6.114563

รายงานฉบับสมบูรณ์

การค้นหายาจากพืชสมุนไพรไทยวงศ์ Rutaceae ที่มีศักยภาพต้านมะเร็งหรือจุลชีพ

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรัตน์ ละภูเขียว

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2554

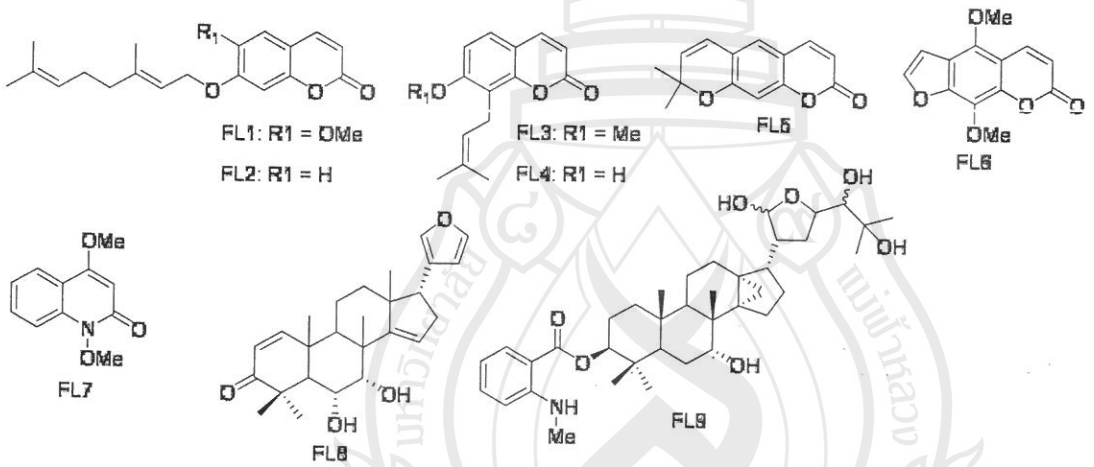
กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการวิจัยตลอดโครงการวิจัย (งบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2554) ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อุมา ประวัติ และนางสาวนารีรัตน์ ทองทิพย์ ที่ช่วยเหลือการบันทึกข้อมูล NMR บางส่วน ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ที่บันทึกข้อมูล HRMS และสุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติที่ช่วยเหลือการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่สนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรัตน์ ละภูเขียว
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2554

บทคัดย่อ

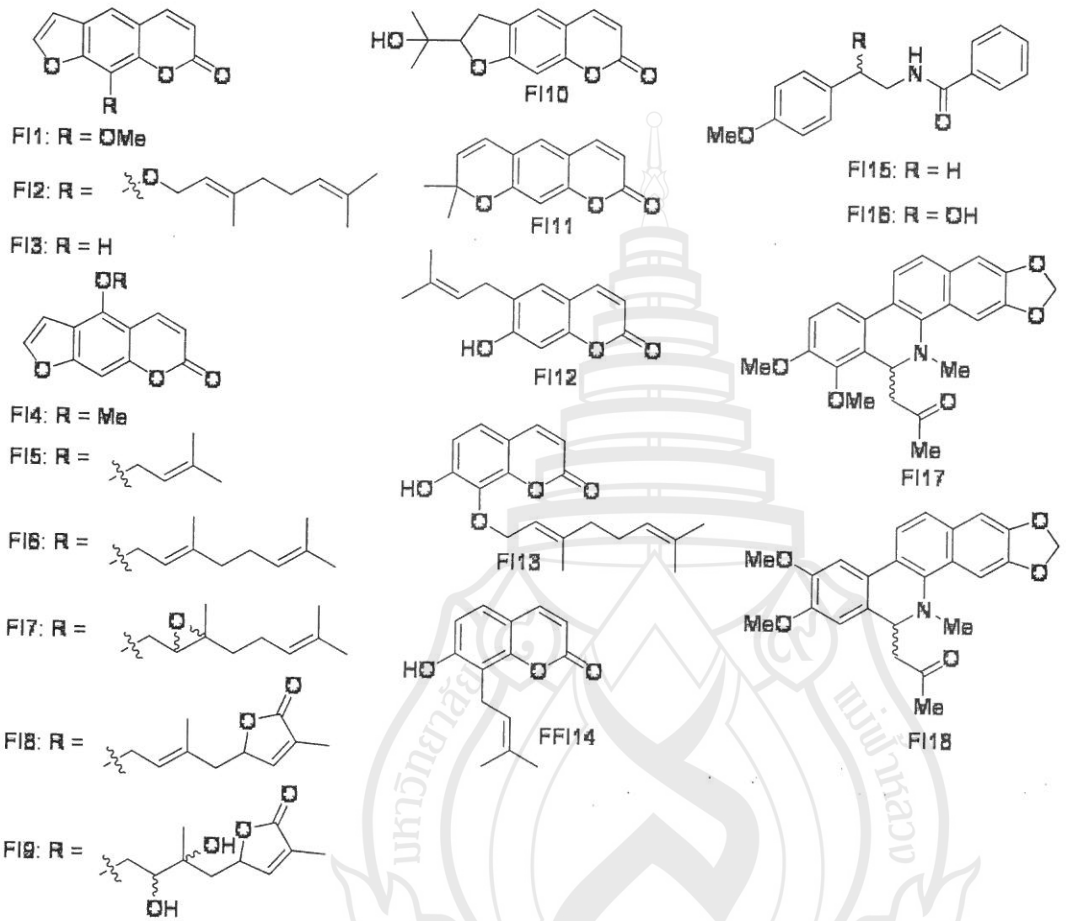
จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะขวิดสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้วจำนวน 9 สารคือ 6-methoxy-7-geranyloxycoumarin (**FL1**), auraptene (**FL2**), osthol (**FL3**), osthenol (**FL4**), xanthyletin (**FL5**), isopimpinelin (**FL6**) สารประกอบควิโนโลนแอลคาร์ลอยด์ 1 สาร 1-methyl-4methoxy-2-quinolone (**FL7**) และสารประกอบไตรเทอร์พีน 2 สาร deacetylmeldenin (**FL8**) (21, 23*S*)-Epoxy-7α, 21, 24*S*, 25-tetrahydroxy-4α, 4β, 8β, 10β -tetramethyl-25-dimethyl-14, 18-cyclo-5α, 13α, 14α, 17α-cholestan-3β-*N*-methylanthranilic acid ester (**FL9**) โดยสาร **1**, **3**, **5** และ**7-9** เป็นการค้นพบครั้งแรกจากต้นมะขวิด



จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะสังสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้วจำนวน 17 สารคือ xanthotoxin (**FI1**), 8-geranyloxypsolaren (**FI2**), psolaren (**FI3**), bergapten (**FI4**), isoimperatorin (**FI5**), bergamottin (**FI6**), anisolactone (**FI8**), 2",3"-dihydroxyanisolactone (**9**), marmisin (**FI10**), xanthyletin (**FI11**), demethylsuberosin (**FI12**), 8-geranyloxy-7-hydroxycoumarin (**FI13**), osthenol (**FI14**), *N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (**FI15**), terbamide (**FI16**), 6-acetonyldihydrochelelerythrine (**FI17**) and 8-acetonyldihydronitidine (**FI18**) โดยเป็นสารใหม่ 1 สารคือ lucidafuranocoumarin A (**7**)

สาร **FI18** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.637 (KB) 4.48 (MCF7) และ0.094 μg/ml (NCI-H187) นอกจากนี้แล้วสารสาร **FI18** ยังแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ในระดับดีมากโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.336 μg/ml และแสดง

ฤทธิ์ต้าน เชื้อก่อโรควัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) ในระดับดีโดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25μg/ml



บทสรุปผู้บริหาร

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีบทบาทสำคัญในการศึกษาเพื่อค้นคว้าหายามารักษาโรคหรือการประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆที่เกี่ยวข้อง ดังนั้นการค้นหาองค์ประกอบทางเคมีจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาเพื่อให้เกิดการค้นพบตัวยาหรือสารประกอบใหม่ๆในอนาคต

แพทย์แผนโบราณมีการใช้พันธุ์ไม้หลายชนิดเป็นสมุนไพรในการรักษาโรค ซึ่งบางชนิดก็จะมีผลข้างเคียงหรือมีพิษหากรับประทานเข้าไปในปริมาณมากๆ เนื่องจากมีการรับประทานทั้งส่วน เช่น มีการนำทั้ง กิ่ง หรือ ราก ของพันธุ์ไม้มาต้มแล้วนำน้ำที่ได้จากการต้มมาดื่มซึ่งจะทำให้ร่างกายได้รับทั้งสารที่มีคุณและโทษในขณะเดียวกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาอย่างเป็นระบบเพื่อแยกและหาองค์ประกอบทางเคมีและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบนั้นๆ อย่างจำเพาะเจาะจง เพื่อให้ได้ข้อมูลของสารที่ออกฤทธิ์และสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างถูกต้องจึงจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์วิจัยองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช 2 ชนิดคือรากมะขวิด และรากมะสัง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะขวิดสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้วจำนวน 9 สารและจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะสังสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้วจำนวน 17 สารและสารใหม่ 1 สารคือ lucidafuranocoumarin A (**7**)

ส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์บางสารได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งสามชนิดคือ KB MCF7 และ NCI-H187 ส่วนสกัดหยาบจากรากมะขวิดแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง MCF7 และ NCI-H187 ในระดับปานกลางโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.01 และ18.60 μg/ml ตามลำดับ และไม่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง KB สำหรับส่วนสกัดหยาบรากมะสังพบว่าแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง MCF7 ในระดับที่ดีมากโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 μg/ml สำหรับฤทธิ์ ต้านมะเร็ง KB และ NCI-H187 อยู่ในระดับปานกลางโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.81 และ24.70 μg/ml ตามลำดับและนอกจากนี้ส่วนสกัดหยาบรากมะสังยังแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรียในระดับดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.16 μg/ml สำหรับส่วนสกัดหยาบจากรากมะขวิดไม่แสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

สำหรับสารบริสุทธิ์ 16 สารคือ **FL8**, **FL9**, **FI1**, **FI3-FI9, FI11, FI12 และ FI15- FI18** ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเช่นกันโดยพบว่าสาร**FI18** ซึ่งเป็นสารกลุ่มแอลคาร์ลอยด์ แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ในระดับดีมาก โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.637 (KB) 4.48 (MCF7) และ0.094 μg/ml (NCI-H187) นอกจากนี้แล้วสารสาร **FI18** ยังแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ในระดับดีมากเช่นเดียวกันโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.336 μg/ml และแสดงฤทธิ์ต้าน เชื้อก่อโรควัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) ในระดับดีโดยมีค่า MIC เท่ากับ

6.25μg/ml จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารแอลคาร์ลอยด์ **FI18** มีศักยภาพที่ดีในการต้านมะเร็ง มาลาเรีย และ วัณโรค ซึ่งสารตัวนี้อาจเป็นประโยชน์ในด้านการแพทย์ในอนาคต

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(1)
บทคัดย่อ	(2)
บทสรุปผู้บริหาร	(4)
สารบัญ	(6)
สารบัญภาพ	(7)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	6
บทที่ 4 ผลการวิจัย	10
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	26
ประวัตินักวิจัย	50

สารบัญภาพ

ภาพประกอบที่		หน้า
1	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL1** (400 MHz, $CDCl_3$)	26
2	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL1** (100 MHz, $CDCl_3$)	26
3	DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL1**	27
4	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL2** (400 MHz, $CDCl_3$)	27
5	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL3** (400 MHz, $CDCl_3$)	28
6	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FL3** (100 MHz, $CDCl_3$)	28
7	DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL3**	29
8	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL4** (400 MHz, $CDCl_3$)	29
9	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL5** (400 MHz, $CDCl_3$)	30
10	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL6** (400 MHz, $CDCl_3$)	30
11	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL7** (400 MHz, $CDCl_3$)	31
12	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FL7** (100 MHz, $CDCl_3$)	31
13	DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL7**	32
14	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL8** (400 MHz, $CDCl_3$)	32
15	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL9** (400 MHz, $CDCl_3$)	33
16	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI1** (400 MHz, $CDCl_3$)	33
17	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI1** (100 MHz, $CDCl_3$)	34
18	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI2** (400 MHz, $CDCl_3$)	34

19	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI3** (400 MHz, $CDCl_3$)	35
20	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI4** (400 MHz, $CDCl_3$)	35
21	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI4** (100 MHz, $CDCl_3$)	36
22	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI5** (400 MHz, $CDCl_3$)	36
23	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI5** (100 MHz, $CDCl_3$)	37
24	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI6** (400 MHz, $CDCl_3$)	37
25	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI6** (100 MHz, $CDCl_3$)	38
26	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI7** (400 MHz, $CDCl_3$)	38
27	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI7** (100 MHz, $CDCl_3$)	39
28	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI8** (400 MHz, $CDCl_3$)	39
29	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI8** (100 MHz, $CDCl_3$)	40
30	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI9** (400 MHz, $CDCl_3$)	40
31	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI9** (100 MHz, $CDCl_3$)	41
32	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI10** (400 MHz, $CDCl_3$)	41
33	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI10** (100 MHz, $CDCl_3$)	42
34	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI11** (400 MHz, $CDCl_3$)	42
35	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI11** (100 MHz, $CDCl_3$)	43
36	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI12** (400 MHz, $CDCl_3$)	43
37	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI12** (100 MHz, $CDCl_3$)	44
38	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI13** (400 MHz, $CDCl_3$)	44

39	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI14** (400 MHz, $CDCl_3$)	45
40	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI14** (100 MHz, $CDCl_3$)	45
41	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI15** (400 MHz, $CDCl_3$)	46
42	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI15** (100 MHz, $CDCl_3$)	46
43	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI16** (400 MHz, $CDCl_3$)	47
44	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI16** (100 MHz, $CDCl_3$)	47
45	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI17** (400 MHz, $CDCl_3$)	48
46	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI17** (100 MHz, $CDCl_3$)	48
47	^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI18** (400 MHz, $CDCl_3$)	49
48	^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI18** (100 MHz, $CDCl_3$)	49

บทที่ 1 บทนำ

1.1. ที่มาและความสำคัญของปัญหาที่นำไปสู่การค้นคว้าวิจัย

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีบทบาทสำคัญในการศึกษาเพื่อค้นคว้าหายามารักษาโรคและใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบเคมีชนิดต่างๆ ดังนั้นการค้นหาองค์ประกอบทางเคมีจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาเพื่อให้เกิดการค้นพบตัวยาหรือสารประกอบใหม่ๆในอนาคต

แพทย์แผนโบราณมีการใช้พันธุ์ไม้หลายชนิดเป็นสมุนไพรในการรักษาโรค ซึ่งบางชนิดก็จะมีผลข้างเคียงหรือมีพิษหากรับประทานเข้าไปในปริมาณมากๆ เนื่องจากมีการรับประทานทั้งส่วน เช่น นำกิ่ง หรือ เมล็ด มาบดแล้วรับประทาน หรือ มีการนำทั้ง กิ่ง ใบ หรือ ราก ของพันธุ์ไม้มาต้มแล้วนำน้ำที่ได้จากการต้มมาดื่มซึ่งจะทำให้ได้ทั้งสารที่มีคุณและโทษในขณะเดียวกัน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาอย่างเป็นระบบเพื่อแยกและหาองค์ประกอบทางเคมีและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบนั้นๆ อย่างจำเพาะเจาะจง เพื่อให้ได้ข้อมูลของสารที่ออกฤทธิ์และนำไปใช้ประโยชน์อย่างถูกต้องจึงจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ยาสำคัญหลายชนิดใช้สารที่ได้จากพืชเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ดังนั้นจึงมีการวิจัยเพื่อพยายามหาองค์ประกอบสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรค หรือ เพื่อสังเคราะห์สารคล้ายคลึง หรือ อนุพันธ์ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาวิจัยและทดสอบสารที่ได้จากตัวอย่างพืชจำนวนมากมายหลายชนิดและจากหลายๆ ส่วนของพืชจึงจะค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามการสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นเพียงการเริ่มต้นในกระบวนการศึกษาเพื่อ ที่จะค้นพบสารสำคัญใหม่ๆ แต่ขั้นตอนที่สำคัญคือการหาเอกลักษณ์หรือโครงสร้างของสารและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนั้นๆ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปทางด้านการสังเคราะห์ เภสัชเคมี และ การแพทย์

1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากมะขวิด และมะสังให้บริสุทธิ์และวิเคราะห์โครงสร้าง
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและต้านจุลชีพ ของส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์
3. ดัดแปลงโครงสร้างของสาร (ที่แยกได้ในปริมาณมาก) และ ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและโครงสร้างทางเคมี

1.3. ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

1. สกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีจากมะขวิด และมะสังทำให้บริสุทธิ์ และวิเคราะห์โครงสร้าง

2. ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและต้านจุลชีพขององค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จาก มะขวิด และมะสัง

1.4. นิยามศัพท์

ไม่มี

1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. เผยแพร่ข้อมูลด้านสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและเชื้อจุลชีพ

2. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชวงศ์ Rutaceae เพื่อพัฒนาไปสู่ตัวยาในอนาคต

3. ตีพิมพ์ผลงานในระดับนานาชาติ หรือจดสิทธิบัตร

บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. ทฤษฎี ตัวแบบ แนวคิด เหตุผล หรือสมมุติฐาน

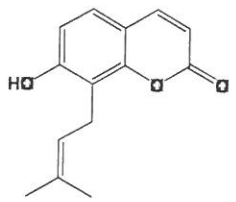
Coumarins และ Carbazole alkaliods เป็นสารประกอบหลักที่พบมากในพืชในวงศ์ Rutaceae จากการรายงานบทความทางวิชาการพบว่าสารประกอบ coumarins และ carbazole alkaloids ที่แยกได้จากพืชในวงศ์นี้ แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจเช่น ต้านมาลาเรีย ต้านมะเร็ง และต้านเชื้อจุลชีพ มะขวิด และมะสังเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Rutaceae ซึ่งเป็นพืชที่พบได้ในประเทศไทย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้คาดว่าจะพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่าสารที่พบในชนิดอื่นๆของวงศ์นี้ และสามารถนำสารออกฤทธิ์นั้นไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางด้านต่างๆเช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หรือยาสมุนไพรเป็นต้น

2.2. สรุปสาระสำคัญจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

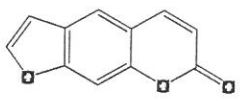
มะขวิด (*Feronia limonia*)

