งหมด 3 ชนิดคือ Stemonacetal (mp. 203-204°C) , Stemonal (mp. 203-204°C) และ Stemonone (m.p. 229-230°C) โดยการสกัดสารทั้ง 3 ชนิดจากรากแห้งหนอนตายหยาก นำมารีฟลักซ์กับ 50% Ethanol สกัดสารสำคัญโดยใช้ เทคนิค Column Chromatography ระบบตัวทำละลายคือ CHCl₃: Hexane (9:1)

Leda Mathias และคณะ (1997) ได้สกัดสารประกอบโรทีนอยด์ 11-deoxyclitoriacetal และ 6-deoxyclitoriacetal จากเมล็ดของดอกอัญชันป่าตระกูล *CLITORIA FAIRCHILDIANA*. และศึกษาโครงสร้างของสารประกอบทั้งสองชนิดโดยเทคนิคทาง สเปกโตรสโคปีและทางเคมีเพื่อเปรียบเทียบกัน

โสภณ เรืองสำราญ และคณะ (2003) ได้ศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารประกอบโรทีนอยด์ ที่มีรายงานถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด P388 และยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ ยับยั้งปรสิติ และรักษาโรคผิวหนังติดเชื้อได้

ประภาส ก่อฝั้น และคณะ (2006) ได้ศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

Abiy Yenesew และคณะ (2006) ได้ศึกษาอนุพันธ์โรทีนอยด์ 2 ชนิด คือ 7a-O-methyl-12a-hydroxydeguelol และ Spiro-13-homo-13-oxaelliptone จากเมล็ด *Derris trifoliata* และพบว่าอนุพันธ์โรทีนอยด์ทั้งสองมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.74 ± 0.3 µg/ml

Sangwook Woo และคณะ (2007) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์สารประกอบแซนโทนชนิดใหม่และนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การยับยั้งเซลล์มะเร็ง การยับยั้งเอนไซม์

Topoisomerase II และการศึกษาการเชื่อมขวางของดีเอ็นเอ โดยการเตรียมอนุพันธ์ของแซนโทนขึ้นมาใหม่และนำไปเปิดวงอีพอกไซด์ด้วยปฏิกิริยาฮาโลไฮดริน รวมทั้งสังเคราะห์สารประกอบแซนโทนอีกชนิดหนึ่งให้มีคุณสมบัติในการเชื่อมขวางของดีเอ็นเอเพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเปรียบเทียบกัน ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นมีคุณสมบัติในการเชื่อมขวางของดีเอ็นเอนั้นมีการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งและเอนไซม์ Topoisomerase II ได้ดีกว่าสารประกอบตัวอื่นที่สังเคราะห์ขึ้น

Rukhsana Ilyas Kureshy และคณะ (2007) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการเปิดวงอีพอกไซด์สารประกอบเอไมด์โดยใช้ตัวเร่งเป็น NaY Zeolite ภายใต้สภาวะที่ปราศจากตัวทำละลาย ซึ่งได้ทำปฏิกิริยาเปิดวงอีพอกไซด์ในสไตรีนและโพรพิลด้วยตัวเร่งเป็นอะนินิลินใน Zeolite ซึ่งในการใช้สารประกอบเอไมด์นั้นส่วนใหญ่แล้วจะให้ สาร β -amino alcohols ในปริมาณที่สูงมาก ซึ่งเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้นั้นมีค่าเท่ากับ 25 และ 92 % ตามลำดับ โดยที่ในการเปิดวงอีพอกไซด์ของสไตรีนนั้นจะใช้สารประกอบเอไมด์คือ ไพเพอริดีน ในการทำปฏิกิริยา ซึ่งผลการทดลองของสารที่ใช้ในการเปิดวงอีพอกไซด์ที่ให้ปริมาณ β -amino alcohols ได้ดีนั้นคือ ไพเพอริดีน และมอร์โฟลีน และพบว่าการทำปฏิกิริยาในการเปิดวงอีพอกไซด์ด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพดีมาก มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมได้

Sangwook Woo และคณะ (2008) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์สารประกอบไทโอแซนโทนชนิดใหม่และนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งและความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase II โดยการสังเคราะห์สารประกอบไทโอแซนโทนขึ้นมา 4 ชนิด ซึ่งสองชนิดแรกนำสารประกอบไทโอแซนโทนต่อวงอีพอกไซด์ด้วยสารประกอบอีพิคลอโรไฮดริน ภายใต้สภาวะในไตรเจน และอีกสองชนิดคือนาอนุพันธ์ของไทโอแซนโทนที่สังเคราะห์ได้มาเปิดวงอีพอกไซด์ด้วยกรดซิงค์ไฮดรอกไซด์เป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองพบว่า สารประกอบที่ต่อวงอีพอกไซด์มีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารประกอบตัวอื่นแต่ไม่สามารถยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase II ส่วนสารประกอบที่เปิดวงอีพอกไซด์ด้วยกรด พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase II ได้ดีมาก

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ตารางที่ 1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
Acetaldehyde	C_2H_4O	Riedel-de Haen	Germany
Acetic acid	CH_3COOH	Merck	Germany
Acetone	C_3H_6O	Fisher	USA
Chloroform-d	$CDCl_3$	Merck	Germany
Dichloromethane	CH_2Cl_2	Lab-Scan	Thailand
Epichlorohydrin	C_3H_5ClO	Aldrich	Germany
Ethanol	C_2H_5OH	Merck	Germany
Ethyl Acetate	$CH_3COOC_2H_5$	Lab-Scan	Thailand
Hexane	C_6H_{14}	Lab-Scan	Thailand
Morpholine	C_4H_9NO	Sigma-Aldrich	Germany
4-Methoxybenzaldehyde	$C_8H_8O_2$	Aldrich	Germany
Piparazine	$C_4H_{10}N_2$	Sigma-Aldrich	Germany
Piperidine	$C_5H_{11}N$	Merck	Germany
Potassium carbonate	K_2CO_3	Fisher	USA
Silica gel 60	SiO_2	Merck	Germany
Sodium chloride	$NaCl$	Ajex Finechem	Australia
Sodium sulfate anhydrous	Na_2SO_4	Fisher	USA
Sulfuric acid	H_2SO_4	Lab-Scan	Thailand
Vanilin	$C_8H_8O_3$	Merck	Germany

ตารางที่ 2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ- อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต และ รุ่น	ประเทศ
เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)	Mettler foledo รุ่น AB204	Switzerland
เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance)	Monobloc รุ่น PB3002-5	Switzerland
เครื่องทำความเย็น (Cooling)	Buchi B-740	Switzerland
โถดูดความชื้น (Desiccator)	Duran	Germany
เครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ (Evaporator)	Buchi รุ่น R-114	Switzerland
เครื่องฟูริเยร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometer)	Perkin Elmer SpectrumRX I	UK
ตู้อบความร้อน (Hot air oven)	Heraeus instrument รุ่น D-63450	Germany
เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hop plate and stirrer)	Fisher Scientific	UK
เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance)	Varian 400 MHz magnets	USA

วิธีการทดลอง

การสกัดสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยาก

1. รากหนอนตายหยากแห้งบดละเอียด 2 กิโลกรัม บรรจุใส่ภาชนะแก้วมีฝาปิด
2. เติมหั่นทำละลายไดคลอโรมีเทนให้ระดับตัวทำละลายสูงกว่าระดับผงรากแห้ง ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์
3. ระบายตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ สารสกัดหยากที่ได้ มีสีน้ำตาล ลักษณะเหนียวหนืด
4. สกัดสารประกอบโรทีนอยด์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และเอทิลอะซิเตท ในอัตราส่วน 2:2:1 (v/v) เก็บ Fraction ที่ได้จากคอลัมน์ และรวบรวมแต่ละ Fraction ที่ให้ผลการทดสอบเหมือนกันเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography
5. พิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบโรทีนอยด์ที่สกัดได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี คือ FTIR และ NMR สารประกอบที่สกัดได้ คือ สารประกอบ 1

การสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์

การสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

1. ชั่งสารประกอบโรทีนอยด์ 50 มิลลิกรัม และ K_2CO_3 180 มิลลิกรัม ใส่ในขวดก้นกลม 2 คอ ขนาด 250 ml
2. เติมหั่น Acetone 15 มิลลิลิตร และรีฟลักซ์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไนโตรเจน
3. เติมหั่น epichlorohydrin 0.10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์สารละลายผสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. ระบายตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ
5. ละลายสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 20 มิลลิลิตร และล้างตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนด้วยน้ำ และ NaCl ตามลำดับ
6. เติมหั่นโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อคูลน้ำจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน กรองสารละลาย และระบายตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ ทำสารสังเคราะห์ให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี
7. พิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี คือ FTIR และ NMR สารประกอบที่สังเคราะห์ได้ คือ สารประกอบ 2

การสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)

1. สารประกอบ 2 น้ำหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายใน ethyl acetate 5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย morpholine 0.2 มิลลิลิตร รีฟลักซ์เป็นเวลา 15 ชั่วโมง
3. ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ
4. ล้างด้วยน้ำและสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ Dichloromethane 20 มิลลิลิตร
5. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี
6. พิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี คือ FTIR และ NMR สารประกอบที่สังเคราะห์ได้ คือ สารประกอบ A

การสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)