มะขวิด เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae มีลักษณะเป็นเป็นไม้ต้น ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 15 - 25 ม. **ใบ** เป็นช่อแบบข้อต่อเรียงสลับหรือติดเป็นกระจุกบริเวณปุ่มตามกิ่ง ช่อใบ ยาว 8 - 15 ซม. เนื้อใบค่อนข้างหนา เกลี้ยงหลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ส่วนท้องใบสีจางกว่า ถ้าเอาใบส่องผ่านแสงจะเห็นต่อมน้ำมันทั่วไป รูปรี ๆ ใส ๆ มากมาย **ดอก** เล็กสีขาวอมแดงคล้ำ ๆ ออกรวมกันเป็นช่อสั้น ๆในแต่ละช่อมีทั้งดอกเพศผู้และดอกรวมเพศ **ผล** แบบผลแห้ง เมล็ดจำนวนมาก รูปผลกลมโต เปลือกนอก แข็งเป็นกะลา สีเทาอมขาว ขนาดผลเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 - 10 ซม. เนื้อในอ่อนนิ่ม เมื่อสุกเนื้อเยื่อในสีดำและรับประทานได้ มีกลิ่นหอม รสหวานอมเปรี้ยว มียางเหนียวใช้เป็นกาวได้ สรรพคุณทางยา **ราก เปลือก** และ **ดอก** แก้ลงท้อง แก้ฝีเปื่อยพัง แก้บวม แก้ตัวพยาธิ แก้ตกโลหิต **ใบ** แก้ฟกบวม แก้พยาธิ แก้ฝีเปื่อยพัง แก้ท้องร่วง แก้ตกโลหิต (ห้ามโลหิตระดูสตรี) ขับลม ฝาดสมาน **ผล** แก้ฝีเปื่อยพัง แก้บวม แก้ตัวพยาธิ แก้ตกโลหิต เป็นยาบำรุงทำให้สดชื่น เจริญอาหาร บำบัดโรคท้องเสีย รักษาโรคที่เกี่ยวกับทางเดินอาหาร รักษาโรคลักปิด-ลักเปิด จากการศึกษาวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับต้นมะขวิด พบว่ามีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพมาบ้างแล้ว ซึ่งสารที่แยกได้จากต้นไม้ชนิดนี้แสดง ฤทธิ์ยับยังเชื้อราที่ก่อโรคในพืช มะขวิดได้มีผู้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีมาบ้างแล้ว ดังแสดง

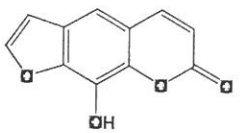
ในปี ค.ศ. 1989 Adikarma และคณะ ได้รายงานผลทดสอบฤทธิ์ยับยังเชื้อรา ของสารประกอบ Coumarins จากส่วนผล



Osthenol



Psoralene

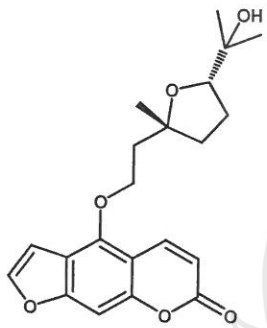


Xanthotoxin

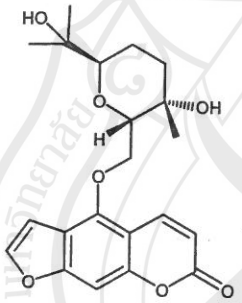
มะสัง (*Feroniella lucida*)

มะสัง เป็นพืชยืนต้นที่จัดอยู่ในวงศ์เดียวกับมะขวิด มีความสูงถึง 12 ม. ลำต้นและกิ่งมีหนาม กิ่งอ่อนมีขนปกคลุม **ใบ** เรียงตัวแบบสลับหรือเป็นกระจุก 2-3 ก้านใน 1 ข้อ กว้าง 0.5-1.5 ซม. ยาว 1-3 ซม. ผิวด้านท้องใบเห็นต่อมน้ำมันกระจายชัดเจน **ดอก** เกิดที่ซอกใบหรือปลายกิ่ง สี ขาว แยกกัน รูปไข่กลับหรือรูปใบหอก กลีบกว้าง 0.7-1 ซม. ยาว 1.4-1.8 ซม. ปลายกลีบแหลม โคนกลีบตัดตรง เกสรเพศผู้ จำนวนมาก (15-20 อัน) เกสรเพศเมีย 1 อัน รูปโดมทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 4-5 มม. **ผล** และ **เมล็ด** ผลสด รูปกลม เปลือกผลหนาถึง 1 ซม. มีต่อมน้ำมันที่ผิวนอกเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลาง ผล 5-8 ซม. เมล็ดรูปยาวรี จำนวนมาก ปัจจุบันนิยมปลูกเป็นไม้ประดับ โดยนำมาดัดให้เป็นไม้แคระ ให้มีรูปทรงต่างๆ ในส่วนใบและยอดอ่อนมีการทำมาปรุงอาหาร ส่วนผลสามารถรับประทานได้ จากการสืบค้นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พบว่า มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นมะสังมาบ้างแล้วดังแสดง

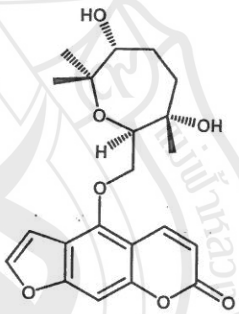
ในปี ค.ศ. 2006 Phuwapraisirisan และคณะ แยกสารประกอบ Coumarins ใหม่ได้ 3 สารซึ่งสารประกอบ feroniellin B แสดงความสามารถในการยับยั้งการเกาะตัวของเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย adenosine diphosphate (ADP) มีโครงสร้างดังแสดง



Feroniellin A

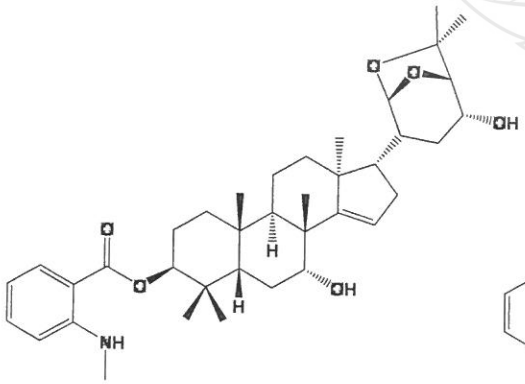


Feroniellin B

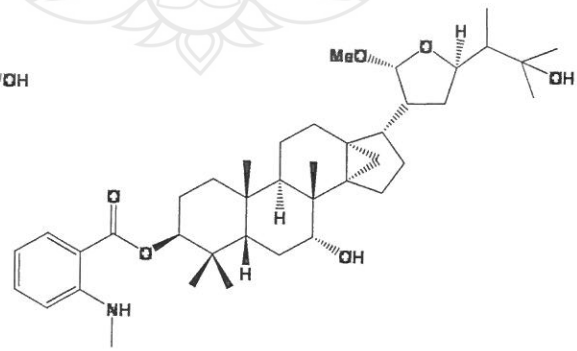


Feroniellin C

ในปี ค.ศ. 2007 Phuwapraisirisan และคณะ สามารถแยกสารประกอบ Terpenoids ใหม่ 2 สาร ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง มีโครงสร้างดังแสดง

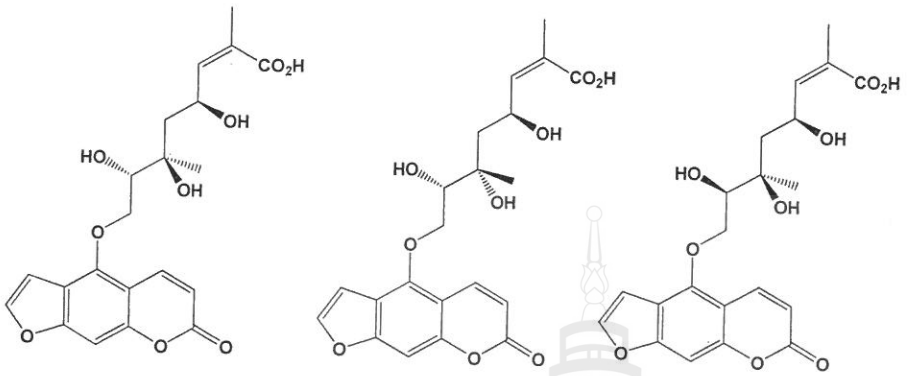


Feroniellides A



Feroniellides B

ในปี ค.ศ. 2008 Phuwapraisirisan และคณะ รายงานสารประกอบ furocoumarin ใหม่ 3 ไอโซเมอร์ ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดง



Feroniellic acids A **Feroniellic acids B** **Feroniellic acids C**

เนื่องจากรากของพืชส่วนใหญ่จะถูกนำมาใช้ในตำรับยาพื้นบ้านและรากเป็นส่วนที่อยู่ใต้ดินซึ่งอาจจะผลิตสารสำคัญที่มีคุณสมบัติต้านจุลชีพที่อยู่ในดินเพื่อปกป้องไม่ให้รากของพืชได้รับอันตรายดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกส่วนรากของพืชทั้งสองชนิดเพื่อทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือ

- Quick Column Chromatography
- Column Chromatography
- Nuclear Magnetic Resonance spectrum (NMR) 400 MHz Bruker
- BUCHI Rotary evaporator
- FT-IR Spectrometor
- UV SPECCORD S100

3.1.2 สารเคมี

- Hexane (C_6H_{14})
- Dichloromethane (CH_2Cl_2)
- Ethylacetate (EtOAc)
- Acetone (CH_3COCH_3)
- Methanol (CH_3OH)
- Chloroform (CH_3Cl)
- Dueterochloroform (CD_3Cl)
- Acetone-d_6 (CD_3COCD_3)
- Siliga gel 60 (Merck)
- Siliga gel 100 (Merck)

3.2. พืชตัวอย่าง

รากมะขวิดจำนวน 4 กิโลกรัม เก็บจากจังหวัดพิษณุโลก เดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2553

รากมะสังจำนวน 7.54 กิโลกรัม เก็บจากจังหวัดหนองคาย เดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2553

3.3. การสกัดและการแยกสาร

3.3.1. การสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์จากรากมะขวิด

นำรากมะขวิด (4 kg) ที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ผึ่งลมให้แห้ง สกัดด้วยแอซิโตน 2 ครั้งๆละ 5 วันจากนั้นนำส่วนที่ได้จากการสกัดด้วยแอซิโตน มาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ได้ส่วนสกัดหยาบของแอซิโตน (43.5 g) นำส่วนสกัดหยาบแอซิโตนไปแยกต่อด้วย quick column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ โดยมี *n*-hexane และ EtOAc เป็นตัวชะในลักษณะเพิ่มขั้วขึ้นตามลำดับ ได้ 15 ส่วนย่อย (A-O)

ส่วนย่อย B (6.83 g) นำไปแยกต่อด้วย column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับและชะด้วย 5% EtOAc- *n*-hexane ได้ สาร **FL2** (320.4 mg)

ส่วนย่อย E (1.07 g) นำไปแยกต่อด้วย quick column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับและชะด้วย *n*-hexane และ EtOAc ในลักษณะเพิ่มขั้วขึ้นตามลำดับ ได้ 12 ส่วนย่อย E (E1-E12) และ

ส่วนย่อย E4 (115.5 mg) นำไปแยกต่อด้วย 10% EtOAc- *n*-hexane ได้ 3 ส่วนย่อย (E4.1-E4.3) โดยที่สาร **3** (13.0 mg) แยกได้จากส่วนย่อย E4.2 ด้วย column chromatography โดยใช้ 50% CH_2Cl_2-hexane เป็นตัวชะ

ส่วนย่อย E6 (210.0 mg) นำไปแยกต่อด้วย 20% $CHCl_3$- *n*-hexane ได้ 5 ส่วนย่อย (E6.1-E6.5) โดยที่สาร **FL1** (29.8 mg) แยกได้จากส่วนย่อย E6.4 (66.6 mg) ด้วย column chromatography โดยใช้ 30% acetone- *n*-hexane เป็นตัวชะ

ส่วนย่อย F (5.10 g) นำไปแยกต่อด้วย quick column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และโดยชะด้วย CH_2Cl_2 ได้ 6 ส่วนย่อย (F1-F6) และส่วนย่อย F2 (204.3 mg) นำไปแยกต่อด้วย CH_2Cl_2 ได้สาร **FL4** (5.5 mg)

ส่วนย่อย F1 (241.8 mg) นำไปแยกต่อด้วย 20% EtOAc- *n*-hexane ได้ 7 ส่วนย่อย (F1.1-F1.7) โดยสาร **FL5** (4.1 mg) แยกได้จากส่วนย่อย F1.5 (23.6 mg) ด้วย column chromatography โดยใช้ 50% $CHCl_3$- *n*-hexane เป็นตัวชะ

ส่วนย่อย F5 (1.2 g) นำไปแยกต่อด้วย quick column chromatography โดยใช้ 30% EtOAc-hexane เป็นตัวชะได้ 4 ส่วนย่อย (F5.1-F5.4) โดยสาร **FL7** (4.0 mg) แยกได้จากส่วนย่อย F5.4 (114.7 mg) ด้วย column chromatography โดยใช้ 5% acetone- *n*-hexane เป็นตัวชะ

ส่วนย่อย D (590.0) ตกผลึกด้วย hexane ได้ของแข็งสีเหลือง (459.3 mg) โดยนำไปแยกต่อด้วย column chromatography โดยใช้ 50% $CHCl_3$- *n*-hexane เป็นตัวชะ ได้สาร **FL6** (28.7 mg)

ทำการตกผลึกส่วนย่อย H (2.4 g) และI (3.5 g) ด้วย MeOH ได้สาร **FL8** (242.7 mg) และ **FL9** (15.7 mg) ตามลำดับ

3.3.2. การสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์จากรากมะสัง

นำรากมะสังแห้ง (7.54 kg) ที่หั่นแล้ว มาสกัดด้วย CH_2Cl_2 (dichloromethane) 3 ครั้งๆละ 3 วัน เมื่อระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ลดความดันได้ส่วนสกัดหยาบ CH_2Cl_2 (200.54 g) จากนั้นนำส่วนสกัดหยาบหยาบ CH_2Cl_2 ไปแยกต่อด้วย quick column chromatography ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ โดยมี hexane และ EtOAc เป็นตัวชะในลักษณะเพิ่มขั้วขึ้นตามลำดับ ได้ 22 ส่วนย่อย (A-V)

ส่วนย่อย F (4.98 g) เมื่อตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเกิดเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน ล้างของแข็งด้วย CH_2Cl_2 ได้สาร **FI9** (499.0 mg)

ส่วนย่อย G (15.82 g) นำไปแยกต่อด้วย QCC และชะด้วย 100% *n*-hexane ถึง 50% EtOAc-*n*-hexane ได้ 12 ส่วนย่อย (G1-G12) และเมื่อนำ ส่วนย่อย G4 (799.9 mg) ไปแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 10% EtOAc-*n*-hexane ได้สาร **5** (215.0 mg) **6** (13.2 mg) และ **FI11** (16.5 mg)

ส่วนย่อย G10 (1.05 g) นำมาแยกด้วย CC ในลักษณะที่คล้ายกับ ส่วนย่อย G4 แต่ชะด้วย 12% EtOAc-*n*-hexane ได้ 14 ส่วนย่อย (G10.1-G10.14) นำส่วนย่อย G10.5 (100.0 mg) มาแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 25% CH_2Cl_2- *n*-hexane ได้สาร **FI2** (4.0 mg) และ **FI7** (54.7 mg)

สำหรับสาร **FI1** (22.4 mg) **FI3** (2.5 mg) และ **FI4** (10.4 mg) แยกได้จาก ส่วนย่อย G10.14 (35.2 mg) G10.8 (6.0 mg) และ G10.12 (30.0 mg) โดยการล้างของแข็งด้วย *n*-hexane

ส่วนย่อย G10.11 (32.1 mg) นำไปแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 30% CH_2Cl_2- *n*-hexane ได้สารบริสุทธิ์ **FI17** (7.3 mg)

ส่วนย่อย G12 (1.60 g) นำมาแยกด้วย CC ในลักษณะที่คล้ายกับ ส่วนย่อย G10.11 แต่ชะด้วย 70% CH_2Cl_2- *n*-hexane ได้ 12 ส่วนย่อย (G12.1-G12.12) ส่วนย่อย G12.2 (34.0 mg) นำมาแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 18% EtOAc- *n*-hexane ได้สาร **FI13** (4.2 mg)

สาร **FI14** (4.0 mg) แยกได้จากส่วนย่อย G12.4 (51.7 mg) ด้วย CCและชะด้วย 38% EtOAc- *n*-hexane สำหรับ ส่วนย่อย G12.7 (20.0 mg) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเกิดเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน ล้างของแข็งด้วย *n*-hexane ได้สาร **FI15** (12.9 mg) ส่วนย่อย G12.12 (266.7 mg) นำไปแยกด้วย CC ในลักษณะเดียวกันกับ ส่วนย่อย G12.2 ได้สารบริสุทธิ์ **FI12** (141.7 mg)

ส่วนย่อย N (3.27 g) นำไปแยกต่อด้วย QCC และชะด้วย 20% EtOAc-*n*-hexane ได้ 5 ส่วนย่อย (N1-N5) และเมื่อนำ ส่วนย่อย N2 (160.0 mg) นำไปแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 2% acetone-CH_2Cl_2ได้สาร **FI10** (22.6 mg) และ **FI16** (13.6 mg) ส่วนย่อย N4 (266.9 mg) นำไปแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 2% EtOAc-CH_2Cl_2 ได้สาร **FI8** (34.4 mg)

ส่วนย่อย V (2.06 g) นำไปแยกต่อด้วย QCC และชะด้วย 5% EtOAc-*n*-hexane ได้ 3 ส่วนย่อย (V1-V3) และเมื่อนำส่วนย่อย V2 (44.5 mg) ไปแยกต่อด้วย CC และชะด้วย 40% CH_2Cl_2- *n*-hexane ได้สาร **FI18** (35.2 mg)

3.4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดำเนินการศึกษาวิจัยตามโครงการวิจัยนี้ ประกอบด้วยการศึกษาฤทธิ์ต้านวัณโรค มาลาเรีย และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ทั้งนี้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทุกชนิดตามที่จะได้รายงานต่อไป ขอรับบริการจากหน่วยปฏิบัติการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพกลาง ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ วิธีการทดสอบซึ่งดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

3.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรค

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรคใช้เทคนิค microtiter-plate alamar blue assay ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อมัยโคแบคทีเรีย (Collins and franzblau, 1997) โดยเฉพาะ *Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Ra$ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 7H9GC (0.1 mL; ปริมาณเชื้อในขั้นสุดท้าย 5 x 104 CFU/mL) สารตัวอย่างเพื่อทดสอบละลายใน 7H9GC (ใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายร่วม) และเจือจางครั้งละ2 เท่าด้วย 7H9CG เริ่มต้นจาก

200μg/mL บ่มเชื้อที่ 37 °C นาน4 วัน แล้วเติมสารละลาย 10% alamar blue (20μL) และ tween80 (20μL) บ่มเชื้อต่อที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง ติดตามการเปลี่ยนสีของสารละลายจากน้ำเงินเป็นชมพูเปรียบเทียบระหว่างสารละลายที่มีเชื้อและสารละลายที่ไม่มีเชื้อ และใช้ isoniazid, rifampicin และkanamycin เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) คือความเข้มข้นสุดท้ายที่สารละลายตัวอย่างยังคงสีน้ำเงิน หรือไม่เปลี่ยนเป็นสีชมพู