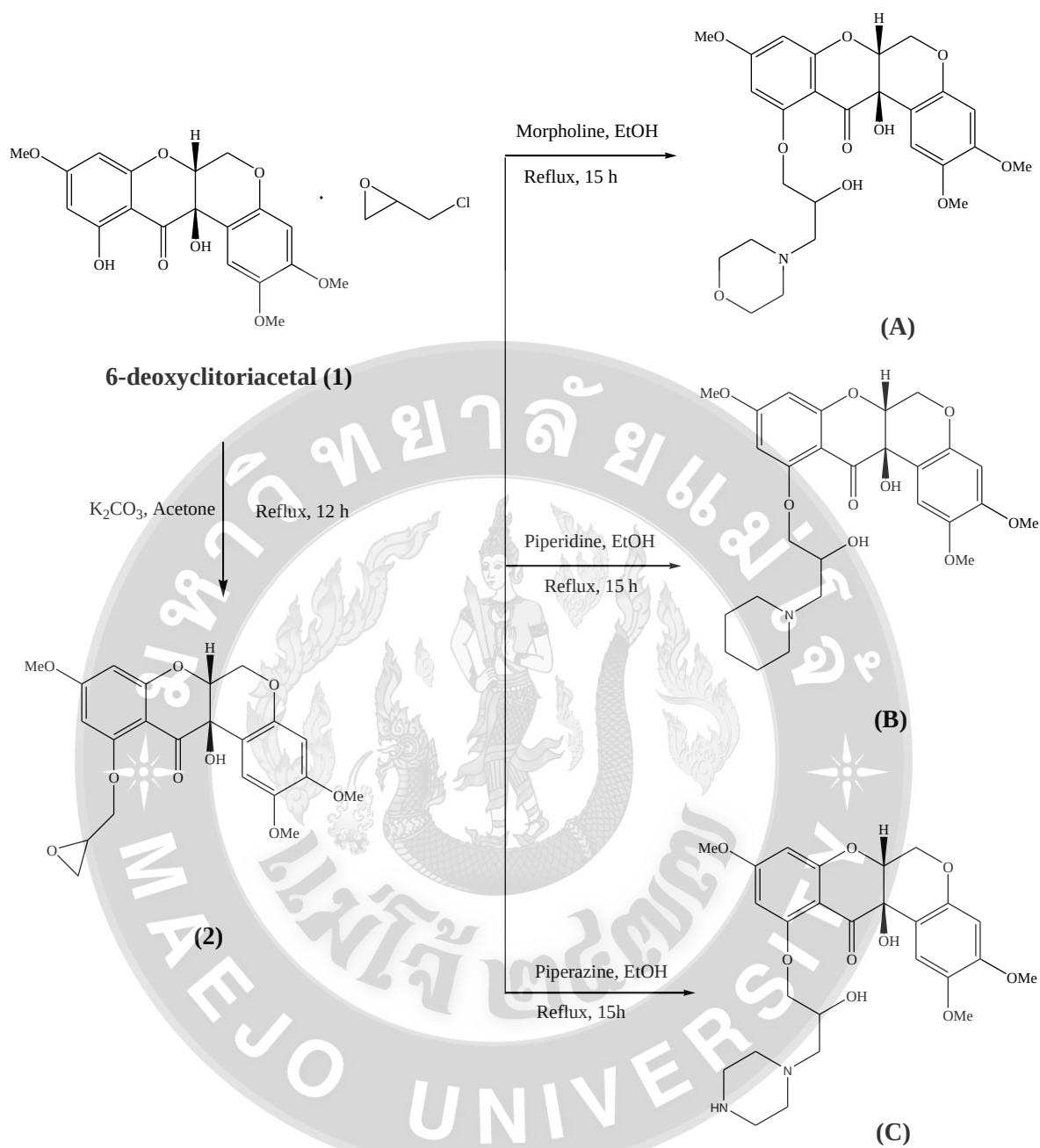
1. สารประกอบ 2 น้ำหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายใน ethyl acetate 5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย piperidine 0.2 มิลลิลิตร รีฟลักซ์เป็นเวลา 15 ชั่วโมง
3. ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ
4. ล้างด้วยน้ำและสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ Dichloromethane 20 มิลลิลิตร
5. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี
6. พิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี คือ FTIR และ NMR สารประกอบที่สังเคราะห์ได้ คือ สารประกอบ B

การสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ C)

1. สารประกอบ 2 น้ำหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายใน ethyl acetate 5 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลาย piperazine 0.2 มิลลิลิตร รีฟลักซ์เป็นเวลา 15 ชั่วโมง
3. ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ
4. ล้างด้วยน้ำและสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ Dichloromethane 20 มิลลิลิตร
5. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี
6. พิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี คือ FTIR และ NMR สารประกอบที่สังเคราะห์ได้ คือ สารประกอบ C





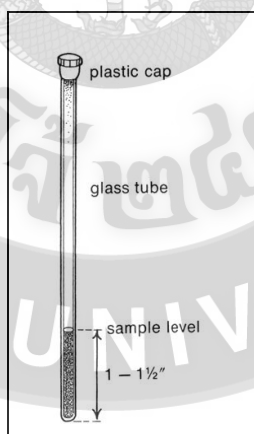
รูปที่ 6 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์

การศึกษาเอกลักษณ์ของสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยากด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

ศึกษาเอกลักษณ์ของสารด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์เพื่อให้ทราบหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญภายในโครงสร้างโมเลกุล โดยนำสารตัวอย่างมาบดกับ KBr โดยใช้ปริมาณของ KBr ต่อสารตัวอย่างเท่ากับ 10:1 จากนั้นอัดสารตัวอย่างให้เป็นแผ่นบางๆ เพื่อให้แสงผ่านได้ จากนั้นนำไปใส่ใน Sample holder แล้วนำไปวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของสารด้วยเครื่อง FT-IR ในช่วงความยาวคลื่น $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$

การศึกษาเอกลักษณ์ของสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยากด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์

นำสารสกัดที่ทำให้แห้งแล้วมาละลายด้วย CDCl_3 ประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในขวดแก้วขนาดเล็ก จากนั้นเตรียมหลอด NMR โดยเติมสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงไปประมาณ 0.6 – 0.8 มิลลิลิตร ให้ระดับของสารตัวอย่างในหลอดแก้วสูงประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร (ดังรูป 7) และหยดตัวทำละลายอ้างอิง HMDS หรือ TMS ลงไปเล็กน้อย แล้วใส่หลอดเข้าไปในสเปกโตรมิเตอร์ จากนั้นจึงบันทึกผล NMR สเปกตรัม



รูปที่ 7 หลอด NMR และระดับของสารตัวอย่างที่เหมาะสม

การทดสอบการออกฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT Assay

การเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งที่ใช้ตรวจสอบคือ เซลล์มะเร็งเต้านม MCF7 (Breast cancer) และมะเร็งปอด NCL-H187 (Human small lung cancer) ซึ่งจะนำมาเลี้ยงเซลล์ในจานอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ใช้ปริมาณเซลล์ตั้งต้นที่ 10,000 เซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การทดสอบความเป็นพิษ

นำยารักษาโรคมะเร็งมาตรฐาน Doxorubicin และ Ellipticine รวมทั้งสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เติมนลงในหลุมเซลล์มะเร็งที่เตรียมไว้ โดยมีเซลล์มะเร็งที่เติมเฉพาะตัวทำลายยาในอาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อใช้เป็นกลุ่มควบคุมหรือมาตรฐาน ซึ่งจะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และ CO₂ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนอาหารเดิมที่มียาอยู่เป็นอาหารใหม่ที่ผสมด้วย 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในแต่ละหลุมเซลล์ และเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสาร MTT ที่ แล้วเติมด้วยสารละลาย dimethylsulfoxide (DMSO) จำนวน 150 ไมโครลิตร ทุกหลุมเซลล์ ทำการวัดสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ค่า inhibition concentration ที่ 50 % (IC₅₀)

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดยที่

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเปล่า

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดตัวอย่าง

ผลการวิจัย

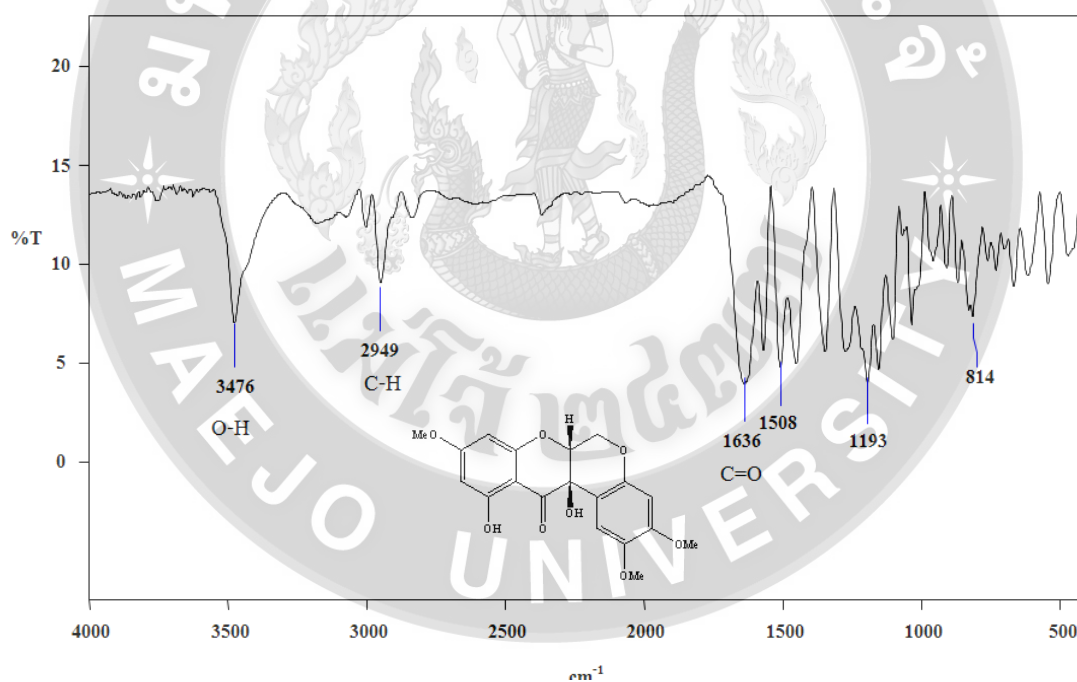
ผลการสกัดสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยาก

รากแห้งหนอนตายหยากบดละเอียด 2 กิโลกรัม นำมาหมักด้วยตัวทำลายไคคลอโรมีเทนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และระเหยตัวทำลาย จะได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาล มีลักษณะข้นเหนียว น้ำหนัก 2.10 กรัม สารสกัดหยาบที่ได้นำมาสกัดสารประกอบโรทีนอยด์โดยใช้ระบบตัวทำลายไคคลอโรมีเทน เฮกเซน และเอทิลอะซิเตท รวบรวม fraction ที่ได้จากคอลัมน์ทั้งหมด 7 fraction จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแต่ละ fraction พบว่า fraction ที่ 5 ซึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.20 คือสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1) นำมาตกผลึกด้วยเอทานอล ได้ผลึกของแข็งสีขาว เปราะเช่นดี ผลผลิตเท่ากับ 32.18 %