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

Plasmodium falciparum ถูกเลี้ยงในหลอดทดลองตามวิธีของ Trager และ Jensen (1976) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 160 ซึ่งประกอบไปด้วย *4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid* (HEPES) 20 mM , 32 mM $NaHCO_3$ และเลือดมนุษย์ที่มี 3% เม็ดเลือดแดง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในตู้ที่มี CO_2 3% เชื้อเพาะเลี้ยงจะถูกเจือจางด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อและเม็ดเลือดแดงใหม่ทุกวันตามการเจริญเติบโตของเซลล์การประเมินผลต้านมาลาเรียในหลอดทดลองจะใช้เทคนิค radioisotope microdilution ตามวิธีของ Desjardins (Desjardins et al., 1979) ตัวอย่างจะถูกละลายใน 1% DMSO สารมาตรฐานที่ใช้คือ dihydroartemisinin ซึ่งการทดลองจะวัดปริมาณ ^{3}H-hypoxanthine การรายงานผลความเข้มข้นของการยับยั้ง (IC_{50}) ในหน่วย μg/mL ซึ่งแสดงถึงความเข้มข้นที่บ่งชี้ว่าการเจริญเติบโตของปรสิตลดลง 50%

3.4.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย 3 cell lines คือ human epidermoid carcinoma of oral cavity (KB), breast adenocarcinoma (MCF-7) และ human small cell lung cancer (NCI-H187) โดยวิธีการทดลองของ O'Brien ซึ่งมีรายละเอียดโดยย่อดังนี้

นำเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้มาปรับจำนวนเซลล์เป็น 7 × 104 cells/mL สำหรับ KB cell line และ 9 × 104 cells/mL สำหรับ MCF-7 และ NCI-H187 cell lines แล้วเติม 45 μL ของเซลล์ลงไปใน 384-well plates ที่มีสารตัวอย่างอยู่ 5 μL (สารตัวอย่างละลายใน 5% DMSO) และเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มี 5% CO_2 อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 วันสำหรับ KB และ MCF-7 cell lines และ 5 วันสำหรับ NCI-H187 cell line เมื่อครบกำหนดเวลาเติมสารละลาย resazurin 12.5 μL (ความเข้มข้นที่ 62.5 μg/mL) ลงไปในแต่ละหลุมและเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง SpectraMax M5 multi-detection microplate reader ที่ช่วงคลื่น 530 นาโนเมตร และ 590 นาโนเมตร และหาเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้ง (% inhibition) จากสมการดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (FU_T/FU_C)] \times 100$$

โดยที่ FU_T และ FU_C คือ fluorescent unit ในสภาวะที่มีสารสกัดและไม่มีสารสกัดตามลำดับ และค่า IC_{50} สามารถคำนวณโดยการใช้ SOFTMax Pro software

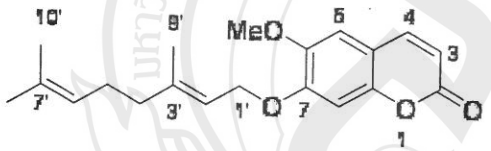
บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1. ผลการวิจัยตามวัตถุประสงค์

จากการแยกองค์ประกอบทางเคมีของรากมะขวิดสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้ว จำนวน 9 สารโดยเป็นสารประกอบคูมาริน 6 สารคือ 6-methoxy-7-geranyloxycoumarin (**FL1**), auraptene (**FL2**), osthol (**FL3**), osthenol (**FL4**), xanthyletin (**FL5**), isopimpinelin (**FL6**) สารประกอบควิโนโลนแอลคาร์ลอยด์ 1 สาร 1-methyl-4methoxy-2-quinolone (**FL7**) และสารประกอบไตรเทอร์พีน 2 สาร deacetylmeldenin (**FL8**) (21, 23*S*)-Epoxy-7α, 21, 24*S*, 25-tetrahydroxy-4α, 4*β*, 8*β*, 10*β* -tetramethyl-25-dimethyl-14, 18-cyclo-5α, 13α, 14α, 17α-cholestan-3*β*-*N*-methylanthranilic acid ester (**FL9**) โครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้วิเคราะห์โดยอาศัยข้อมูล 1D และ 2D NMR สเปกโทรสโกปี

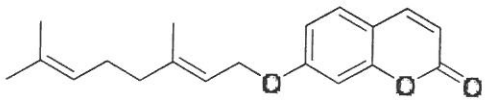
สารประกอบคูมาริน **FL1- FL6** แสดงลักษณะ ^{1}H NMR ของ α, β-unsaturated lactone ที่ประมาณ 6.2 (*d*, 9 Hz, H-3) และ 7.6 (*d*, 9 Hz, H-4) และสารประกอบคูมารินทุกสารมีความสัมพันธ์กันด้านโครงสร้างกล่าวคือคูมารินทุกสารมีลักษณะที่คล้ายกันคือที่ตำแหน่งที่ 7 ของคูมารินจะมีอะตอมของออกซิเจนเกาะอยู่ สารแต่ละตัวมีสัญญาณ ^{1}H NMR เป็นดังนี้

6-Methoxy-7-geranyloxycoumarin (FL1) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 1.58 (3H, s, H-9'), 1.64 (3H, s, H-8'), 1.76 (3H, s, H-10'), 2.10 (4H, m, H-4' and 5'), 3.89 (3H, s, 6-OCH_3), 4.68 (2H, d, J = 6.4, H-1'), 5.06 (1H, m, H-6'), 5.47 (1H, m, H-2'), 6.25 (1H, d, J = 9.6, H-3), 6.81 (1H, s, H-8), 6.85 (1H, s, H-5), 7.61 (1H, d, J = 9.6, H-4)



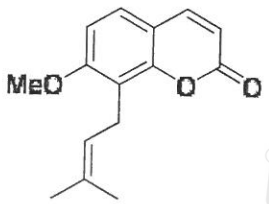
FL1

Auraptene (FL2) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 1.60 (3H, s, H-9'), 1.66 (3H, s, H-8'), 1.76 (3H, s, H-10'), 2.11 (4H, m, H-4' and 5'), 4.60 (2H, d, J = 6.4, H-1'), 5.05 (1H, m, H-6'), 5.47 (1H, m, H-2'), 6.25 (1H, d, J = 9.6, H-3), 6.81 (1H, d, J = 2.4, H-8), 6.85 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.4, H-6), 7.36 (1H, d, J = 8.4, H-5), 7.64 (1H, d, J = 6.9, H-4)



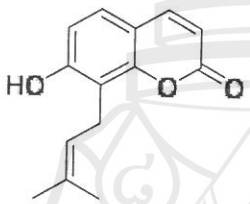
FL2

Osthol (FL3) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 1.67 (3H, s, H-4'), 1.84 (3H, s, H-5'), 3.54 (2H, d, J = 7.2, H-1'), 3.92 (3H, s, 7-OCH_3), 5.22 (1H, m, H-2'), 6.24 (1H, d, J = 9.6, H-3), 6.66 (1H, d, J = 8.4, H-6), 7.30 (1H, d, J = 8.4, H-5), 7.62 (1H, d, J = 6.9, H-4)



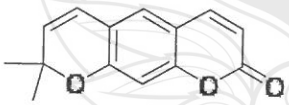
FL3

Osthenol (FL4 และ FI14) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 1.76 (3H, s, H-4'), 1.86 (3H, s, H-5'), 3.62 (2H, d, J = 7.2, H-1'), 5.28 (1H, m, H-2'), 6.16 (1H, br s, 7-OH), 6.24 (1H, d, J = 9.6, H-3), 6.75 (1H, d, J = 8.4, H-6), 7.23 (1H, d, J = 8.4, H-5), 7.63 (1H, d, J = 6.9, H-4)



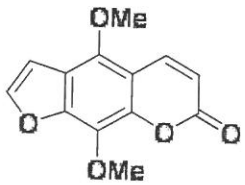
FL4

Xanthyletin (FL5 และ FI11) light viscous oil, ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 1.47 (6H, s, H-4' and 5'), 5.65 (1H, d, J = 10, H-2'),6.22 (1H, d, J = 9.6, H-3), 6.33 (1H, d, J = 10, H-1'), 6.72 (1H, s, CH, H-5), 7.04 (1H, s, H-8), 7.58 (1H, d, J = 6.9, H-4)



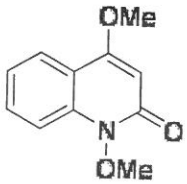
FL5 และ FI11

Isopimpinelin (FL6) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 4.16 (3H, s, 5-OCH_3), 4.18 (3H, s, 8-OCH_3), 6.28 (1H, d, J = 9.9, H-3), 7.01 (1H, d, J = 2.4, H-2'), 7.63 (1H, d, J = 2.4, H-3'), 8.12 (1H, d, J = 9.9, H-4)



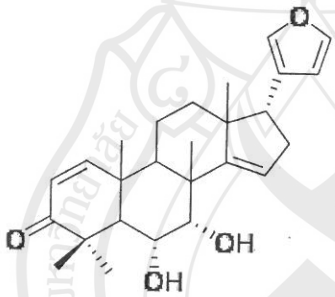
FL6

1-Methyl-4methoxy-2-quinolone (FL7) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 3.95 (3H, s, 4-OCH_3), 3.68 (3H, s, N-CH_3), 6.07 (1H, s, H-3), 7.24 (1H, dd, 8.0, 8.2 H-6), 7.34 (1H, d, J = 8.4, H-8), 7.59 (1H, dd, 8.2, 8.4, H-7), 7.97 (1H, d, J = 8.0, CH, H-5)



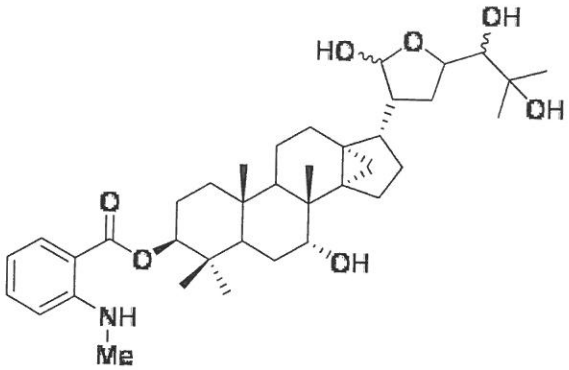
FL7

Deacetylmeldenin (FL8) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 7.58 (*s*, H-7), 7.44 (*s*, H-23), 7.43 (*s*, H-21), 6.58 (*d*, *J* = 12, H-1), 6.38 (*s*, H-22), 5.83 (*d*, *J* = 12, H-2), 5.58 (*s*, H-6), 4.19 (*d*, *J* = 3.2, H-15), 2.57 (*br t*, H-5), 2.84 (*m*, H-17), 2.80 (*m*, H-16), 1.97 (*m*, H-9), 1.78 (*m*, H-11), 1.55 (*m*, H-12), 1.46 (*s*, H-28), 1.42 (*s*, H-29), 1.33 (*s*, H-30), 1.25 (*s*, H-19), 1.08 (*s*, H-18)



FL8

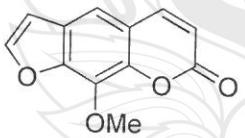
(21, 23*S*)-Epoxy-7α, 21, 24*S*, 25-tetrahydroxy-4α, 4β, 8β, 10β -tetramethyl-25-dimethyl-14, 18-cyclo-5α, 13α, 14α, 17α-cholestan-3β-*N*-methylanthranilic acid ester (FL9) ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm): 7.88 (*d*, *J* = 8.0, H-7′), 7.63 (*br s*, N<u>H</u>), 7.37 (*br t*, H-6′), 6.67 (*d*, *J* = 8.4, H-4′), 6.57 (*br t*, H-5′), 5.34 (*s*, H-21), 5.34 (*br d*, H-15), 4.71 (*br t*, H-3), 4.28 (*m*, H-23), 3.79 (*br s*, H-7), 3.57 (*m*, H-24), 2.91 (*s*, N<u>Me</u>), 2.15(*m*, H-20), 2.11 (*m*, H-16b), 1.98 (*m*, H-9), 1.88 (*m*, H-16a), 1.87 (*m*, H-2b), 1.75 (*m*, H-12b), 1.71 (*m*, H-2a), 1.71 (*m*, H-11b), 1.68 (*m*, H-22a), 1.68 (*m*, H-5), 1.58 (*m*, H-17), 1.58 (*m*, H-12a), 1.58 (*m* H-11a), 1.58 (*m*, H-6), 1.36 (*m*, H-1b), 1.36 (*m*, H-22b), 1.25 (*m*, H-1a), 1.23 (*s*, H-27), 1.19 (*s*, H-26), 1.07 (*s*, H-30), 1.01 (*s*, H-19), 0.96 (*s*, H-29), 0.91 (*s*, H-28), 0.72 (*m*, H-18b), 0.53 (*m*, H-18a)



FL9

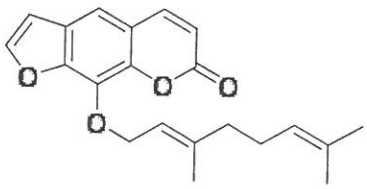
จากการแยกองค์ประกอบทางเคมีของรากมะสังสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้วจำนวน 18 สารดังนี้ xanthotoxin (**FI1**), 8-geranyloxypsolaren (**FI2**), psolaren (**FI3**), bergapten (**FI4**), isoimperatorin (**FI5**), bergamottin (**FI6**), anisolactone (**FI8**), 2",3"-dihydroxyanisolactone (**9**), marmisin (**FI10**), xanthyletin (**FI11**), demethylsuberosin (**FI12**), 8-geranyloxy-7-hydroxycoumarin (**FI13**), osthenol (**FI14**), *N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (**FI15**), terbamide (**FI16**), 6-acetonyldihydrochelelerythrine (**FI17**) and 8-acetonyldihydronitidine (**FI18**) โดยเป็นสารใหม่ 1 สารคือ lucidafuranocoumarin A (**7**) โครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้วิเคราะห์โดยอาศัยข้อมูล 1D และ 2D NMR สเปกโทรสโกปี สารแต่ละตัวมีลักษณะของ ^{1}H NMR ดังนี้

Xanthotoxin (FI1): m.p. 145-146 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.69 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.77 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.35 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.37 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 4.30 (3H, 8-O*Me*). δ_C ($CDCl_3$, 100 MHz): 160.5 (C-1), 147.7 (C-7), 146.6 (C-2'), 144.3 (C-4), 143.0 (C-8a), 132.8 (C-8), 126.1 (C-6), 116.5 (C-4a), 114.7 (C-3), 112.9 (C-5), 106.7 (C-3'), 61.3 (8-O*Me*)



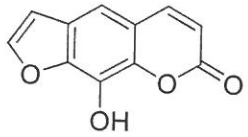
FI1

8-Geranyloxypsolaren (FI2): δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.77 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.69 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.36 (1H, s, H-5), 6.81 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.37 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.60 (1H, m, H-2"), 5.01 (1H, m, H-6"), 5.00 (2H, br t, J = 6.4 Hz, H-1"), 2.01 (4H, m, H-4" and H-5"), 1.69 (3H, s, H-9"), 1.64 (3H, s, H-10"), 1.59 (3H, s, H-8")



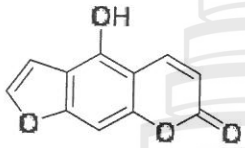
FI2

Psolaren (FI3): m.p. 154-155 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.70 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.81 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.69 (1H, s, H-5), 7.48 (1H, s, H-8), 6.84 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 6.39 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3)



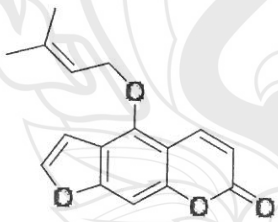
FI3

Bergapten (FI4): m.p. 188-190 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 8.15 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-4), 7.59 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.12 (1H, s, H-8), 7.02 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.27 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-3), 4.27 (3H, 5-O*Me*)



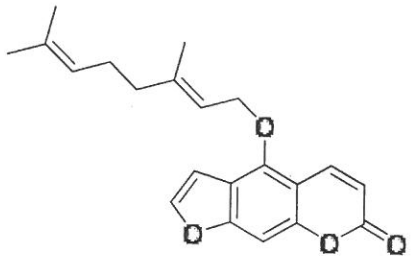
FI4

Isoimperatorin (FI5): m.p. 103-104 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400MHz): 8.15 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.59 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.14 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.26 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.53 (1H, m, H-2"), 4.92 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-1"), 1.80 (3H, H-5), 1.70 (3H, H-4). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 161.3(C-1), 158.1 (C-7), 152.6 (C-8a), 148.9 (C-5), 144.8 (C-2'), 139.8 (C-3'), 139.6 (C-4), 119.0 (C-2'), 114.1 (C-6), 112.5 (C-3), 107.4 (C-4a), 105.0 (C-3"), 94.1 (C-8), 69.7 (C-1"), 25.8 (C-5"), 18.2 (C-4")



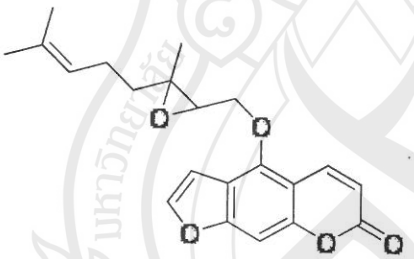
FI5

Bergamottin (FI6): δ_H ($CDCl_3$, 400MHz): 8.16 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.60 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.15 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.27 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.53 (1H, br t, J = 6.8 Hz, H-2"), 4.95 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1"), 2.10 (4H, m, H-4" and H-5"), 1.69 (3H, s, H-10"), 1.68 (3H, s, H-8"), 1.60 (3H, s, H-9")



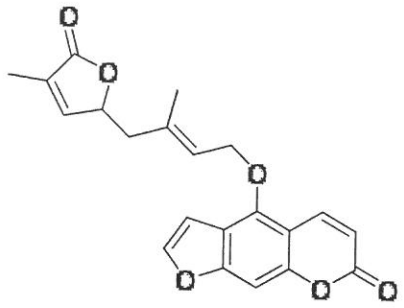
FI7

Lucidafuranocoumarin A (FI7): $[\alpha]_D^{25}$ -76 (*c* 0.053, $CHCl_3$). UV λ_{max} (log ε) (MeOH) nm: 306 (4.16), 266 (4.21), 259 (4.24), 249 (4.33), 219 (4.40), 202 (4.39). IR (neat) ν_{max}: 2967, 2926, 1732, 1625 cm^{-1}. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 8.20 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.61 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.17 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-3'), 6.29 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 5.10 (1H, br t, *J* = 7.2 Hz, H-6''), 4.61 (1H, dd, *J* = 10.8, 4.0 Hz, H-1''a), 4.44 (1H, dd, *J* = 10.8, 6.8 Hz, H-1''b), 3.24 (1H, br t, *J* = 6.4 Hz, H-2''), 2.10 (2H, m, H-5''), 1.75 (1H, m, H-4''a), 1.50 (1H, m, H-4''b), 1.69 (3H, s, H-10''), 1.62 (3H, s, H-8''), 1.33 (3H, s, H-9''). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 161.0 (C-1), 158.0 (C-7), 152.5 (C-8a), 148.3 (C-5), 145.2 (C-2'), 139.0 (C-4), 132.4 (C-7''), 123.0 (C-6''), 114.0 (C-6), 113.0 (C-3), 107.3 (C-4a), 104.5 (C-3'), 94.7 (C-8), 72.2 (C-1''), 60.7 (C-3''), 60.3 (C-2''), 38.2 (C-4''), 25.6 (C-10''), 23.6 (C-5''), 17.6 (C-8''), 16.9 (C-9''). ESI-TOF-MS: *m/z* 355.1531 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{21}H_{23}O_5$, 355.1545)