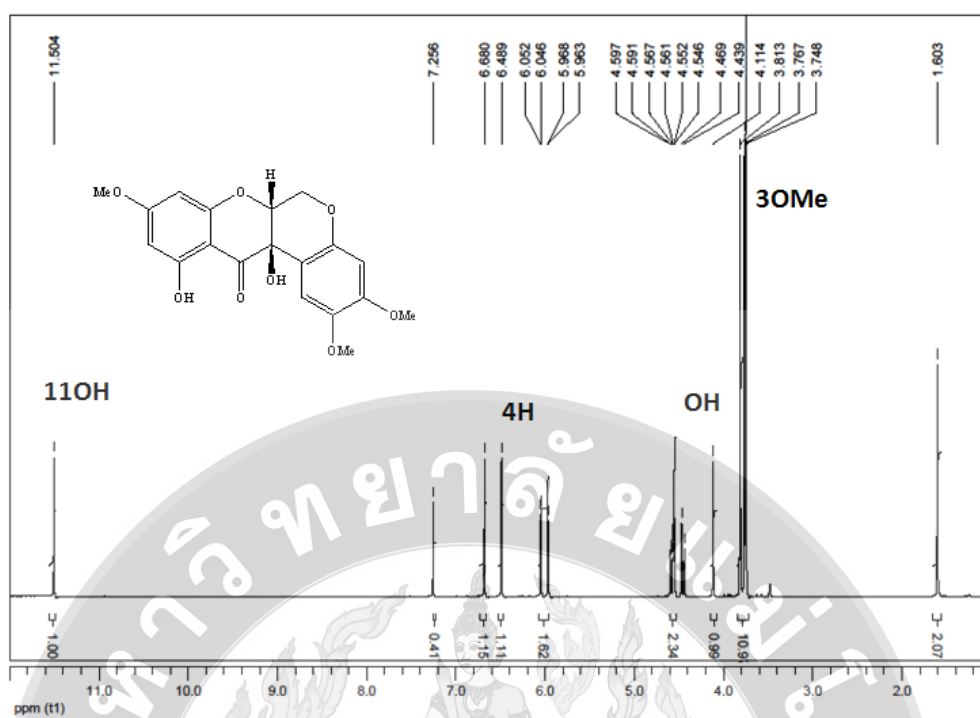
สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal ที่สกัดได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ 130 – 131 องศาเซลเซียส มี [M⁺] ที่ m/z 374 ซึ่งข้อมูลทาง FTIR แสดงดังตาราง 3 รายงานข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัม และตาราง 4 แสดงข้อมูลสเปกตรัมของ ¹H-NMR

ตารางที่ 3 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (สารประกอบ 1)

Wavenumber (cm^{-1})	Functional group
680-860	C-H Bending (aromatic)
1500-1700	C=C Bending (Aromatic)
1620-1750	C=O Stretching
2850-2950	C-H Stretching (Alkyl)
3200-3550	O-H Stretching



รูปที่ 8 อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal



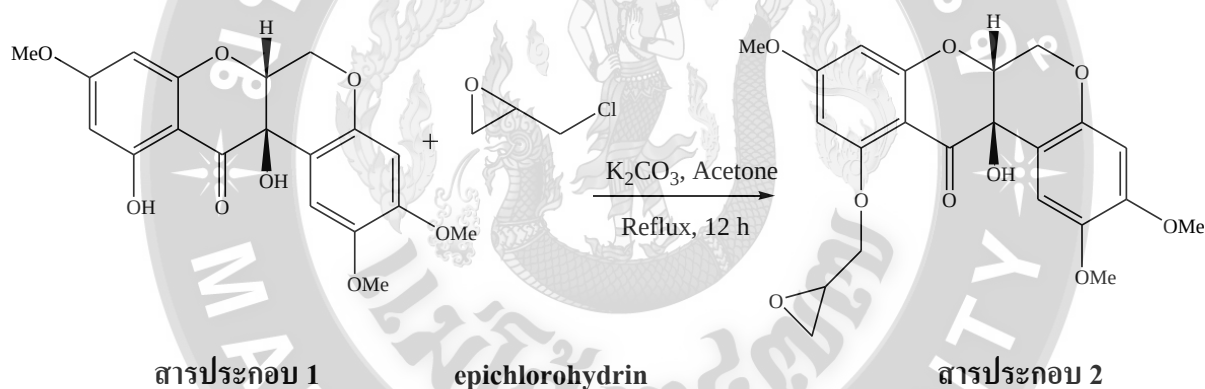
รูปที่ 9 สเปกตรัม ^1H -NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal

ตารางที่ 4 ข้อมูลสเปกตรัมของ ^1H -NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal

Chemical shift (ppm)	Assignment
3.748	s, 3H, OMe-2
3.767	s, 3H, OMe-9
3.813	s, 3H, OMe-3
4.439	dd, 1H, H-6
4.469	d, 1H, H-6a
4.546	dd, 1H, H-6
5.963	s, 1H, H-8
6.046	s, 1H, H-10
6.489	s, 1H, H-4
6.680	s, 1H, H-1
11.504	s, 1H, H-11

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

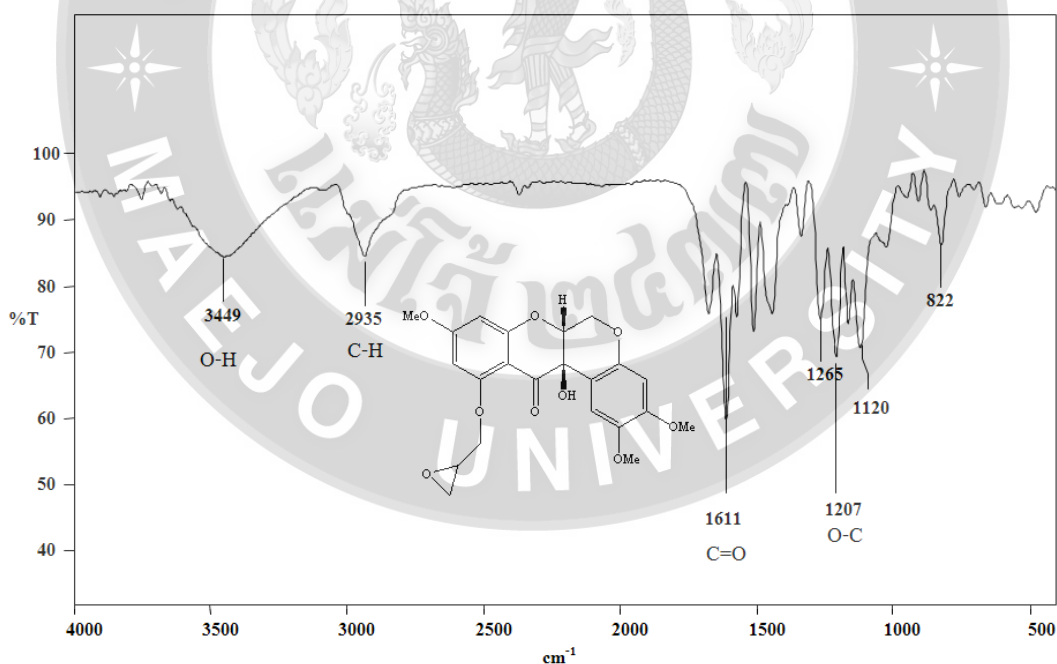
สารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (1) นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ จากโครงสร้างของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (1) พบว่า คาร์บอนตำแหน่งที่ 11 เป็น คาร์บอนที่ต่อกับ OH Group เป็นตำแหน่งที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา จึงเป็นตำแหน่งที่วงอีพอกไซด์เข้ามาเชื่อมกับโครงสร้าง ได้เป็นอนุพันธ์โรทีนอยด์ ในที่นี้เป็นสารประกอบ 2 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 71.81% ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังรูป 10 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมแสดงดังตาราง 5 ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ แสดงดังตาราง 6 และอินฟราเรดสเปกตรัมและสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบ 2 แสดงดังรูป 11 และ 12 ตามลำดับ



รูปที่ 10 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

ตารางที่ 5 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

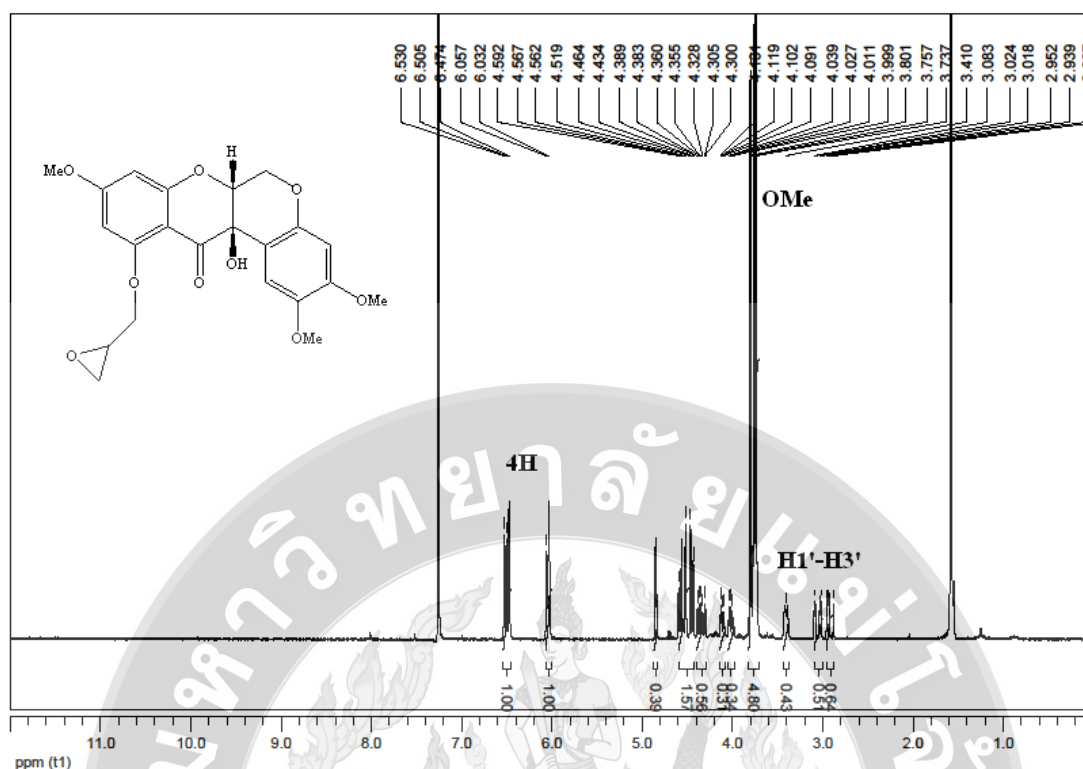
Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
680-860	C-H Bending (aromatic)
1210-1320	O-C Stretching
1395-1440	C-OH bending
1500-1700	C=C Bending (Aromatic)
1620-1750	C=O Stretching
2850-2950	C-H Stretching (Alkyl)
3200-3550	O-H Stretching



รูปที่ 11 อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one

ตารางที่ 6 ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

Chemical shift (ppm)	Assignment
2.96	dd, $J = 2.5, 5.0$ Hz, 1H, H3'
3.02	dd, $J = 5.0, 5.0$ Hz, 1H, H3'b
3.32-3.35	m, 1H, H2'
3.67	s, 3H, OMe-2
3.68	s, 3H, OMe-9
3.73	s, 3H, OMe-3
3.95	dd, $J = 11.3, 11.3, 11.3$ Hz, 1H, H1'a
4.04	dd, $J = 4.7, 11.3$ Hz, 1H, H1'b
4.38	dd, $J = 12.0, 12.0$ Hz, 1H, H-6
4.46	d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-6a
4.51	dd, $J = 12.0, 12.0$ Hz, 1H, H-6
5.96	s, 1H, H-8
6.40	s, 1H H-10
6.44	s, 1H, H-4
6.46	s, 1H, H-1