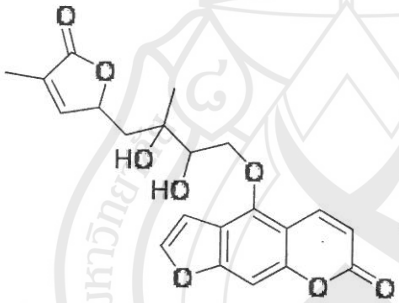
FI7

Anisolactone (FI8): m.p. 157-158 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400MHz): 8.16 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.61 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.14 (1H, s, H-8), 7.00 (1H, m, H-6''), 6.95 (1H, br s, H-3'), 6.28 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 5.68 (1H, br t, *J* = 6.4 Hz, H-2''), 5.01 (1H, m, H-5''), 4.97 (2H, m, H-1''), 2.47 (1H, m, H-4''a), 2.35 (1H, m, H-4''b), 1.92 (3H, s, H-10''), 1.79 (3H, s, H-9''). δ_C ($CDCl_3$, 100 MHz): 171.8 (C-8''), 161.1 (C-2), 158.0 (C-7), 152.6 (C-8a), 148.6 (C-5), 148.0 (C-6''), 145.1 (C-2'), 139.3 (C-4), 136.8 (C-3''), 130.4 (C-7''), 123.2 (C-2''), 114.0 (C-6), 112.7 (C-3), 107.4 (C-4a), 104.9 (C-3'), 94.3 (C-8), 77.2 (C-5''), 69.2 (C-1''), 43.2 (C-4''), 17.3 (C-9''), 10.6 (C-10'')



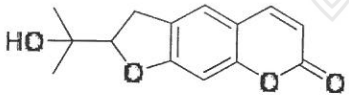
FI8

2'',3''-Dihydroxyanisolactone (FI9): m.p. 177-178 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400MHz): 8.28 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.63 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.21 (1H, s, H-8), 7.08 (1H, m, H-6''), 6.97 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.34 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.09 (1H, m, H-5''), 4.68 (1H, dd, J = 10.8, 4.4 Hz, H-1''a), 4.49 (1H, dd, J = 10.8, 6.8 Hz, H-1''b), 3.29 (1H, dd, J = 6.8, 4.4 Hz, H-2''), 2.06 (1H, dd, J = 14.4, 4.4 Hz, H-4''a), 1.94 (3H, t, J = 1.6 Hz, H-10''), 1.66 (1H, dd, J = 14.4, 10.4 Hz, H-4''b), 1.49 (3H, s, H-9''). δ_C ($CDCl_3$, 100 MHz): 173.6 (C-8''), 161.1 (C-2), 158.0 (C-7), 152.5 (C-8a), 148.2 (C-5), 148.1 (C-6''), 145.4 (C-2'), 139.1 (C-4), 130.3 (C-7''), 113.9 (C-6), 113.2 (C-3), 107.3 (C-4a), 104.4 (C-3'), 94.8 (C-8), 77.9 (C-5''), 71.6 (C-1''), 61.4 (C-2''), 58.4 (C-3''), 43.0 (C-4''), 16.8 (C-10''), 10.6 (C-9'')



FI9

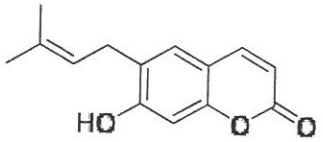
Marmisin (FI10): m.p. 143-145 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.58 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-4), 7.21 (1H, s, H-4), 6.71 (1H, s, H-4), 6.19 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-3), 4.73 (1H, t, J = 2.2 Hz, H-2'), 3.27 (1H, m, H-3'), 1.37 (3H, s, H-3''), 1.23 (3H, s, H-2''). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 163.1 (C-7), 161.4 (C-2), 155.6 (C-8a), 143.7 (C-4), 125.0 (C-6),123.4 (C-5), 112.7 (C-4a), 112.3 (C-3), 97.9 (C-8), 91.9 (C-2'), 71.6 (C-1''), 29.5 (C-3'), 26.1 (C-3''), 24.2 (C-2'')



FI10

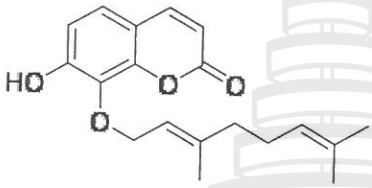
Demethyl suberosin (FI12): m.p. 123-124 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 8.09 (1H, br s, 7-O*H*), 7.67 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-4), 6.23 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-3), 7.19 (1H, s, H-5), 7.09 (1H, s, H-8), 5.33 (1H, br t, J = 3.2 Hz, H-2'), 3.36 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1'), 1.77 (3H, s, H-5'), 1.72 (3H, s, H-4'). δ_C ($CDCl_3$,

100MHz): 162.9 (C-2), 158.9 (C-7), 154.0 (C-8a), 144.7 (C-4), 134.4 (C-3'), 128.1 (C-5), 126.3 (C-6), 121.1 (C-2'), 112.0 (C-4a), 111.7 (C-3), 102.9 (C-8), 28.1 (C-1'), 25.8 (C-5'), 17.8 (C-4')



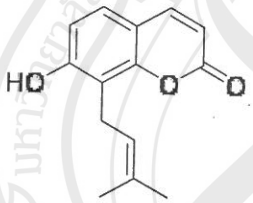
FI12

8-Geranyloxy-7-hydroxycoumarin (FI13): δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.64 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.25 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.81 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.25 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.28 (1H, m, H-2'), 5.05 (1H, m, H-6'), 3.64 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1'), 2.09 (4H, m, H-4' and H-5'), 1.85 (3H, s, H-9'), 1.64 (3H, s, H-10'), 1.59 (3H, s, H-8')



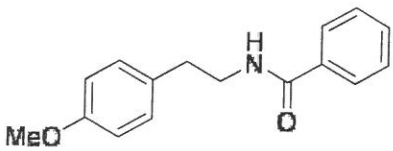
FI13

Osthenol (FI14): δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.64 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.24 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.81 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.25 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.28 (1H, m, H-2'), 3.62 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 1.86 (3H, s, H-5'), 1.76 (3H, s, H-4')



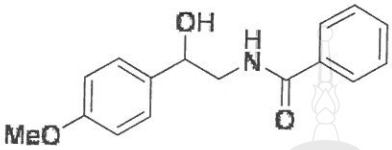
FI14

***N*-(4-Methoxyphenyl)benzamide (FI15)**: m.p. 119-120 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.68 (2H, d, , J = 8.8 Hz, H-12 and H-16), 7.47 (1H, m, H-14), 7.39 (2H, m, H-13 and H-15), 7.15 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2 and H-6), 6.86 (2H, d, J = 8.4 Hz, , H-3 and H-5), 6.20 (1H, br s, N*H*), 3.79 (3H, s, 4-O*Me*), 3.68 (2H, dd, J = 6.8, 6.0 Hz, H-8), 2.87 (2H, dd, J = 7.2, 6.8 Hz, H-7). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 167.4 (C-10), 158.3 (C-4), 134.7 (C-11), 131.3 (C-14), 130.8 (C-1), 129.7x2 (C-2 and C-6), 128.5x2 (C-13 and C-15), 126.8x2 (C-12 and C-16), 114.1x2 (C-3 and C-5), 55.2 (4-O*Me*), 41.3 (C-8), 34.7 (C-7)



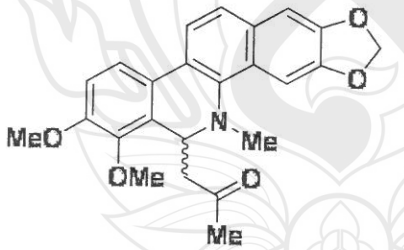
FI15

Tembamide (FI16): m.p. 120-121 °C. δ_H (acetone-d_{63}, 400 MHz): 7.89 (2H, d, , J = 8.0 Hz, H-12 and H-16), 7.52 (1H, m, H-14), 7.45 (2H, m, H-13 and H-15), 7.35 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2 and H-6), 6.90 (2H, d, J = 9.2 Hz, , H-3 and H-5), 7.88 (1H, br s, N*H*), 3.77 (3H, s, 4-O*Me*), 4.88 (1H, m, H-7), 3.68 (1H, m, H-8a), 3.49 (1H, m, H-8b). δ_C (acetone-d_{63}, 100 MHz): 167.2 (C-10), 159.0 (C-4), 135.4(C-1), 134.8 (C-11), 131.1 (C-14), 128.2x2 (C-13 and C-15), 127.1x2 (C-12 and C-16), 127.0x2 (C-2 and C-6), 113.4x2 (C-3 and C-5), 72.8 (C-7), 54.5 (4-O*Me*), 48.2(C-8)



FI16

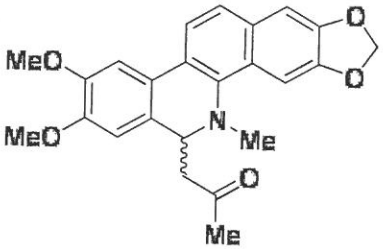
6-Acetonyldihydrochelerythrine (FI17): m.p. 191-192 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.72 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 7.55 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-10), 7.51 (1H, s, H-4), 7.48 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-12), 7.10 (1H, s, H-1), 6.96 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-9), 6.04 (2H, d, J = 0.8 Hz, -OCH_2O-), 5.04 (1H, dd, J = 10.8, 4.0 Hz, H-6), 3.95 (3H, s, 7-O*Me*), 3.92 (3H, s, 8-OMe), 2.62 (3H, s, 5-NMe), 2.25 (2H, dd, J = 13.8, 3.6 Hz, 6-CH_2C(=O)Me), 2.06 (3H, s, 6-CH_2C(=O)*Me*). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 207.4 (6-CH_2*C*(=O)Me), 152.1 (C-8), 148.1 (C-2), 147.5 (C-3), 145.5 (C-7), 139.0 (C-4b), 131.0 (C-12a), 128.1 (C-10a), 127.3 (C-4a), 124.7 (C-6a), 123.9 (C-12), 123.7 (C-10b), 119.7 (C-11), 118.8 (C-10), 111.5 (C-9), 104.3 (C-1), 101.0 (-O*C*H_2O-), 100.6 (C-4), 61.0 (7-O*Me*), 55.8 (8-O*Me*), 54.9 (C-6), 46.8 (6-*C*H_2C(=O)Me), 42.8 (5-N*Me*), 31.1 (6-*C*H_2C(=O)*Me*)



FI17

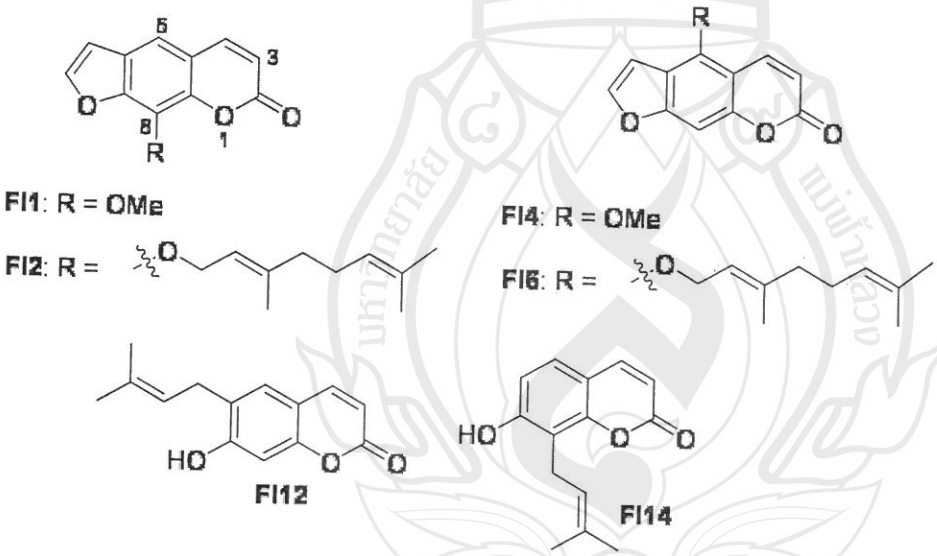
8-Acetonyldihydronitidine (FI18): m.p. 162-163 °C. δ_H ($CDCl_3$, 400 MHz): 7.51 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-10), 7.71 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-9), 6.85 (1H, s, H-1), 7.32 (1H, s, H-4), 7.12 (1H, s, H-11), 7.56 (1H, s, H-14), 6.05 (2H, d, J = 2.4 Hz, -OCH_2O-), 4.55 (1H, dd, J = 8.4, 6.6 Hz, H-8), 3.99 (3H, s, 3-O*Me*), 3.94 (3H, s, 2-OMe), 2.61 (3H, s, 7-NMe), 2.33 (1H, dd, J = 16.0, 5.6 Hz, 8-CH_2C(=O)Me), 2.69 (1H, dd, J = 16.0, 8.8 Hz, 8-CH_2C(=O)Me), 1.98 (3H, s, 8-CH_2C(=O)*Me*). δ_C ($CDCl_3$, 100MHz): 208.0 (8-CH_2*C*(=O)Me), 149.0 (C-2), 148.6 (C-12), 148.2 (C-3), 147.5 (C-13), 139.6 (C-6), 130.9 (C-10a), 127.3 (C-14a), 123.8 (C-10), 123.4 (C-5), 123.3 (C-4a), 119.6 (C-9), 110.3 (C-1), 106.4 (C-4), 104.3 (C-11),

101.0 (-OCH_2O-), 100.5 (C-14), 60.0 (C-8), 56.1 (3-O*Me*), 56.0 (2-O*Me*), 48.4 (8-CH_2C(=O)Me), 42.4 (7-N*Me*), 31.5 (8-CH_2C(=O)*Me*)

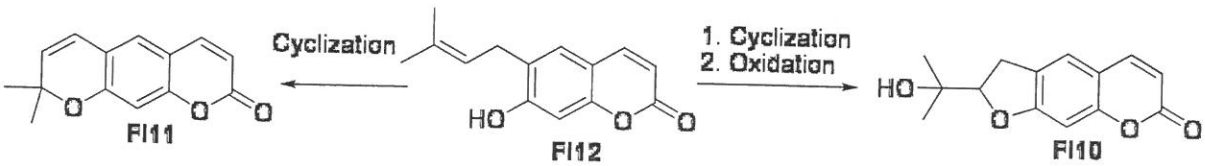


FI18

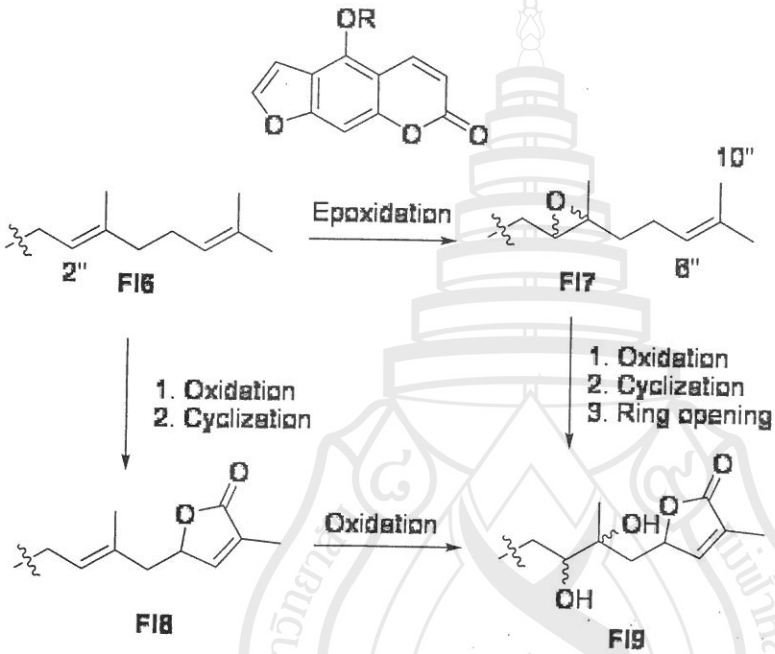
จากโครงสร้างของสารประกอบที่แยกได้จากต้นมะสังพบว่าคูมารินที่แยกได้ทั้งหมดจะมีอะตอมของออกซิเจนเกาะอยู่ที่ตำแหน่งที่ 7 เช่นเดียวกับคูมารินที่แยกได้จากต้นมะขวิดจากข้อมูลนี้แสดงว่าทั้งมะขวิดและมะสังเป็นพืชที่มีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกัน และนอกจากนี้ยังพบว่าคูมารินที่แยกได้จากรากมะสังมี 3 คู่ที่เป็นไอโซเมอร์แบบโครงสร้างกันคือ สาร **FI1** และ **FI4**, **FI2** และ **FI6**, **FI12** และ **FI14** ดังแสดง



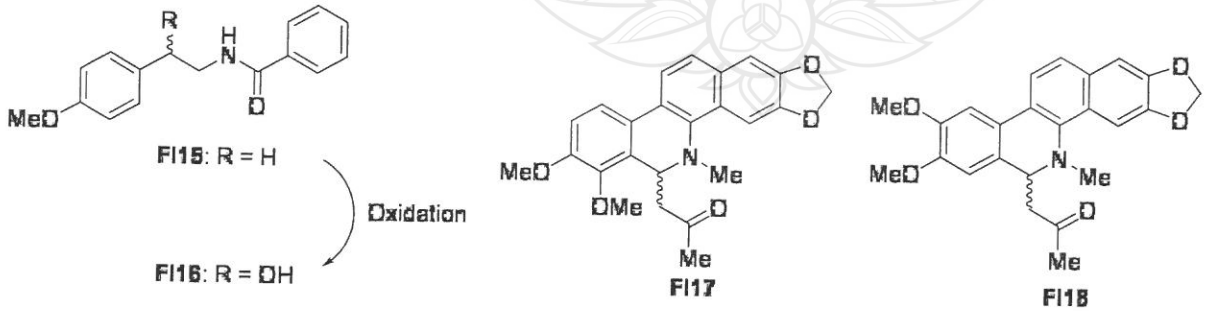
นอกจากนี้ยังพบว่าสารสาร **FI12** เป็นสารต้นตอของ สาร **FI10** และ **FI11** กล่าวคือเมื่อสาร **FI12** ปิดวงแหวนแบบหกเหลี่ยมระหว่าง OH กับ isoprenyl จะได้สาร **FI11** แต่ถ้าปิดวงแหวนแบบห้าเหลี่ยมแล้วตามด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันจะได้สาร **FI10** ดังแสดงในสมการ



ความสัมพันธ์ทางวิถีชีวสังเคราะห์ของ side chain ของสาร **FI6-FI9** เป็นดังนี้ สาร **FI6** เป็นสารต้นตอของสาร **FI7-FI9** โดยเมื่อ ตำแหน่งที่ 2″ และ 3″ เกิดเอป็อกซิเดชันจะได้สารประกอบ **FI7** ซึ่งสารตัวนี้เมื่อทำปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตำแหน่งที่ 5″ และ 10″ ตามด้วยปฏิกิริยาการปิดวงแหวนและการเปิดวงแหวนเอป็อกไซด์จะได้สาร **FI9** ในอีกแนวทางหนึ่ง ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตำแหน่งที่ 5″ และ 10″ ตามด้วยปฏิกิริยาการปิดวงแหวนของสาร **FI6** จะได้สาร **FI8** ซึ่งสารตัวนี้เมื่อทำปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตำแหน่ง 2″ และ 3″จะได้สาร **FI9** ดังแสดงในสมการ



สำหรับแอลคาลอดย์ที่แยกได้จากต้นมะสังมีทั้งหมด 4 สาร โดยสาร **FI17** และ **FI18** เป็นไอโซเมอร์แบบโครงสร้างซึ่งกันและกันสำหรับสาร **FI15** นั้นเป็นสารต้นตอของสาร **FI16** กล่าวคือสาร **FI16** ได้จากการออกซิเดชันของสาร **FI15** ที่ตำแหน่ง benzyllic



ส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์บางสารได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งดังแสดงในตารางที่ 1 ส่วนสกัดหยาบจากรากมะขวิดแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง MCF7 และ NCI-H187 ในระดับปานกลางโดยมีค่า IC_{50}

เท่ากับ 17.01 และ18.60 μg/ml ตามลำดับ และไม่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง KB สำหรับส่วนสกัดหยาบมะสัง พบว่าแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง MCF7 ในระดับที่ดีมากโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 μg/ml สำหรับฤทธิ์ ต้านมะเร็ง KB และ NCI-H187 อยู่ในระดับปานกลางโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.81 และ24.70 μg/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ **FL8, FL9, FI1**, **FI3-FI9**, **FI11, FI12** และ **FI15- FI18**

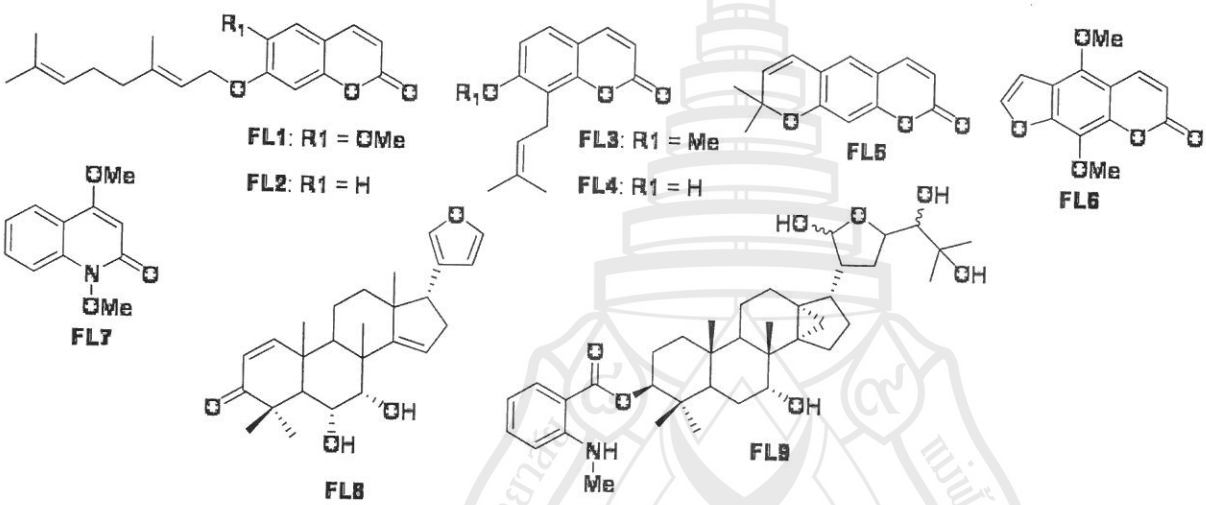
สาร	เซลล์มะเร็ง (IC_{50}, μg/ml)		
	KB	MCF7	NCI-H187
Crude FL	Inactive	17.01	18.60
Crude FI	20.81	2.28	24.70
FL8	Inactive	Inactive	Inactive
FL9	13.67	7.63	7.45
FI1	Inactive	Inactive	Inactive
FI3	Inactive	Inactive	Inactive
FI4	Inactive	Inactive	Inactive
FI5	Inactive	Inactive	Inactive
FI6	27.35	Inactive	8.40
FI7	25.58	Inactive	10.06
FI8	Inactive	Inactive	29.30
FI9	Inactive	Inactive	Inactive
FI11	17.97	44.05	18.57
FI12	30.54	27.26	17.41
FI15	Inactive	Inactive	Inactive
FI16	Inactive	Inactive	Inactive
FI17	Inactive	5.10	29.14
FI18	0.637	4.48	0.094

สำหรับสารบริสุทธิ์ 16 สารคือ **FL8, FL9, FI1, FI3-FI9, FI11, FI12 และ FI15- FI18** ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเช่นกันโดยพบว่าสาร **FL8**, **FI1**, **FI3-FI5**, **FI9**, **FI15- FI16** ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ สาร **FL9** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ในระดับปานกลาง โดยมีค่า IC_{50}

เท่ากับ 13.67 (KB) 7.63 (MCF7) และ7.45 (NCI-H187) μg/ml สาร **FI6** และ **FI7** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งสองเซลล์คือ KB และ NCI-H187 ในระดับปานกลาง โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 8.40-27.35 μg/ml สาร **FI8** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในระดับต่ำเพียงเซลล์เดียวคือ NCI-H187 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 29.30 μg/ml สาร **FI11** และ **FI12** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ในระดับปานกลางถึงระดับต่ำโดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 17.41-44.05 μg/ml สาร **FI17** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งสองเซลล์คือ MCF7 (IC_{50} เท่ากับ 5.10 μg/ml) และ NCI-H187 (IC_{50} เท่ากับ 29.14 μg/ml) สาร **FI18** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ในระดับดีมาก โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.637 (KB) 4.48 (MCF7) และ0.094 μg/ml (NCI-H187) นอกจากนี้แล้วสารสาร **FI18** ยังแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ในระดับดีมากโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.336 μg/ml และแสดงฤทธิ์ต้าน เชื้อก่อโรควัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) ในระดับดีโดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25μg/ml

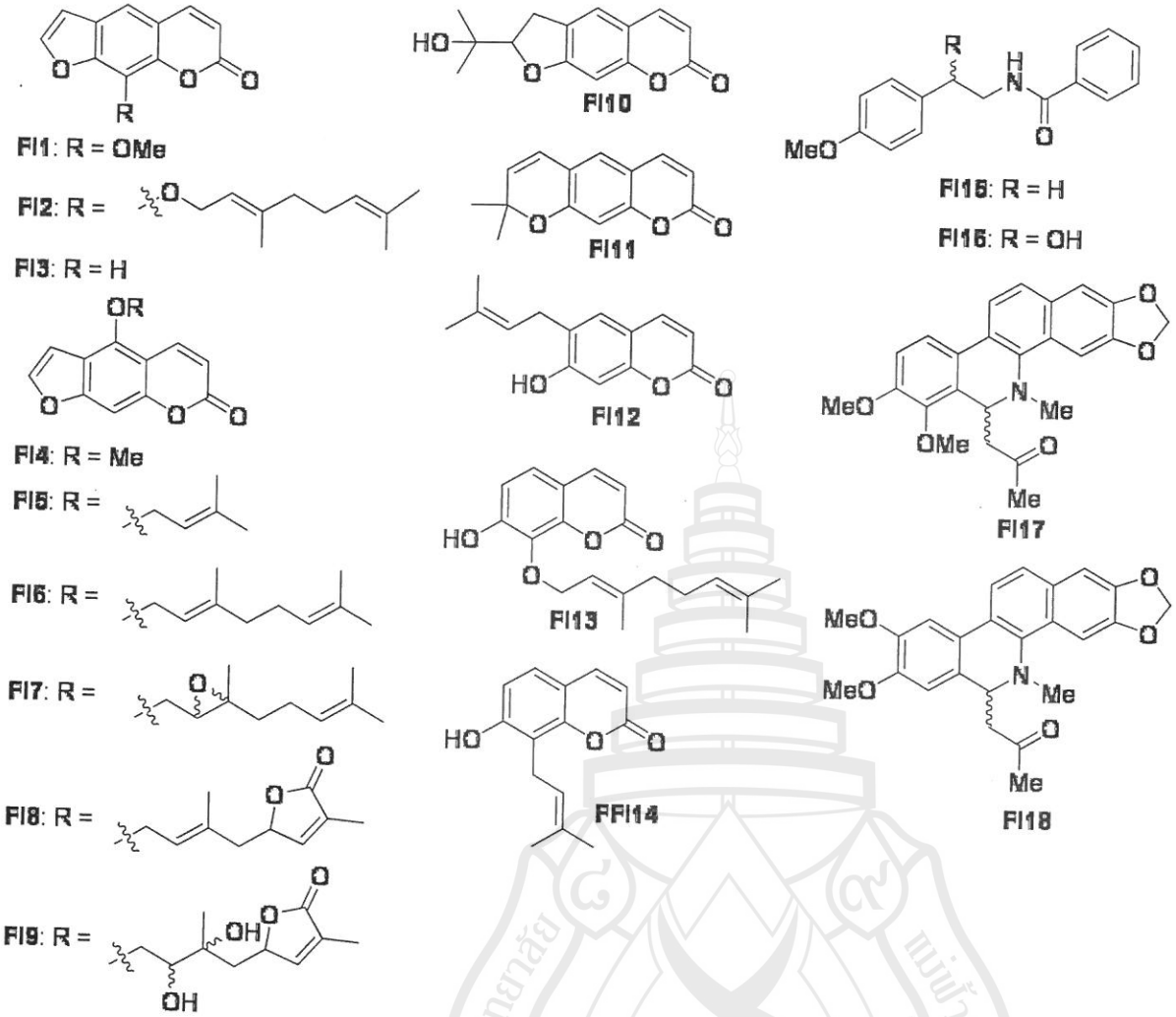
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะขวิดสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้ว จำนวน 9 สารคือ 6-methoxy-7-geranyloxycoumarin (**FL1**), auraptene (**FL2**), osthol (**FL3**), osthenol (**FL4**), xanthyletin (**FL5**), isopimpinelin (**FL6**) สารประกอบควิโนโลนแอลคาร์ลอยด์ 1 สาร 1-methyl-4methoxy-2-quinolone (**FL7**) และสารประกอบไตรเทอร์พีน 2 สาร deacetylmeldenin (**FL8**) (21, 23*S*)-Epoxy-7α, 21, 24*S*, 25-tetrahydroxy-4α, 4β, 8β, 10β -tetramethyl-25-dimethyl-14, 18-cyclo-5α, 13α, 14α, 17α-cholestan-3β-*N*-methylanthranilic acid ester (**FL9**) โดยสาร **FL1**, **FL3**, **FL5** และ **FL7- FL9** เป็นการค้นพบครั้งแรกจากต้นมะขวิด



จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากมะสังสามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่มีการรายงานแล้ว จำนวน 17 สารคือ xanthotoxin (**FI1**), 8-geranyloxypsolaren (**FI2**), psolaren (**FI3**), bergapten (**FI4**), isoimperatorin (**FI5**), bergamottin (**FI6**), anisolactone (**FI8**), 2",3"-dihydroxyanisolactone (**9**), marmisin (**FI10**), xanthyletin (**FI11**), demethylsuberosin (**FI12**), 8-geranyloxy-7-hydroxycoumarin (**FI13**), osthenol (**FI14**), *N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (**FI15**), terbamide (**FI16**), 6-acetonyldihydrochelelerythrine (**FI17**) and 8-acetonyldihydronitidine (**FI18**) โดยเป็นสารใหม่ 1 สารคือ lucidafuranocoumarin A (**7**)

สาร **FI18** แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสามเซลล์ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.637 (KB) 4.48 (MCF-7) และ0.094 μg/ml (NCI-H187) นอกจากนี้แล้วสารสาร **FI18** ยังแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ในระดับดีมากโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.336 μg/ml และแสดงฤทธิ์ต้าน เชื้อก่อโรควัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) ในระดับดีโดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25μg/ml



ปัญหา อุปสรรคในการทำวิจัย

1. มหาวิทยาลัยไม่มีเครื่องระดับสูงในการทำงานวิจัย อันได้แก่ NMR, HPLC และ High resolution MS จึงทำให้เกิดความล่าช้าในการวิเคราะห์โครงสร้าง และทำให้การดำเนินงานวิจัยเป็นไปอย่างไม่ต่อเนื่อง

2. ไม่มีหน่วยงานในมหาวิทยาลัยที่ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่น ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ต้านมะเร็ง และต้าน HIV เป็นต้น ซึ่งทำให้ต้องส่งสารบริสุทธิ์ไปทดสอบยังหน่วยงานนอกมหาวิทยาลัยซึ่งต้องรอผลการทดสอบนานกว่า 4 เดือน

การนำไปใช้ประโยชน์ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

8-acetonyldihydronitidine (**FI18**) แยกได้จากต้นมะสังแสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (KB, MCF-7 และ NCI-H187) ในหลอดทดลอง ต้านมาลาเรียและต้านเชื้อก่อโรควัณโรคในระดับดีถึงดีมาก ดังนั้นสารตัวนี้อาจเป็นประโยชน์ในการวิจัยเชิงลึกด้านเคมีและเภสัชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Adikaram N. K. B., Abhayawardhane Y., Bandara B. M. R., Gunatilaka A. A. L. and Wijeratne E. M. K. *Plant Pathology* **1989**, *38*, 258-265.

Collins, L. A. and Franzblau, S. G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 1004-1009.

Desjardins, R. E., Canfield, C. J., Haynes, J. D., and Chulay, J. D. *Antimicrob. Agents Chemother.***1979**, *16*, 710-718.

J. O'Brien, I. Wilson, T. Orton, and F. Pognan, *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5421-5421.

Phuwapraisirisan, P., Phoopichayanun, C., Supudompol, B. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49*, 3133-3136.

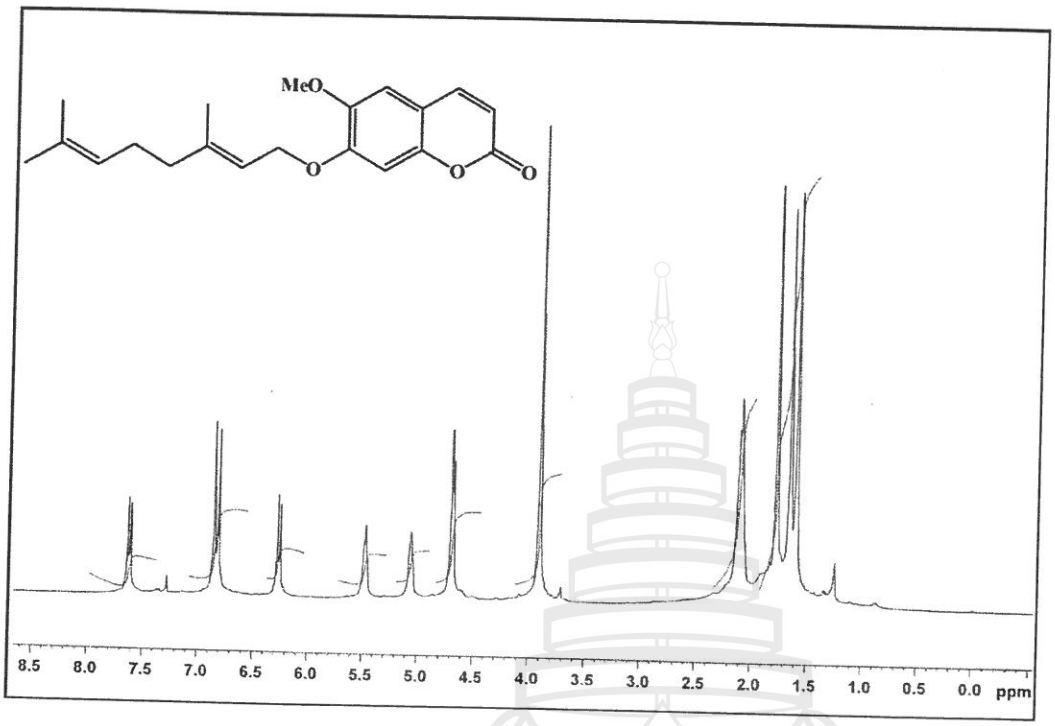
Phuwapraisirisan, P., Surapinit, S., Sombund, S., Siripong, P. and Tip-pyang, S. *Tetrahedron Letter*, **2006**, *47*, 3685-3688.

Phuwapraisirisan, P., Surapinit, S., Siripong, P., Tip-pyang, S. and Kokpol, U. *Tetrahedron Letter*, **2007**, *48*, 527-530.

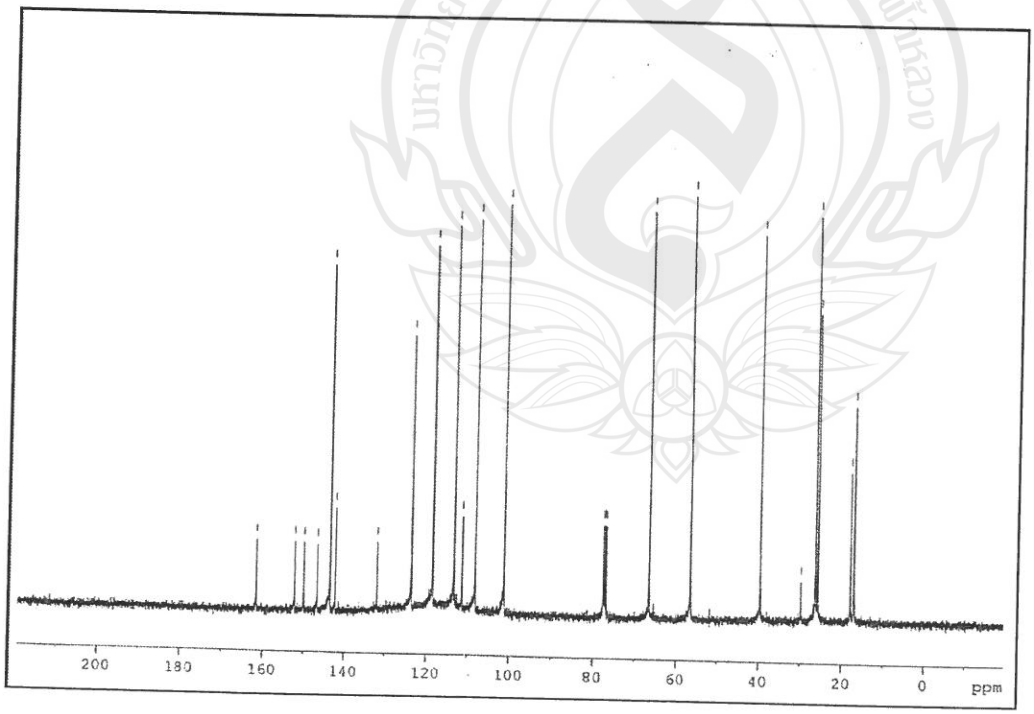
Phuwapraisirisan, P., Surapinit, S., Jeenapongsa, S., Tip-pyang, S and Kokpol, U. *Phytotherapy Research*, **2007**, *21*, 485-487.

Trager, W. and Jensen, J. B., *Science,* **1976**, *193*, 673-675.