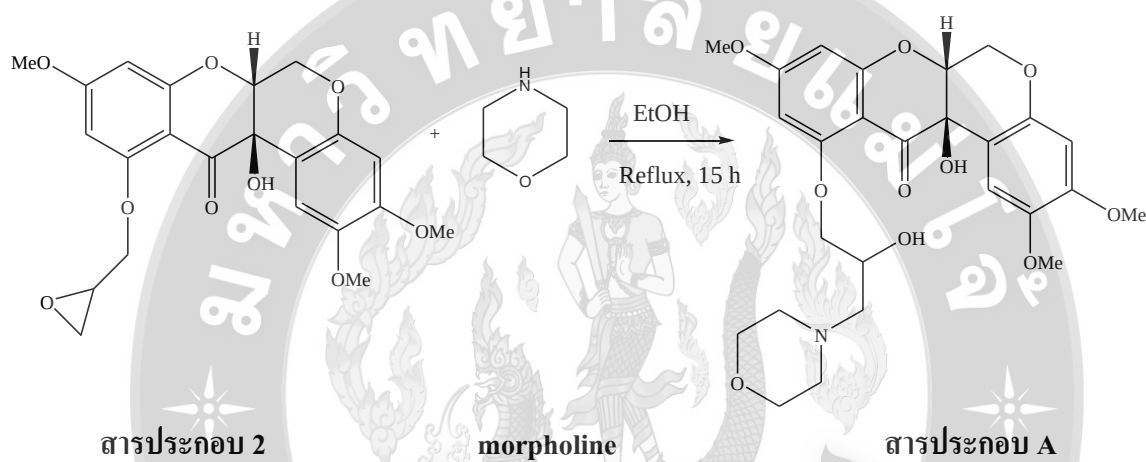
รูปที่ 12 สเปกตรัม ¹H-NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ด้วยการเปิดวงอีพอกไซด์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก

จากรายงานการวิจัย Kurteva [21] ที่กล่าวว่า ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ที่จะมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งมีการนำกลุ่มของสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีอะตอมเป็น O, S, N เป็นองค์ประกอบมาใช้ในการสังเคราะห์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกกลุ่มสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบมา 3 ชนิด คือ morpholine piperidine piperazine ใช้ในการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ โดยใช้ในการทำปฏิกิริยาเปิดวงอีพอกไซด์ของสารประกอบ 2 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังรูป 10 ซึ่งการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์โดยใช้กลุ่มสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกทั้ง 3 ชนิด มีดังนี้

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)

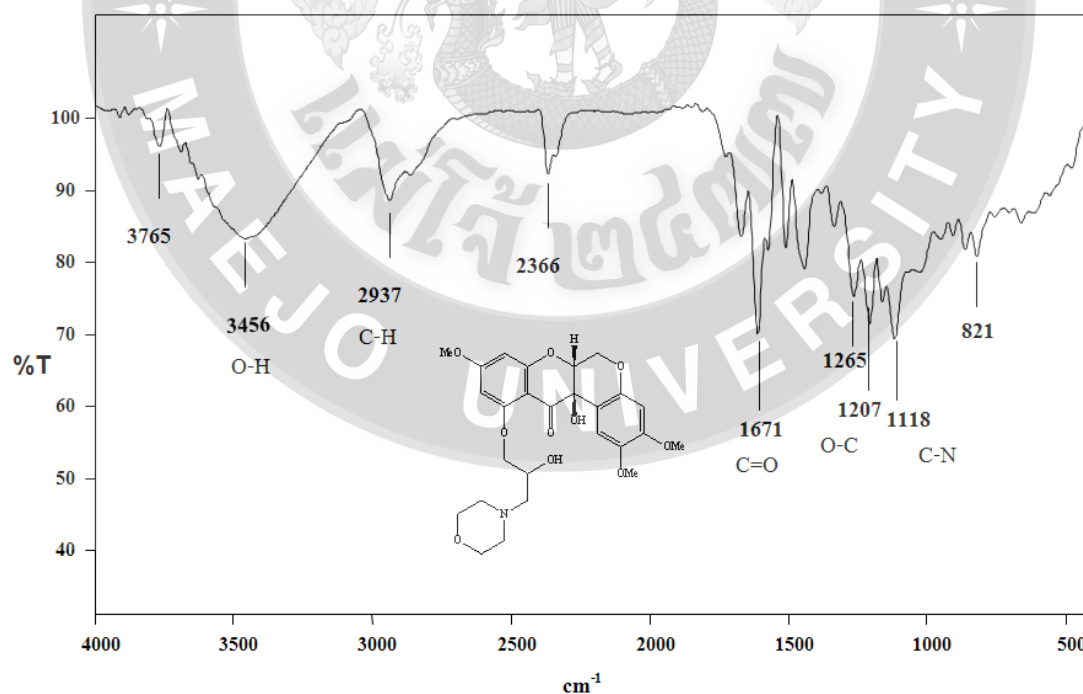
ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์มอร์โฟลีน (สารประกอบ A) แสดงดังรูป 13 ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 98.60% ข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี FTIR แสดงดังตาราง 8 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบ A และอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบ A แสดงดังรูป 14 และข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ แสดงดังตาราง 7 และแสดงดังรูป 15



รูปที่ 13 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)

ตารางที่ 7 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)

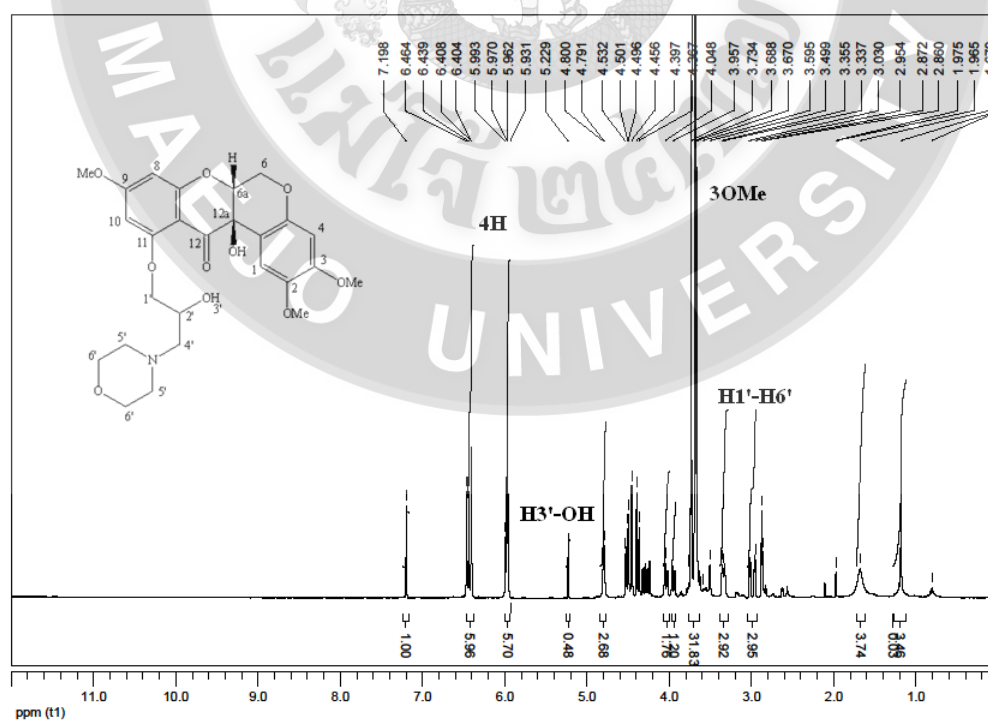
Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
680-860	C-H Bending (aromatic)
1000-1250	C-N
1210-1320	O-C Stretching
1395-1440	C-OH bending
1430-1470	C-H Bending (CH ₃)
1500-1700	C=C Bending (Aromatic)
1620-1750	C=O Stretching
2860-2950	C-H Stretching (Alkyl)
3500-3700	N-H Stretching



รูปที่ 14 อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

ตารางที่ 8 ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

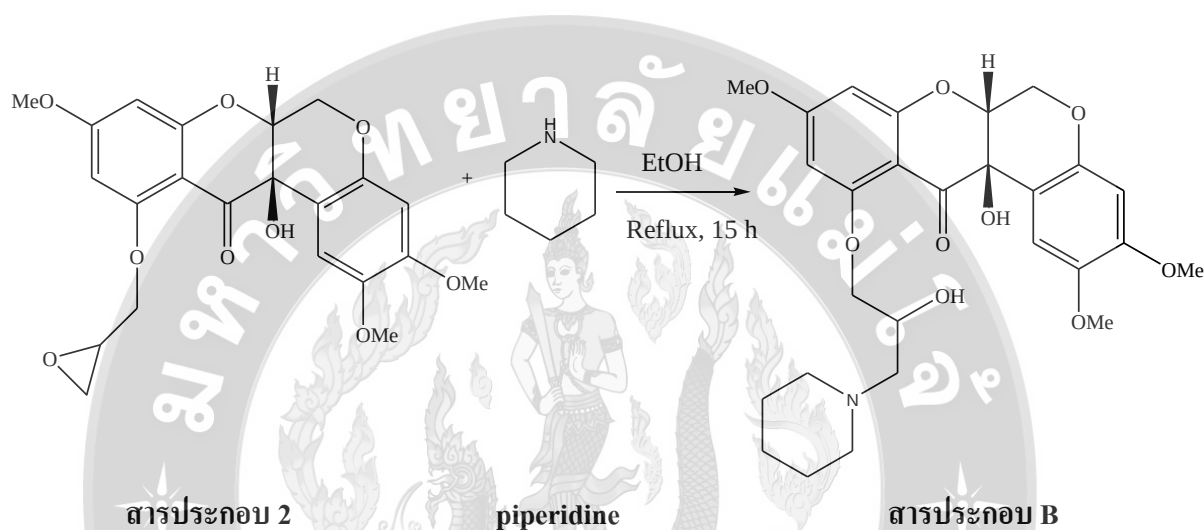
Chemical shift (ppm)	Assignment
2.38,2.63	t, t, 2H, H4'
2.88,2.88	t, t, 2H, H5'
3.56,3.56	t, t, 2H H6'
3.67	s, 3H, OMe-2
3.68	s, 3H, OMe-9
3.73	s, 3H, OMe-3
3.96	dd, 1H, H1'b
3.96	m, 1H H2'
4.05	dd, 1H, H1'a
4.38	dd, J = 12.0, 12.0 Hz, 1H, H-6



รูปที่ 15 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one ๖ (สารประกอบ B)