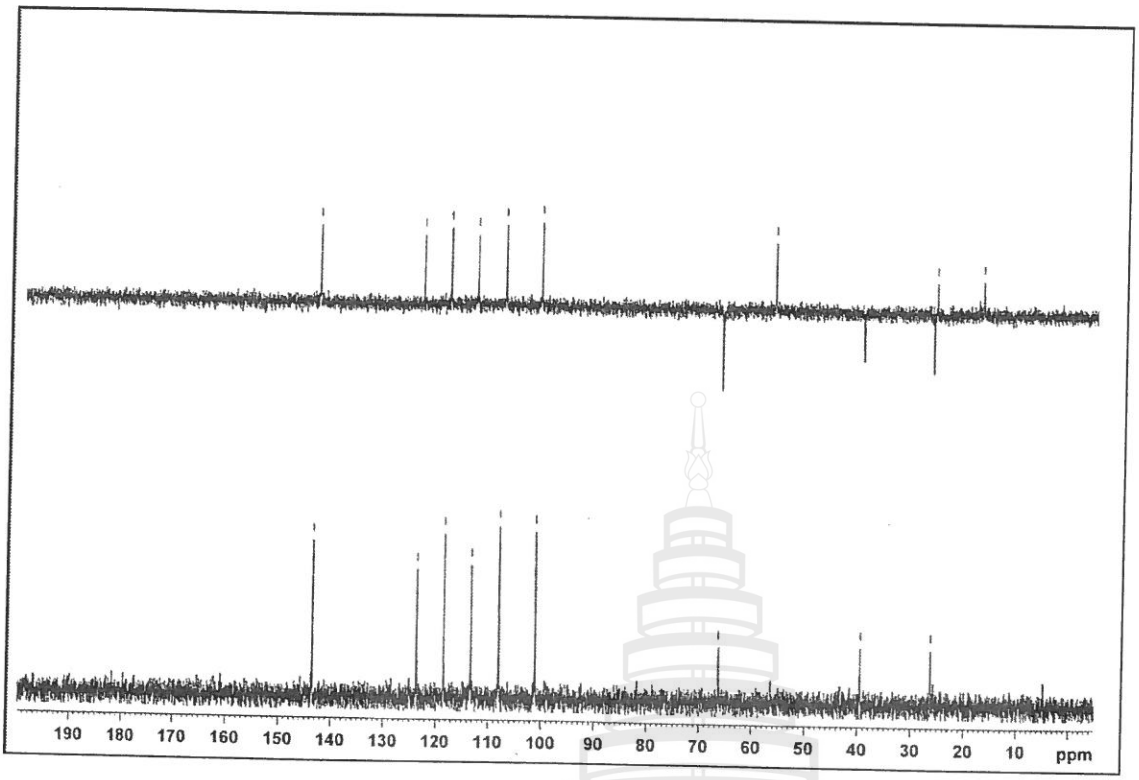
ภาคผนวก (Appendix)



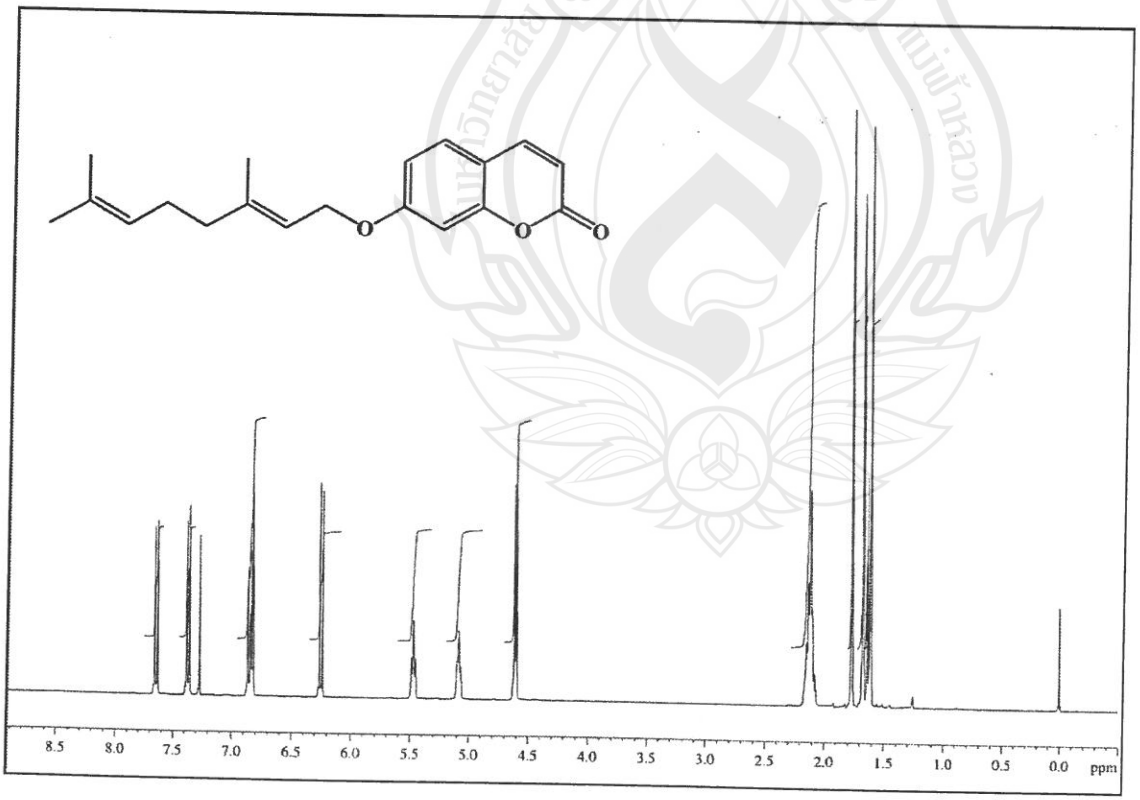
ภาพประกอบที่ 1 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL1** (400 MHz, $CDCl_3$)



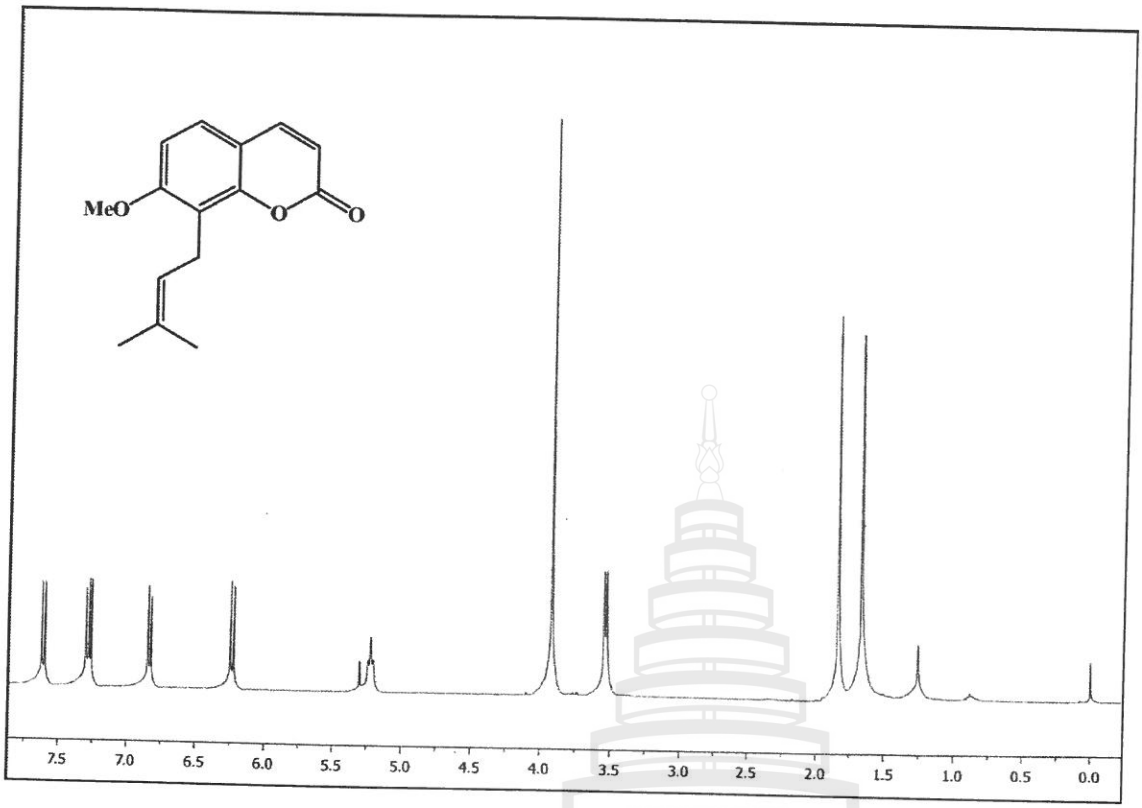
ภาพประกอบที่ 2 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL1** (100 MHz, $CDCl_3$)



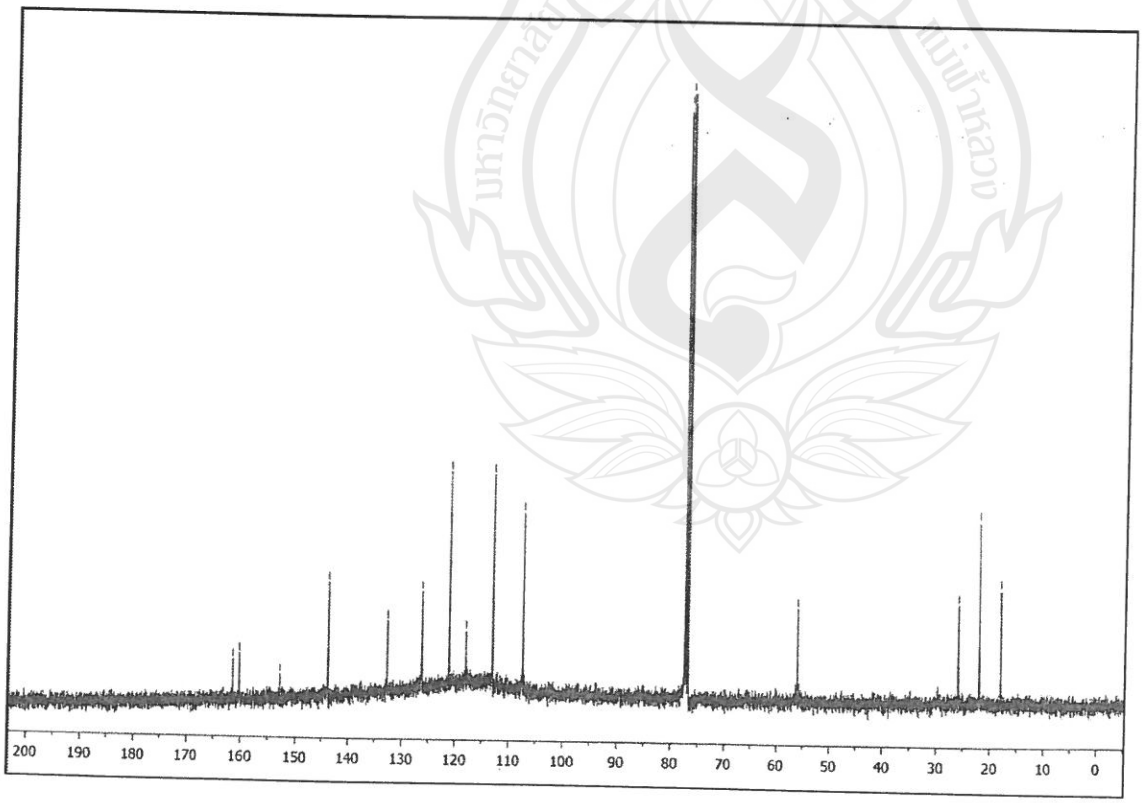
ภาพประกอบที่ 3 DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL1**



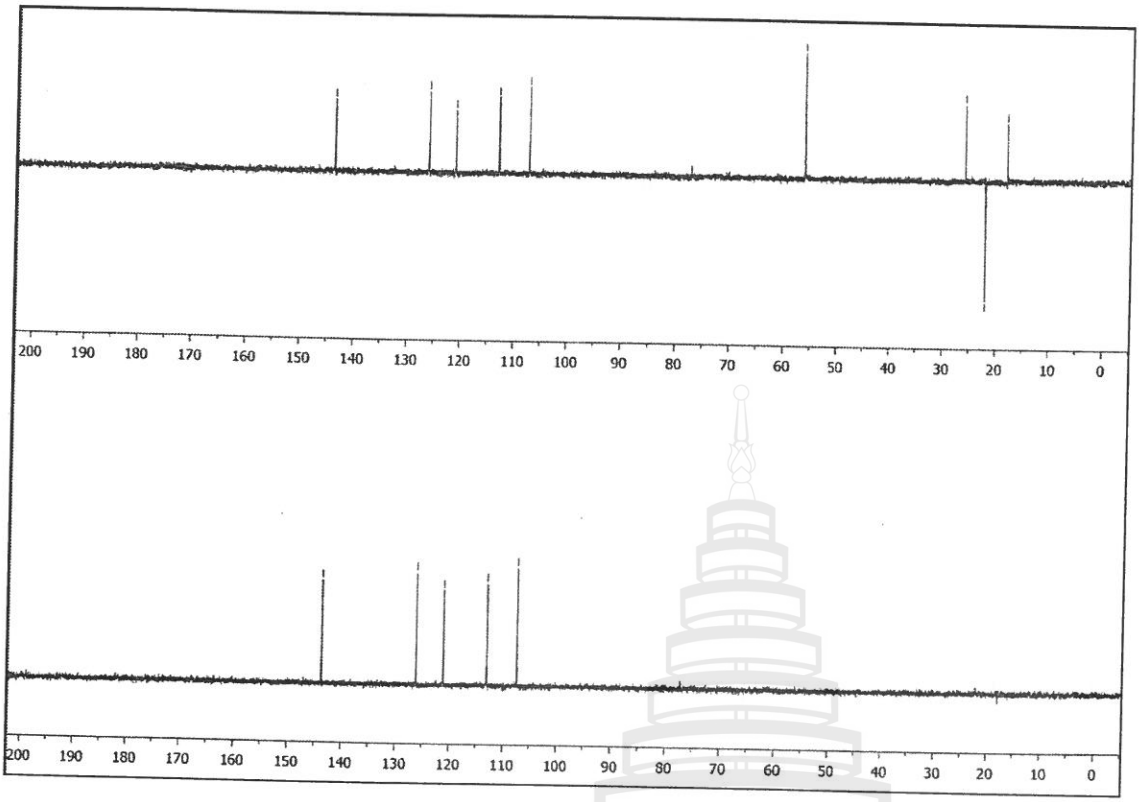
ภาพประกอบที่ 4 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL2** (400 MHz, $CDCl_3$)



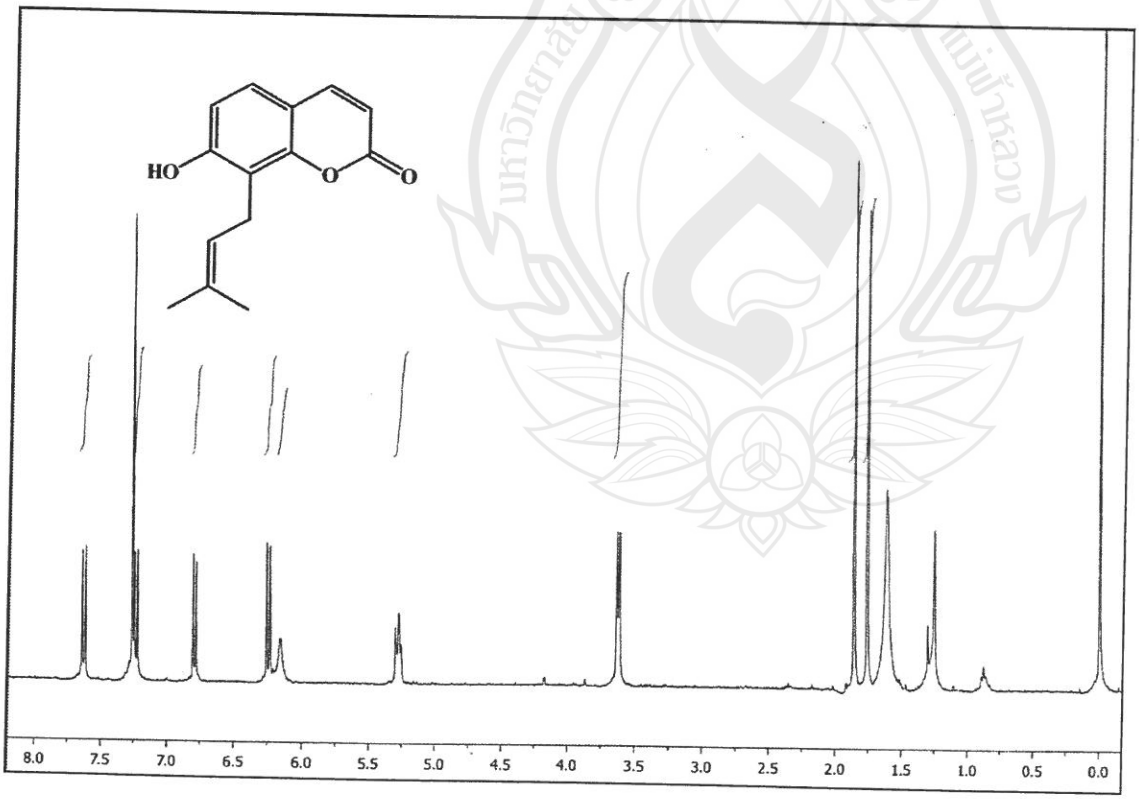
ภาพประกอบที่ 5 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL3** (400 MHz, $CDCl_3$)



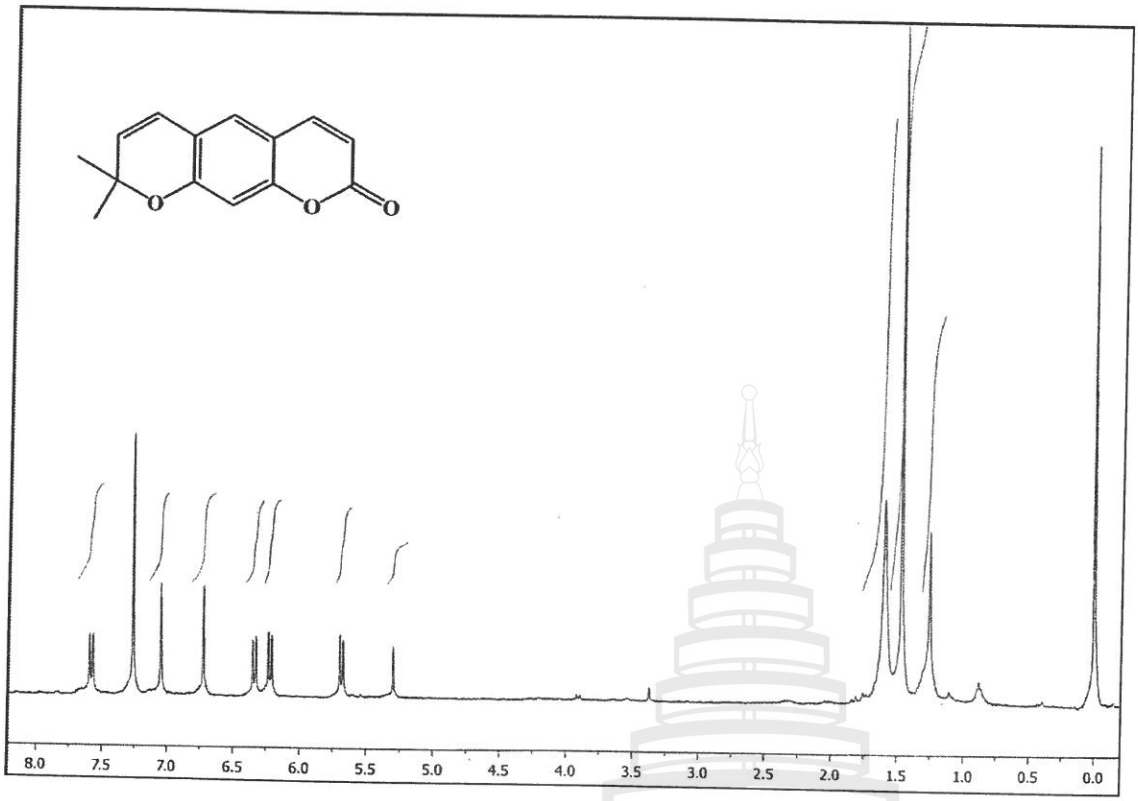
ภาพประกอบที่ 6 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FL3** (100 MHz, $CDCl_3$)