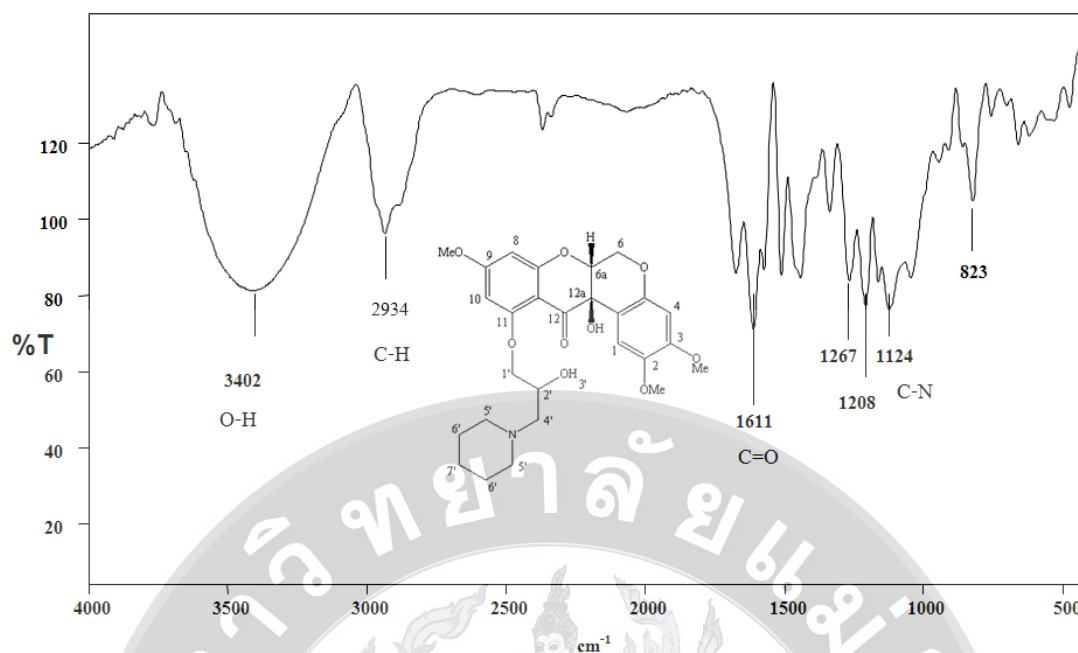
ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไพเพอริดีน (สารประกอบ B) แสดงดังรูป 16 ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 77.51% ข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี FTIR แสดงดังตารางที่ 9 และรูป 17 ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ แสดงดังตาราง 10 และรูป 18



รูปที่ 16 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)

ตารางที่ 9 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one

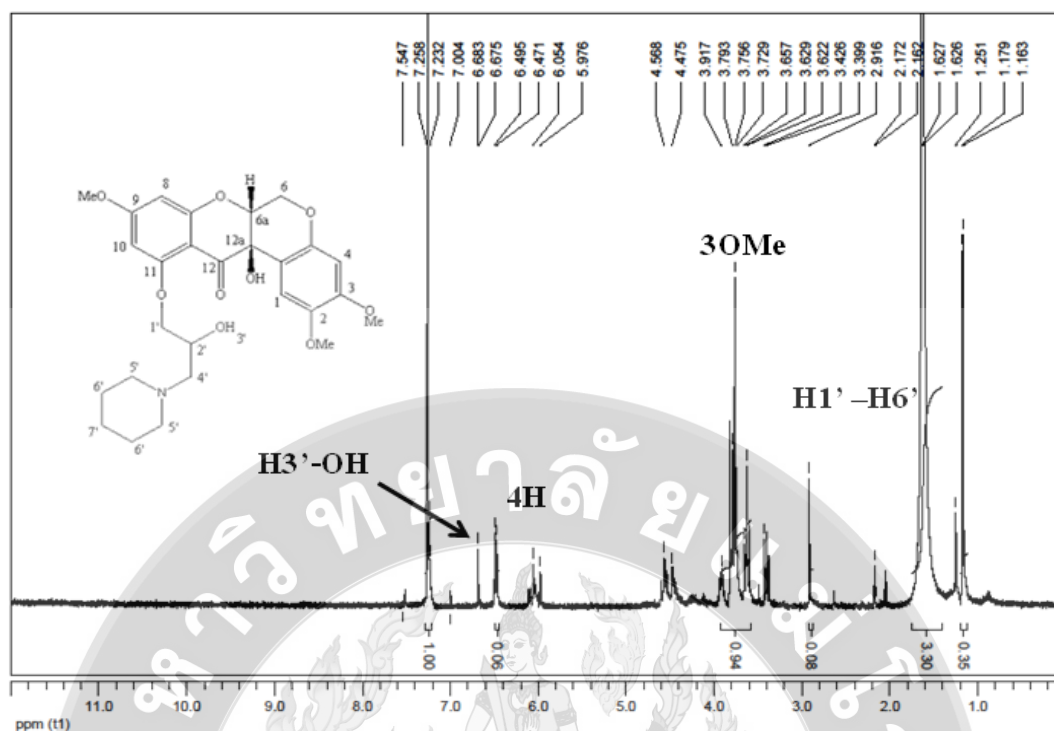
Wavenumber (cm^{-1})	Functional group
1430-1470	C-H Bending (CH_3)
1500-1700	C=C Bending (Aromatic)
1620-1750	C=O Stretching
2815-2832	C-H Stretching (O-CH_3)
3500-3700	N-H Stretching



รูปที่ 17 อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one

ตารางที่ 10 ข้อมูลสเปกตรัม ^1H -NMR ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H chromeno[3,4-b]chromen-12-one

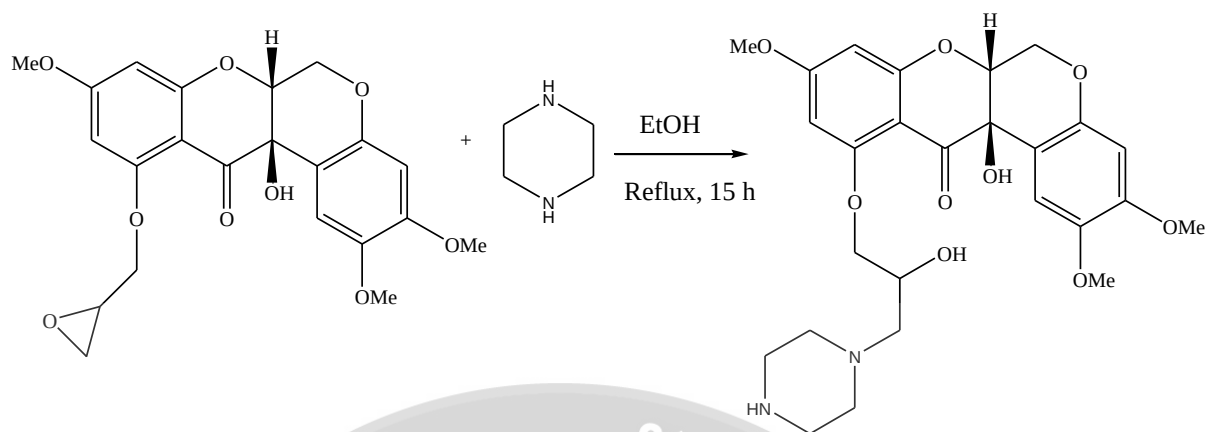
Chemical shift (ppm)	Assignment
1.2	dd, $J = 11.3, 11.3 \text{ Hz}$, 1H, H6'
2.92	dd, $J = 5.0, 5.0 \text{ Hz}$, 1H, H5'
3.43, 3.66	t, t, 1H, H4'
3.76	s, 3H, OMe-2
3.77	s, 3H, OMe-9
3.79	s, 3H, OMe-3
3.90, 4.44	dd, $J = 2.5, 5.0 \text{ Hz}$, 2H, H1'
3.92	m, 1H H2'
4.46	dd, 1H, H-6B
4.55	dd, 1H, H-6A
6.04	t, 1H, H-6a
6.08	s, 1H, H-1
6.47	s, 1H, H-4



รูปที่ 18 สเปกตรัม ¹H-NMR ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b] chromen-12-one

ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12-Hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one ๖ (สารประกอบ C)

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไพเพอราซีน (สารประกอบ C) แสดงดังรูป 19 ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 67.18% ข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี FTIR แสดงดังตารางที่ 11 และรูป 20 ข้อมูล ¹H-NMR แสดงดังตาราง 12 และดังรูป 21



สารประกอบ 2

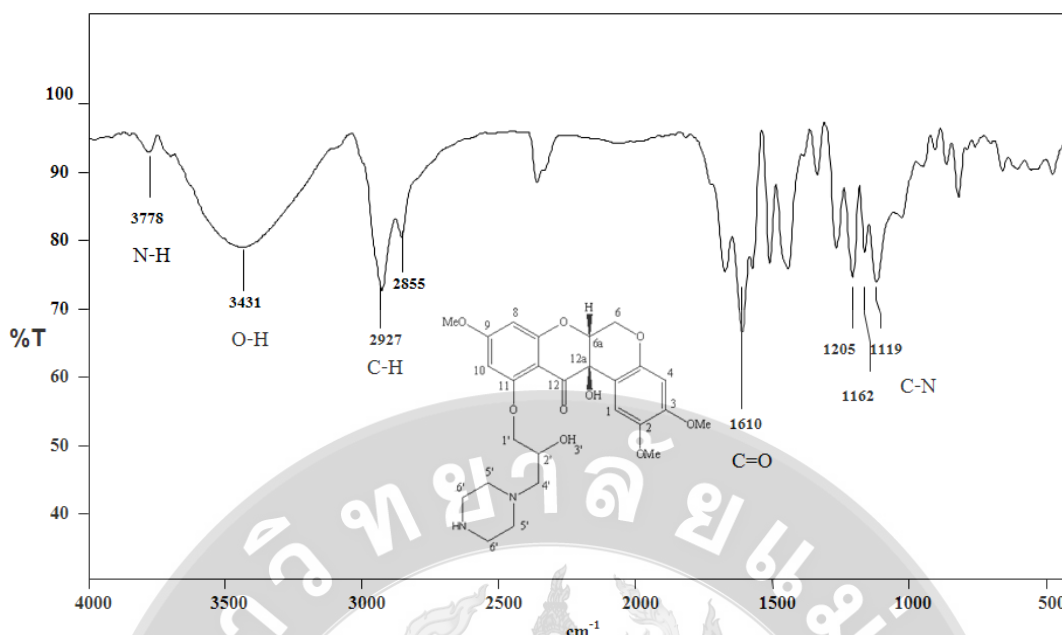
piperazine

สารประกอบ C

รูปที่ 19 ปฏิกริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ C)

ตารางที่ 11 ข้อมูลความถี่และชนิดของการสั่นจากอินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
680-860	C-H Bending (aromatic)
1000-1250	C-N
1395-1440	C-OH bending
1500-1700	C=C Bending (Aromatic)
1620-1750	C=O Stretching
2815-2832	C-H Stretching (O-CH ₃)
3500-3700	N-H Stretching