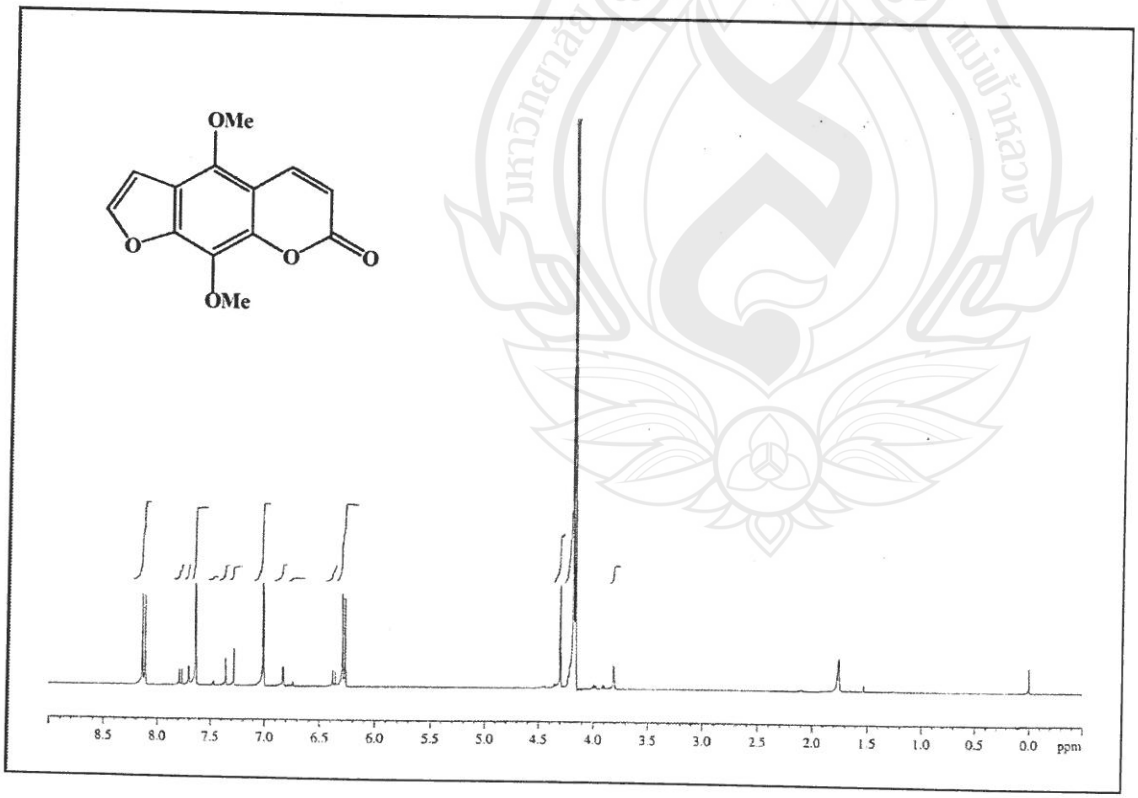
ภาพประกอบที่ 7 DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL3**



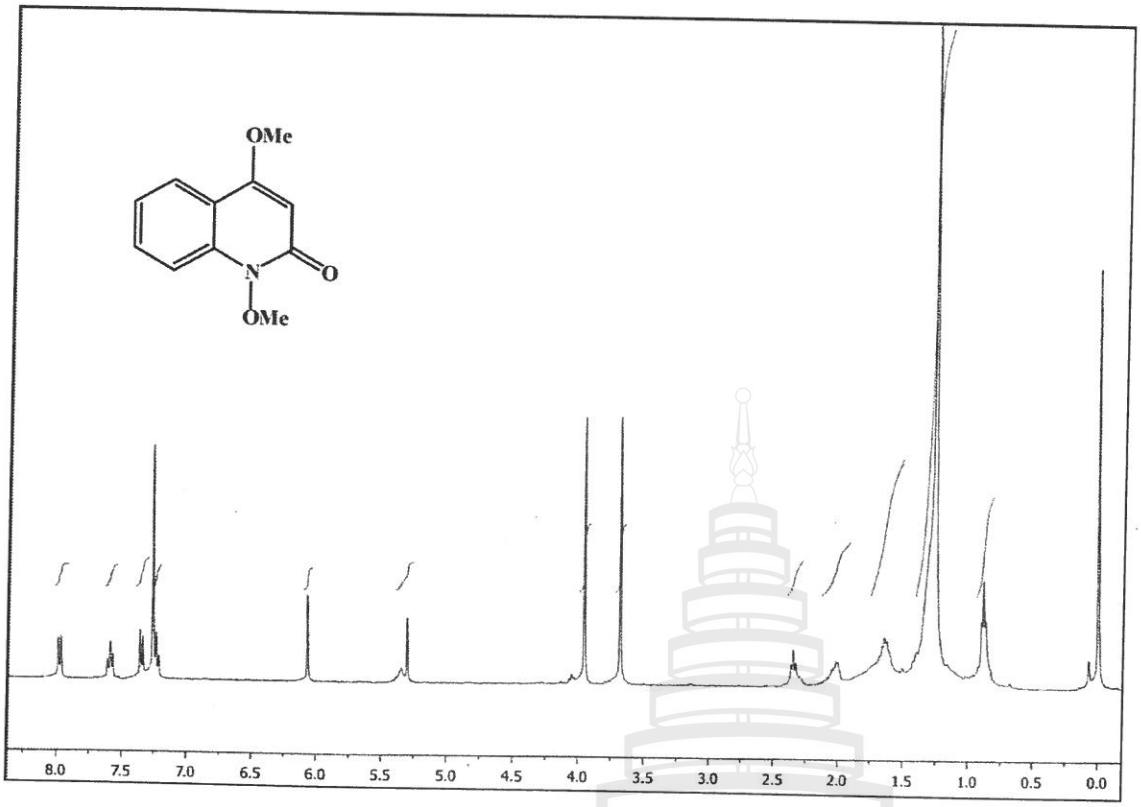
ภาพประกอบที่ 8 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL4** (400 MHz, $CDCl_3$)



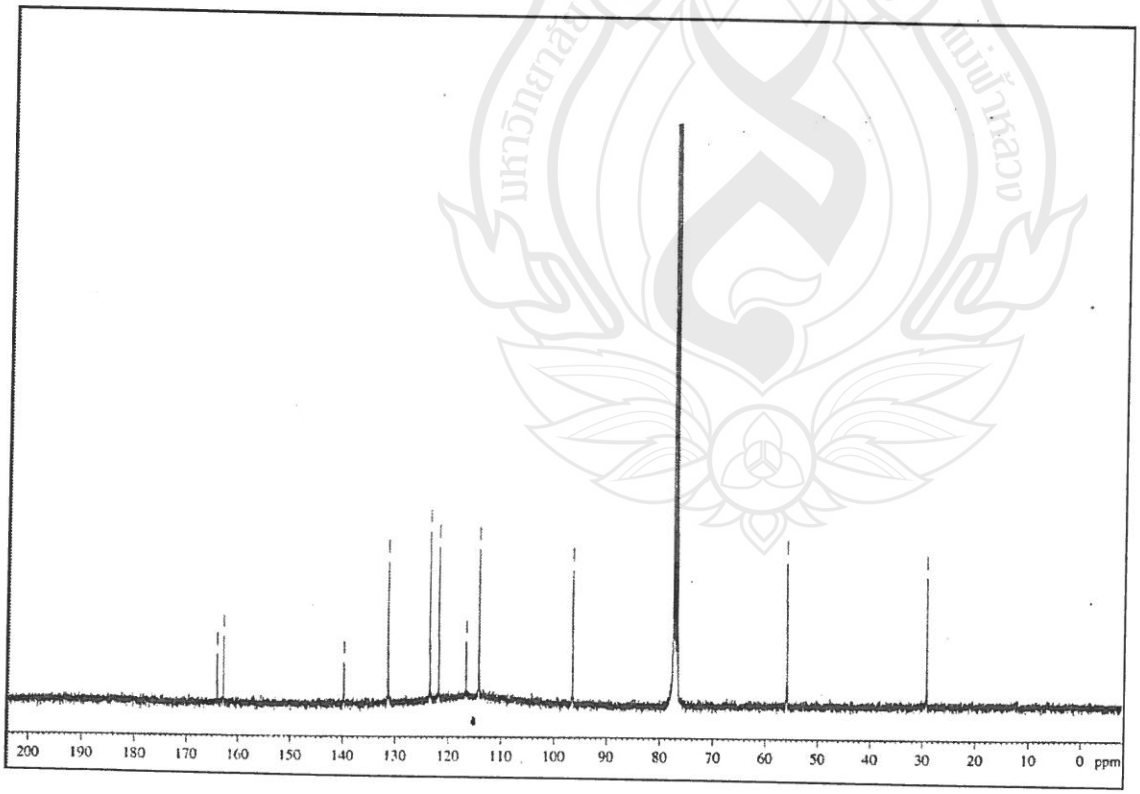
ภาพประกอบที่ 9 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL5** (400 MHz, $CDCl_3$)



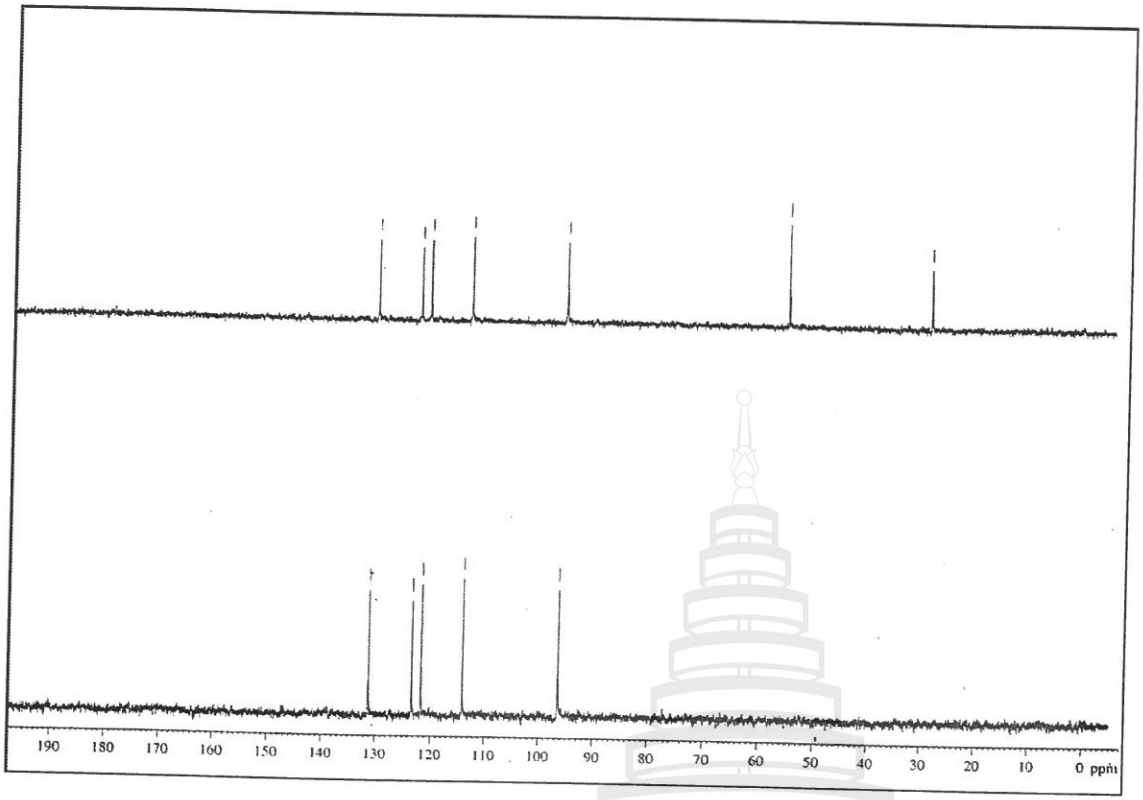
ภาพประกอบที่ 10 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL6** (400 MHz, $CDCl_3$)



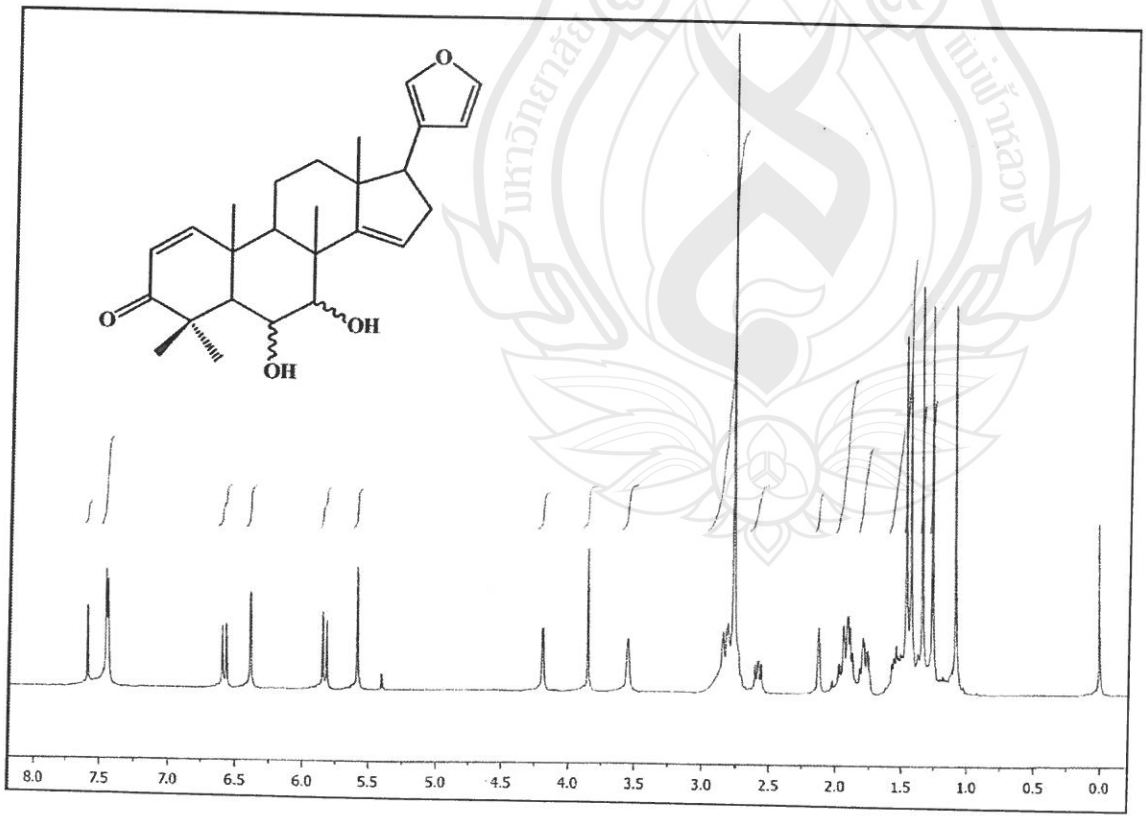
ภาพประกอบที่ 11 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL7** (400 MHz, $CDCl_3$)



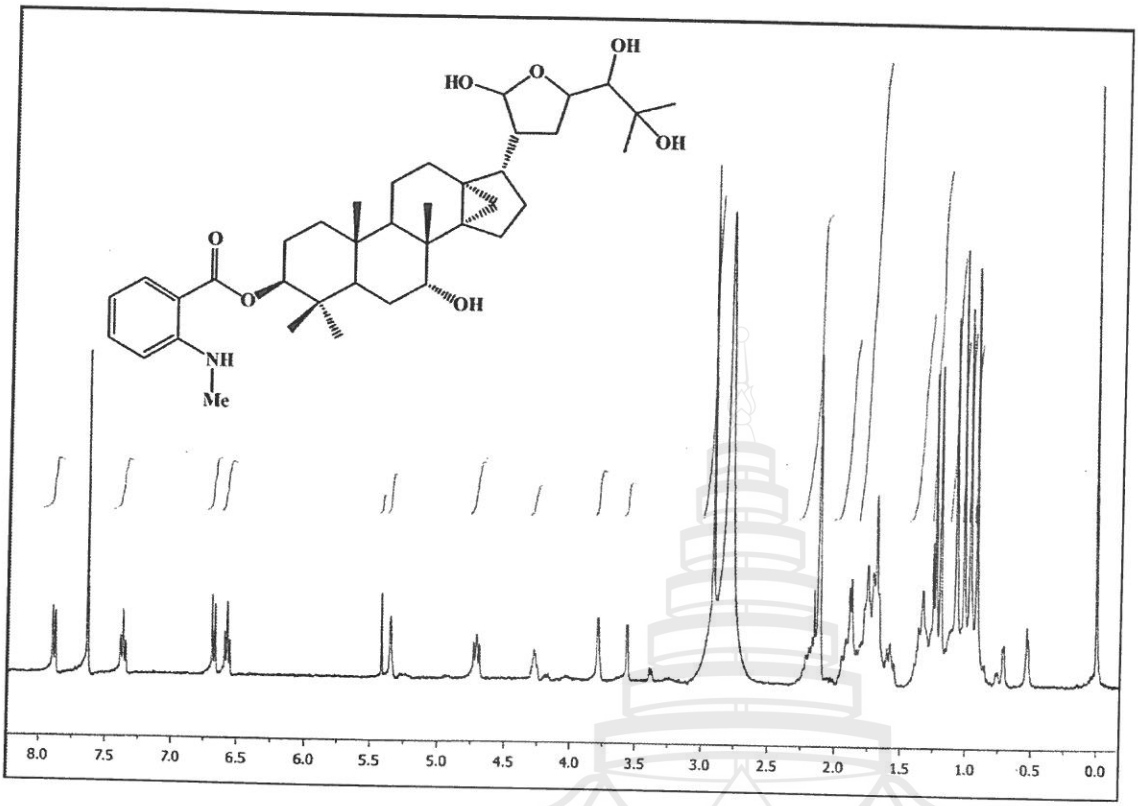
ภาพประกอบที่ 12 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FL7** (400 MHz, $CDCl_3$)