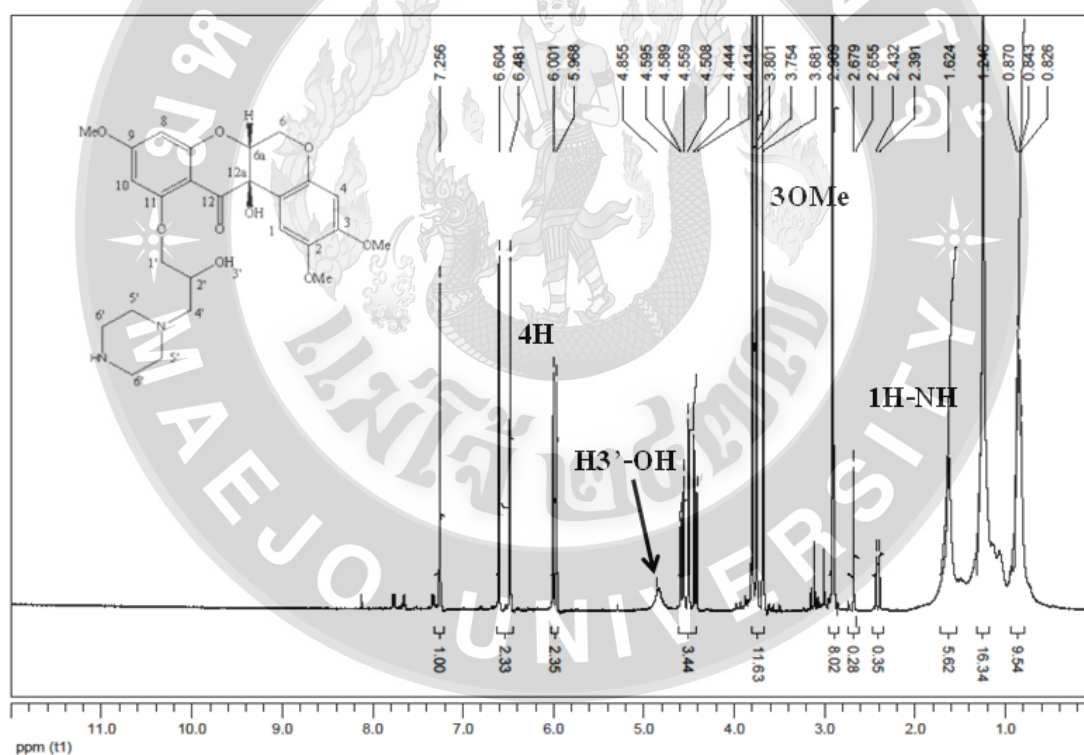
รูปที่ 20 อินฟราเรดสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2,3,9-trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

ตารางที่ 12 ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2,3,9-trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

Chemical shift (ppm)	Assignment
1.63	s, 1H, NH
2.43,2.41	t, t 1H, H6'
2.91	d, J = 2.2 Hz, H4'
3.00,3.10	t, t, 1H, H5'
3.68	s, 3H, OMe-2
3.75	s, 3H, OMe-9
3.80	s, 3H, OMe-3
4.42	dd, J = 12.0,2.5 Hz, 1H, H-6
4.51	d, J = 2.3 Hz, H1'

ตารางที่ 12 ข้อมูลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (ต่อ)

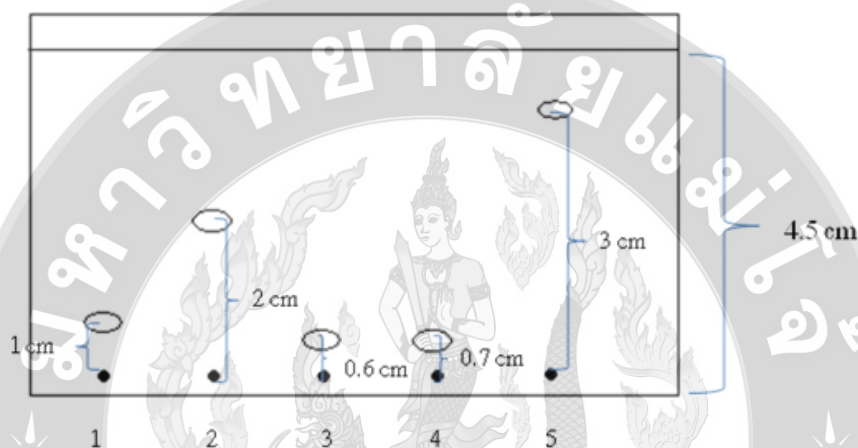
Chemical shift (ppm)	Assignment
4.59	dd, $J = 12.0, 2.5$ Hz, 1H, H-6
4.81	m, H3'-OH
5.96	d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-8
6.00	d, $J = 2.2$ Hz, 1H H-10
6.48	s, 1H, H-4
6.60	s, 1H, H-1



รูปที่ 21 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one

ผลการทดสอบสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal ด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

จากการสกัดสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal นำมาทดสอบผลเบื้องต้นด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่า สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal มีค่า R_f เท่ากับ 0.20 และจากการทดสอบอนุพันธ์มอร์โฟลีน ไพเพอริดีน และ ไพเพอราซีน พบว่ามีค่า R_f ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.13, 0.15 และ 0.66 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังรูป 22



รูปที่ 22 ผลการทดสอบด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

โดยที่ หมายเลข 1 คือ สารประกอบ 1 หรือ 6-deoxyclitoriacetal

หมายเลข 2 คือ สารประกอบ 2 หรือ อนุพันธ์ฟอกไซด์

หมายเลข 3 คือ สารประกอบ A หรือ อนุพันธ์มอร์โฟลีน

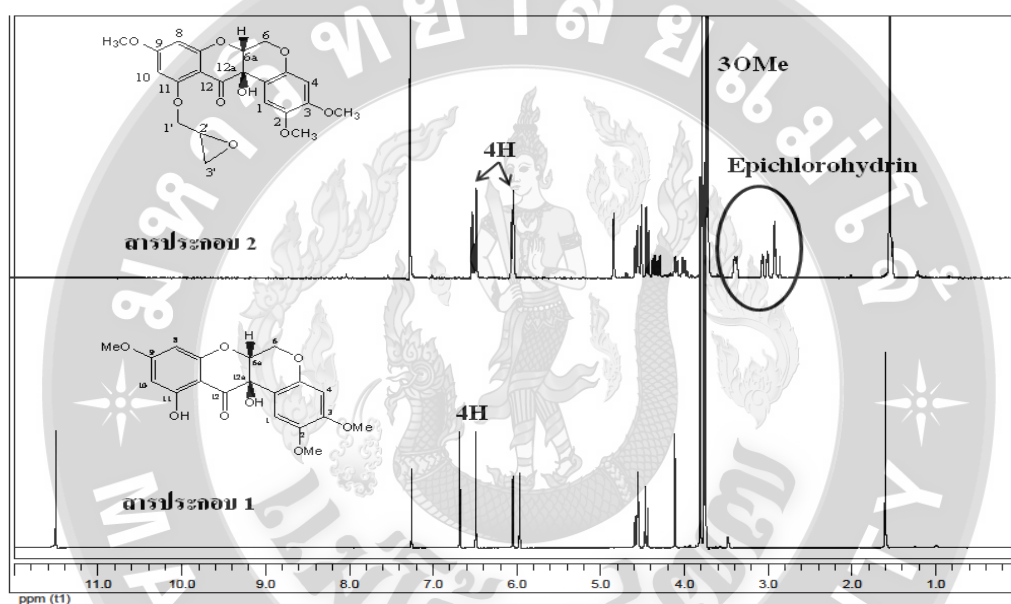
หมายเลข 4 คือ สารประกอบ B หรือ อนุพันธ์ไพเพอริดีน

หมายเลข 5 คือ สารประกอบ C หรือ อนุพันธ์ไพเพอราซีน

วิจารณ์ผลการวิจัย

การเปรียบเทียบผลสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบโรทีนอยด์

การเปรียบเทียบสเปกตรัมของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (สารประกอบ 1) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11 oxiranylmethoxy-6a, 12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2)

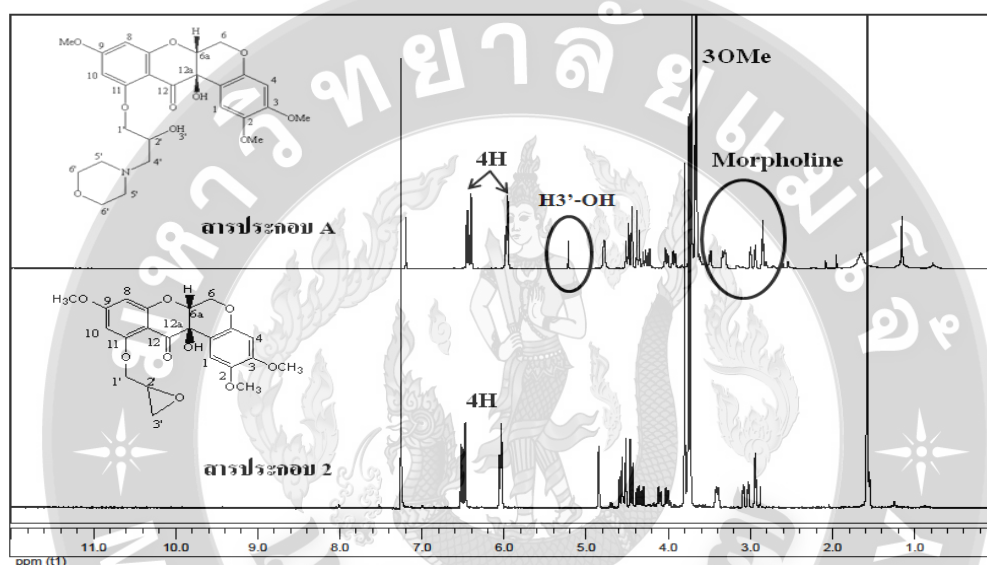


รูปที่ 23 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (สารประกอบ 1) และอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9-trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ 2)

จากโครงสร้างของ 6-deoxyclitoriacetal พบว่า C-11 เป็นคาร์บอนที่ต่อกับหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งตำแหน่งนี้จะเป็นตำแหน่งที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา ณ ตำแหน่งนี้จะเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ สารอีพิกลอโรไฮดรินจะเข้ามาต่อกับโครงสร้างของสารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal ที่ตำแหน่งดังกล่าวนี้ เกิดเป็นอนุพันธ์อีพอกไซด์ (สารประกอบ 2) จากสเปกตรัมของ สารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (1) และอนุพันธ์อีพอกไซด์ ดังรูป 23 จะเห็นว่าฟิคของหมู่ไฮดรอกซีที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 11 ของ 6-deoxyclitoriacetal ที่ 11.5 ppm จะหายไป และวงอีพิกลอโรไฮดรินเข้ามาแทนที่ ฟิคของโปรตอนทั้ง 4 ของ 6-deoxyclitoriacetal ที่

ตำแหน่ง 1, 4, 8 และ 10 ถูกบดบัง และเคลื่อนไปทิศทาง upfield ที่ค่า Chemical shift ลดลง และปรากฏฟีกของอพิคัลไฮดรอกซิลใน ช่วง Chemical shift ระหว่าง 2.9-3.6 ppm

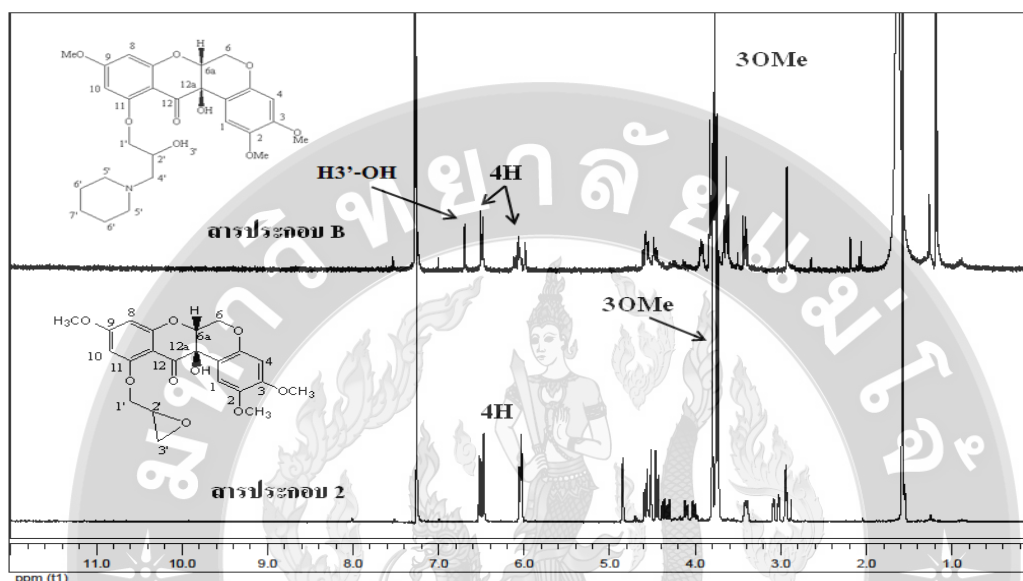
การเปรียบเทียบสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)



รูปที่ 24 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-morpholin-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno [3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ A)

สารอนุพันธ์อพิคัลไฮดรอกซิล ถูกเปิดวงด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกชนิดแรก คือ มอร์โฟลิโน โครงสร้างของมอร์โฟลิโนประกอบด้วยไนโตรเจนและออกซิเจนในโครงสร้างวงแหวนหกเหลี่ยม วงอพิคัลไฮดรอกซิลของอนุพันธ์สารประกอบ 2 ถูกเปิดออกด้วยปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์เกิดเป็นอนุพันธ์มอร์โฟลิโน (สารประกอบ A) สเปกตรัมของอนุพันธ์มอร์โฟลิโนปรากฏโปรตอนของสารประกอบมอร์โฟลิโนและหมู่ไฮดรอกซิลที่เกิดจากการเปิดวงอพิคัลไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5.25 ppm

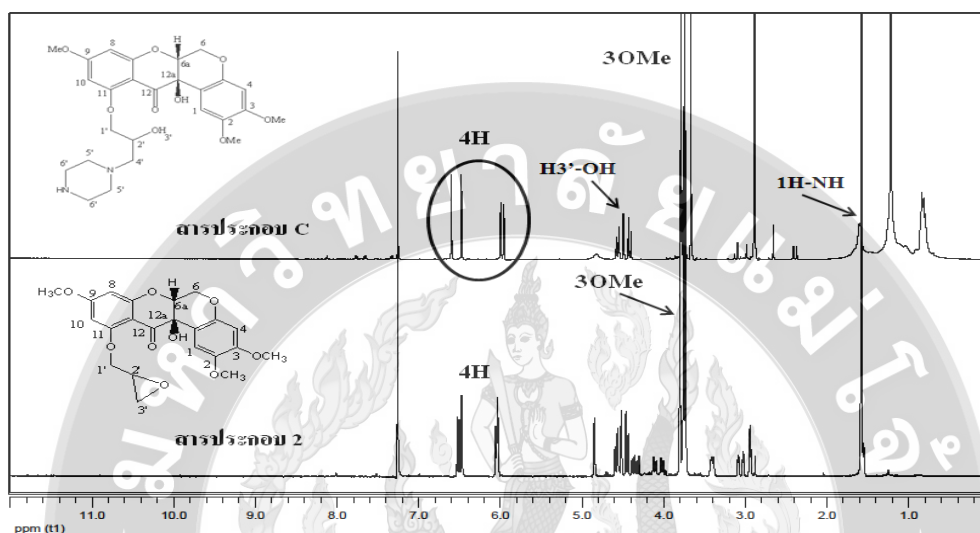
การเปรียบเทียบสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)



รูปที่ 25 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperidine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9- trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno [3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ B)

สารอนุพันธ์อ็อกไซค์ ถูกเปิดวงด้วยเฮทเทอโรไลติกชนิดที่สอง คือ ไพเพอริดีน จากโครงสร้างของไพเพอริดีนที่ประกอบด้วยไนโตรเจน 1 อะตอมในโครงสร้างวงแหวนหกเหลี่ยม ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์เกิดเป็นอนุพันธ์ไพเพอริดีน (สารประกอบ B) สเปกตรัมของอนุพันธ์ไพเพอริดีนมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งโปรตอนในโครงสร้างหลักของ 6-deoxyclitoriacetal โดยโปรตอนที่ตำแหน่ง 1, 4, 8 และ 10 เกิดการเคลื่อนที่ไป ณ ตำแหน่งที่มีค่า chemical shift ที่สูงขึ้น 0.2-0.4 ppm จากตำแหน่งเดิมก่อนมีการเปิดวงอ็อกไซค์ของสารอนุพันธ์ สารประกอบ 2 และพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ chemical shift ของหมู่ Methoxy เล็กน้อยไปยังค่า chemical shift ที่ต่ำลง 0.1-0.2 ppm นอกจากนี้สเปกตรัมของอนุพันธ์ไพเพอริดีนยังปรากฏโปรตอนของโครงสร้างของไพเพอริดีน ดังข้อมูลในตาราง 6.8

การเปรียบเทียบสเปกตรัมของอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9-trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one



รูปที่ 26 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ 12a-hydroxy-2,3,9-trimethyl-11-oxiranylmethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chroman-12-one (สารประกอบ 2) กับอนุพันธ์โรทีนอยด์ 12a-hydroxy-11-(2-hydroxy-3-piperazine-4-yl-propoxy)-2, 3, 9-trimethoxy-6a,12a-dihydro-6H-chromeno[3,4-b]chromen-12-one (สารประกอบ C)

สารอนุพันธ์อีพอกไซด์ถูกเปิดวงด้วยไฟเพอรานีนที่เป็นสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่ไนโตรเจน 2 อะตอมในโครงสร้างวงแหวนหกเหลี่ยมเกิดเป็นสารอนุพันธ์อีพอกไซด์ (สารประกอบ C) จากสเปกตรัมจะพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของค่า chemical shift ของโปรตอนตำแหน่ง 1, 4, 8 และ 10 และตำแหน่งของหมู่ methoxy ทั้ง 3 ชนิดในโครงสร้างหลักของ 6-deoxyclitoriacetal โดยพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงไปที่ตำแหน่งค่า chemical shift ที่ต่ำลง 0.2-0.3 ppm และพบสเปกตรัมของวงแหวนไฟเพอรานีนในโครงสร้างของอนุพันธ์ไฟเพอรานีน ดังข้อมูลในตาราง 6.10

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal

ในการทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์ สารประกอบโรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (1) ที่สกัดได้ และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal นำมาทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้ง

เซลล์มะเร็งในเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านม MCF7 (Breast cancer) และเซลล์มะเร็งปอด NCI-H187 (Human small lung cancer) โดยใช้ Doxorubicin HCl และ Ellipticine ที่เป็นยารักษาโรคมะเร็งเป็นสารอ้างอิง ข้อมูลของการทดสอบแสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal

สารประกอบ	Anti-MCF7 IC ₅₀ (µg/ml)	Anti-NCI-H187 IC ₅₀ (µg/ml)
Doxorubicin	0.11	0.03
Ellipticine	inactive	0.83
สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1)	0.26	0.04
อนุพันธ์อียพอกไซด์ (2)	7.33	3.21
อนุพันธ์มอร์โฟลิโน (A)	inactive	0.975
อนุพันธ์ไพเพอริดีน (B)	inactive	inactive
อนุพันธ์ไพเพอราซีน (C)	inactive	inactive

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารอนุพันธ์อียพอกไซด์ (2) และอนุพันธ์มอร์โฟลิโน (A) ให้ผลการออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์มะเร็ง ขณะที่อนุพันธ์อนุพันธ์ไพเพอริดีน (B) และไพเพอราซีน (C) ไม่แสดงการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้จะเห็นว่า สารอนุพันธ์อียพอกไซด์ซึ่งโครงสร้างประกอบไปด้วยวงอียพอกไซด์ต่อเข้ากับคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal ให้การออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) ได้ดีกว่าการเปิดวงอียพอกไซด์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกทั้งสามชนิด ปรากฏค่า IC₅₀ ที่ 7.33 µg/ml ในขณะที่ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์อียพอกไซด์ในเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) ที่มีค่า IC₅₀ 3.21 µg/ml ให้ผลการทดสอบการยับยั้งที่ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดสอบการออกฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง หลังการเปิดวงอียพอกไซด์ด้วยสารประกอบไพเพอริดีนและไพเพอราซีน ยกเว้นกรณีสารประกอบมอร์โฟลิโนที่พบว่าหลังการเปิดวงอียพอกไซด์ด้วยสารประกอบมอร์โฟลิโนได้เป็นอนุพันธ์มอร์โฟลิโนแล้วทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) และพบว่า ให้ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดีกว่าอนุพันธ์อียพอกไซด์ด้วยค่า IC₅₀ 0.975 µg/ml เมื่อใช้ยา Ellipticine เป็นสารอ้างอิง จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง พบว่า ปัจจัย

แรกที่มีผลต่อผลการทดสอบคือ ปัจจัยเรื่องขนาดโครงสร้างโมเลกุลและความเกาะกะของโครงสร้างโมเลกุลที่อาจมีผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ดังตัวอย่าง ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งที่พบในโครงสร้างของสารประกอบอียพอกไซด์เปรียบเทียบกับอนุพันธ์ทั้งสามชนิดคือ อนุพันธ์มอร์โฟลีน อนุพันธ์ไพเพอริดีน และอนุพันธ์ไพเพอราซีน ที่เกิดจากการเปิดวงของสารอนุพันธ์อียพอกไซด์แล้วพบว่า การเปิดวงอียพอกไซด์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกอาจส่งผลให้เกิดความเกาะกะในโครงสร้างโมเลกุล ทำให้มีผลต่อการเข้ายึดจับกับโครงสร้างส่วนเบสของสาย DNA ทำให้ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ปัจจัยที่สองที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งคือ ความสามารถในการยึดจับผ่านการเกิดอันตรกิริยาที่สำคัญระหว่างโมเลกุล เช่น พันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างอนุพันธ์กับสาย DNA ทั้งนี้เห็นได้จากการเปรียบเทียบผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในสารอนุพันธ์มอร์โฟลีน ไพเพอริดีน และไพเพอราซีน ที่ได้จากการเปิดวงอียพอกไซด์ของสารอนุพันธ์อียพอกไซด์ เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างโมเลกุลสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกทั้งสามชนิด พบว่า มอร์โฟลีนประกอบด้วยอะตอมทั้งในไตรเจนและออกซิเจน ขณะที่ทั้งไพเพอริดีนและไพเพอราซีน มีเพียงอะตอมไนโตรเจนเท่านั้น จากข้อมูลเหล่านี้อาจมีผลต่อการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับความความสามารถในการยึดจับระหว่างโครงสร้างสารอนุพันธ์กับเบสของ DNA สารประกอบมอร์โฟลีนประกอบทั้งในไตรเจนและออกซิเจน ทำให้เกิดอันตรกิริยาที่แข็งแรงมากกว่าผ่านพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้มีผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดีกว่าอนุพันธ์อีก 2 ชนิด คือ อนุพันธ์ไพเพอริดีน และอนุพันธ์ไพเพอราซีน สิ่งนี้แสดงให้เห็นถึงความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมออกซิเจน และไฮโดรเจนและอะตอมไนโตรเจนและไฮโดรเจนของมอร์โฟลีน ขณะที่ทั้งไพเพอริดีน และไพเพอราซีนมีเพียงพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมไนโตรเจน และไฮโดรเจนเท่านั้น นอกจากอะตอมทั้งสองชนิดนี้ อะตอมซัลเฟอร์เป็นอีกอะตอมที่น่าสนใจในการศึกษาถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

สรุปผลการวิจัย

ผลการสกัดสารประกอบโรทีนอยด์จากรากหนอนตายหยากแห้งบดละเอียด 2 กิโลกรัม หมักด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาล มีลักษณะขุ่นหนืด น้ำหนัก 2.10 กรัม นำสารสกัดหยาบที่ได้สกัดสารประกอบโรทีนอยด์โดยใช้ระบบตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และเอทิลอะซิเตท ในอัตราส่วน 2:2:1 (v/v) รวบรวม fraction ที่ให้ผลการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีเหมือนกันได้ 7 fraction จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบ

โรทีนอยด์ที่ได้พบว่า fraction ที่ 5 ซึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.20 คือสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 32.18 % สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1) ที่สกัดได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ $130 - 131^\circ\text{C}$ มี $[\text{M}]^+$ ที่ m/z 374

สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1) ถูกเปลี่ยนเป็นสารอนุพันธ์อพอกไซค์โดยการทำปฏิกิริยากับอีพิกโลโรไฮดรินได้สารประกอบ 2 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 71.81% สารอนุพันธ์อพอกไซค์ถูกเปิดวงด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ 3 ชนิด คือ มอร์โฟลีน ไพเพอริดีน ไพเพอราซีน ตามลำดับ สารอนุพันธ์มอร์โฟลีน (A) ไพเพอริดีน (B) และไพเพอราซีน (C) ที่สังเคราะห์ได้คิดเป็น 98.60%, 77.51% และ 67.18% ตามลำดับ

สารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal และอนุพันธ์ของสารประกอบ 6-deoxyclitoriacetal (1) นำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์ MCF-7 (มะเร็งเต้านม) และ NCI-H187 (เซลล์มะเร็งปอด) โดยมีดอกขอรูบิซินและอิริปทิซิน เป็นสารอ้างอิงพบว่า สารอนุพันธ์อพอกไซค์ (2) ให้การออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์ MCF-7 และ NCI-H187 โดยมีค่า IC_{50} 7.33 และ 3.21 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สารอนุพันธ์มอร์โฟลีน (A) ให้การออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์ (NCI-H187) โดยมีค่า IC_{50} 0.975 $\mu\text{g/ml}$ สารอนุพันธ์ไพเพอริดีนและไพเพอราซีน (B และ C) ไม่ให้การออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด

จากผลการทดลองการสังเคราะห์อนุพันธ์โรทีนอยด์ 6-deoxyclitoriacetal (1) และศึกษาการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7 และ NCI-H187 พบว่า อนุพันธ์อพอกไซค์ให้การออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดีกว่าหลังการเปิดวงอพอกไซค์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกทั้งสามชนิดในเซลล์มะเร็ง MCF-7 และ NCI-H187 ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากหลังเปิดวงอพอกไซค์ด้วยสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก ทำให้โครงสร้างอนุพันธ์ที่มีความกะทัดรัด ส่งผลต่อความสามารถในการเข้ายึดจับกับสาย DNA นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มของอนุพันธ์ที่สังเคราะห์โดยการเปิดวงอพอกไซค์ที่ได้คือ อนุพันธ์มอร์โฟลีน ไพเพอริดีน และไพเพอราซีน พบว่า อนุพันธ์มอร์โฟลีน ให้การออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง NCI-H187 (IC_{50} 0.975 $\mu\text{g/ml}$) ที่ดีกว่าอนุพันธ์อีก 2 ชนิด ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยด้านความสามารถในการเข้ายึดจับกับสาย DNA โดยผ่านการเกิดอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์โรทีนอยด์กับเบสของ DNA พันธะไฮโดรเจนระหว่างโครงสร้างอนุพันธ์และสาย DNA มีผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง โครงสร้างอนุพันธ์มอร์โฟลีนมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมออกซิเจนและไนโตรเจนกับเบสใน DNA ที่แข็งแรงกว่าอนุพันธ์ชนิดอื่นทำให้มีการออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นผ่านอะตอมออกซิเจนและไนโตรเจน ที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งนี้นอกจากอะตอมทั้งสองชนิดพบว่า อะตอมของซัลเฟอร์ก็เป็นอะตอมที่น่าสนใจในการศึกษาการออกฤทธิ์ของ

สารสังเคราะห์ที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง ซึ่งจะได้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยทางแพทย์. 2527. สมุนไพรพื้นบ้านตอนที่ 1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: กรุงเทพฯ. 131น.
- การะเกด สายบรรดาศักดิ์. 2540. **ฤทธิ์ของ 6- deoxyclitriacetal** จากรากหนอนตายหยากต่อ **กล้ามเนื้อเรียบ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.
- ณัฏฐรา วีระฉัตร. 2528. **ผลของสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสังแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.
- ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2542. พัฒนาหนอนตายหยากเป็นสมุนไพรฆ่าแมลง. **เคลนิวิสต์** (17 พฤศจิกายน 2542): 27.
- บุญยัณิสร์ โอทกานนท์. 2494. **การศึกษาทางเภสัชวิทยาของหนอนตายหยาก**. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.
- ประคอง พันธุ์ไธ. 2520. รายงานการศึกษาชีววิเคราะห์ของรากหนอนตายหยาก. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 19(3): 145-154.
- ประคอง พันธุ์ไธ อุษาดี ชำรง ผลชีวัน บุญล้วน พันธุ์จินดา ทวีผล เดชาดิวงศ์ ณ อยุธยา และ สุวรรณ จารุณช. 2523. **สารสกัดจากรากหนอนตายหยากเพื่อใช้ฆ่าเหา**. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: กรุงเทพฯ. 16 น.
- เลาเจนา ชีรภัทรสกุล และ ประคอง พันธุ์ไธ. 2520. การศึกษาพิษของหนอนตายหยากที่มีต่อหนอนแมลงวันบ้าน. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 19(3): 217-226.
- วาสนา ไชยคำ. 2544. **ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) และเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.)**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น: ขอนแก่น.
- สุธาพันธ์ โพธิ์กำเนิด. 2544. **การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรหนอนตายหยากผสมอาหารไก่เพื่อควบคุมปริมาณหนอนแมลงวันบ้านในมูลไก่**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร

มหบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ (เทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร) บัณฑิต
วิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล: กรุงเทพฯ.

สุภาพ บุญยะรัตเวช และ สมหมาย ประรังกะโม. 2523. การทดสอบประเภทของสารเคมีในพืช
สมุนไพรไทย. รายงานผลการวิจัย เล่ม 5. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.

Shiengthong, D., Donavanik, T., Uaprasert, V., Roengsumran, S. and Massy-Westropp, R.A.
1974. : Constituents of Thai medicinal plants-III. New rotenoid compounds-stemonacetal,
stemonal, and stemonone. **Tetrahedron Letters**. 15: 2015-2018.

Mathias, L., Walter, B., Mors and Jos P. Parente. 1997. Rotenoids from seeds of *Criteria
fairchildiana*. **Phytochemistry** 48: 1449-1451.

Ollevier, T. and Lavie-Compin, G. 2002. An efficient method for the ring opening of epoxides
with aromatic amines catalyzed by bismuth trichloride. **Tetrahedron Letters**. 43: 7891–
7893.

Roengsumran, S., Khorphueng, P., Chaichit, N., Jaiboon-Muangsin, N. and Petsom, A.
2003. Crystal structure of 6-deoxyclitoriacetal, C₁₉H₁₈O₈. **Z. Kristallogr**. 218: 105–106.

Khorphueng, P., Tummatorn, J., Petsom, A., J. K. Taylor and Roengsumran, S. 2006. Total
synthesis of 6-deoxyclitoriacetal isolated from *Stemona collinsae* Craib. **Tetrahedron
Letters**. 47: 5989–5991.

Yenesew, A.K., Mushibe, E., Induli, M., Derese, S.O., Midiwo, J.M., Kabaru, J., Heydenreich,
M., Koch, A. and G.M. Peter. 2006. 7a-O-methyldeguelol, a modified rotenoid with an
open ring-C, from the roots of *Derris trifoliata*. **Phytochemistry**. 66: 653–657.

Woo, S., Jung, J., Lee, C., Kwon, Y. and Na, Y. Synthesis of new xanthone analogues and their
biological activity test, Cytotoxicity, topoisomerase II inhibition, and DNA cross-linking
study. 2008. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 17: 1163–1166.

Ilyas Kureshy, R., Singh, S., Hasan Khan, N., Hasan Razi Abdi, S., Suresh, E., Vir Jasra, R.
2007. Efficient method for ring opening of epoxides with amines by NaY zeolite under
solvent-free conditions. **Journal of Molecular Catalysis A**. 264: 162–169.

Woo, S., Kang, D., Kim, J., Lee, C., Lee, E., Jahng, Y., Kwon, Y. and Na, Y. 2008. Synthesis,
Cytotoxicity and Topoisomerase II Inhibition Study of New Thioxanthone Analogues.
Bull.KoreanChem.Soc. 29: 471-474.

Kurteva, V. and Lyapova, M. 2004. Synthesis of a series of vicinal diamines with potential biological activity. **Central European Journal of Chemistry**. 2: 686-695.