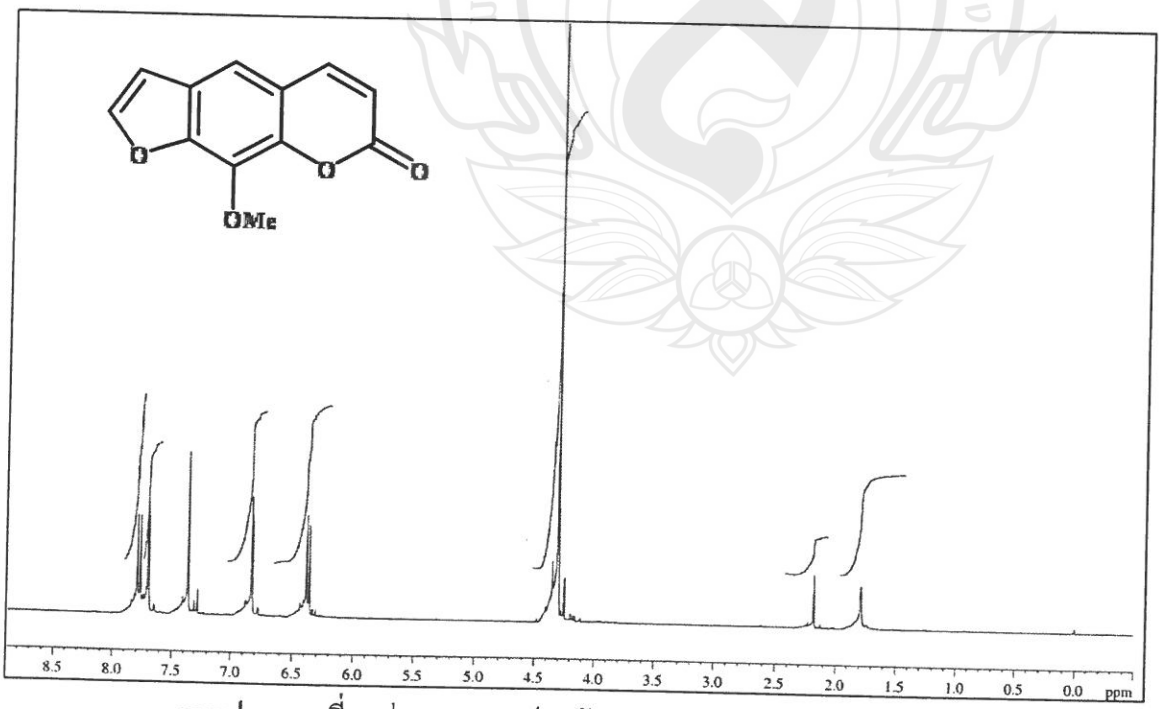
ภาพประกอบที่ 13 DEPT 90 และ DEPT 135 สเปกตรัมของสาร **FL7**



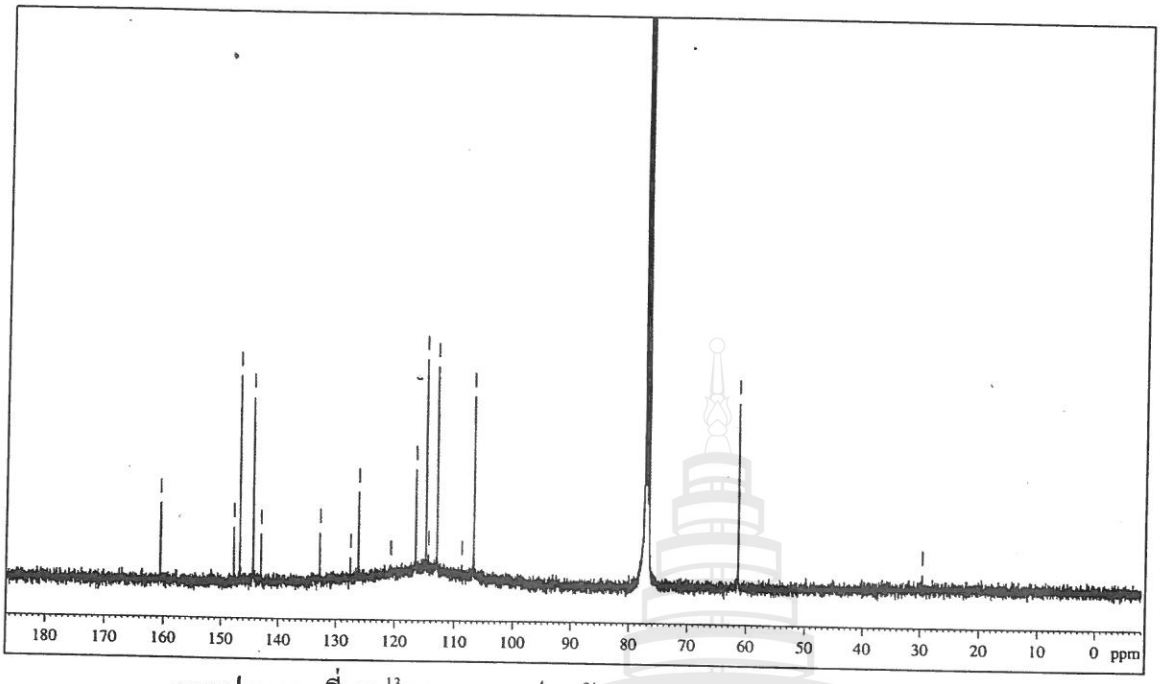
ภาพประกอบที่ 14 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL8** (400 MHz, $CDCl_3$)



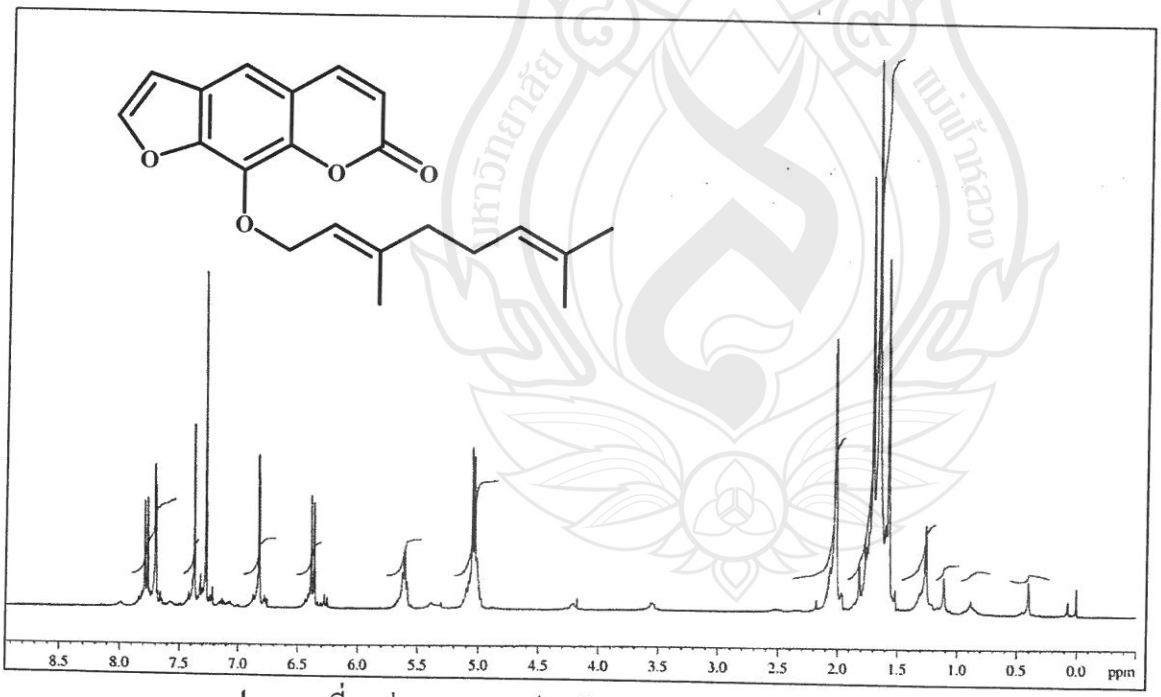
ภาพประกอบที่ 15 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FL9** (400 MHz, $CDCl_3$)



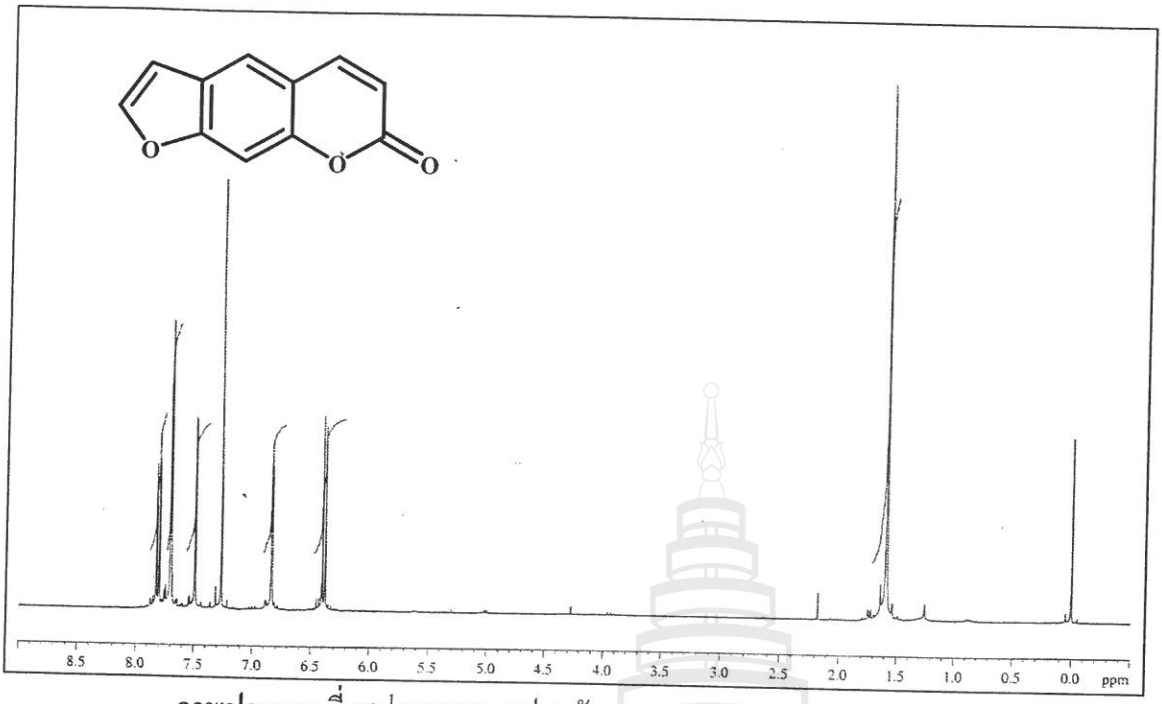
ภาพประกอบที่ 16 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI1** (400 MHz, $CDCl_3$)



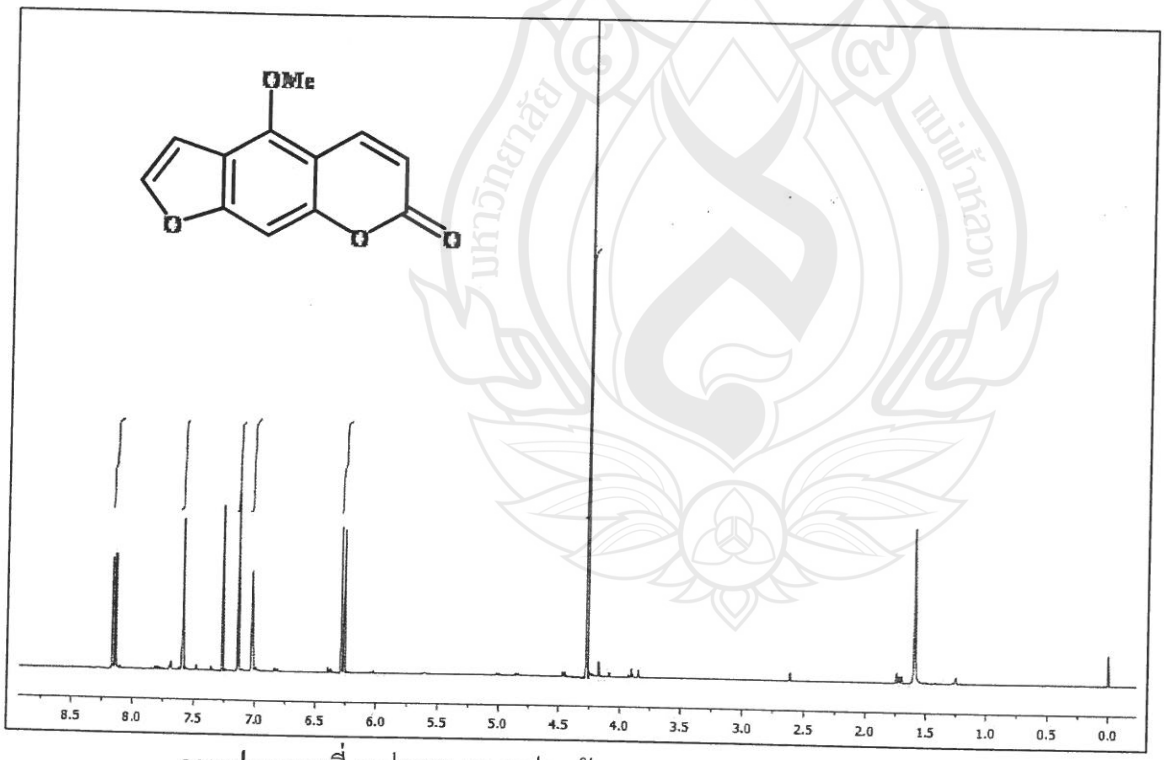
ภาพประกอบที่ 17 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI1** (100 MHz, $CDCl_3$)



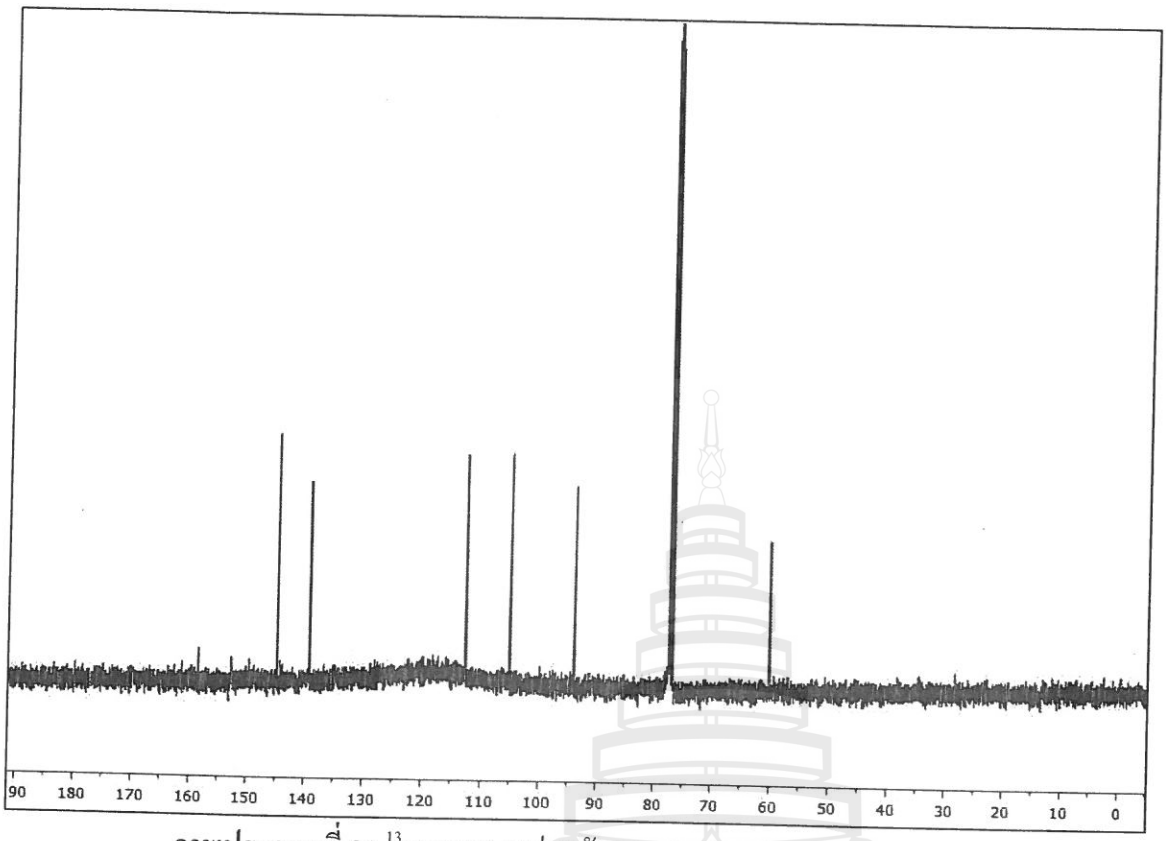
ภาพประกอบที่ 18 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI2** (400 MHz, $CDCl_3$)



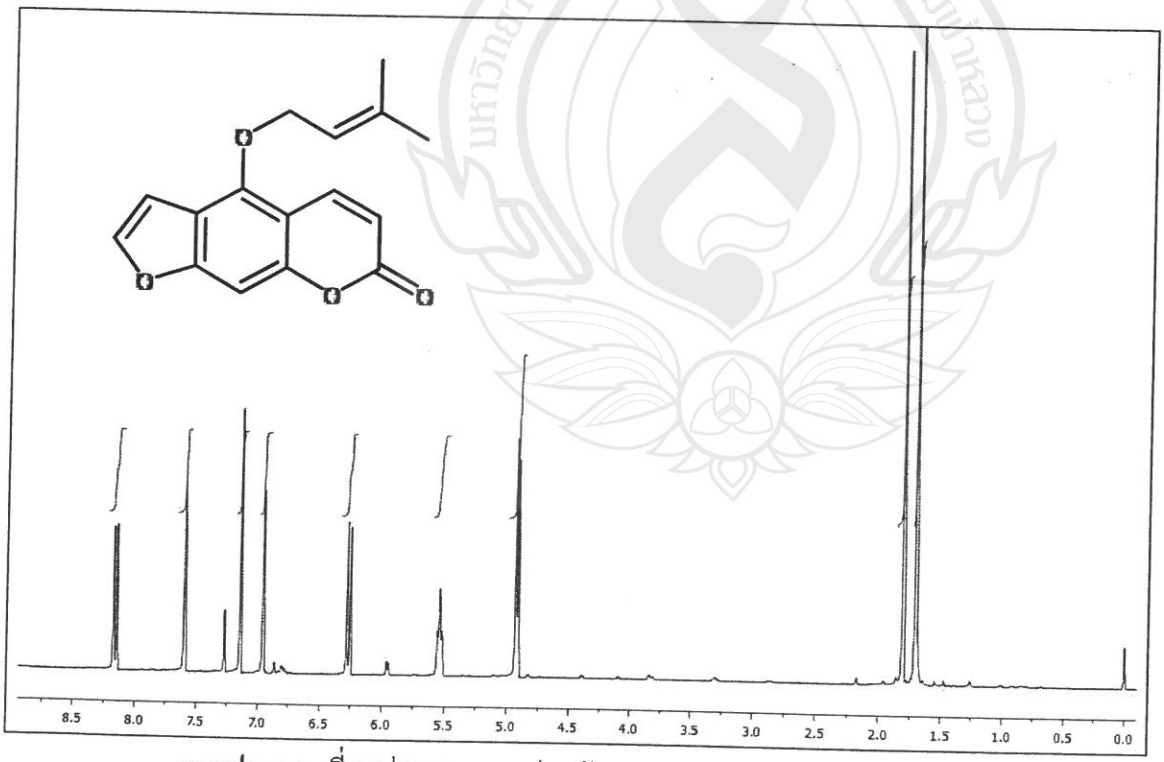
ภาพประกอบที่ 19 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI3** (400 MHz, $CDCl_3$)



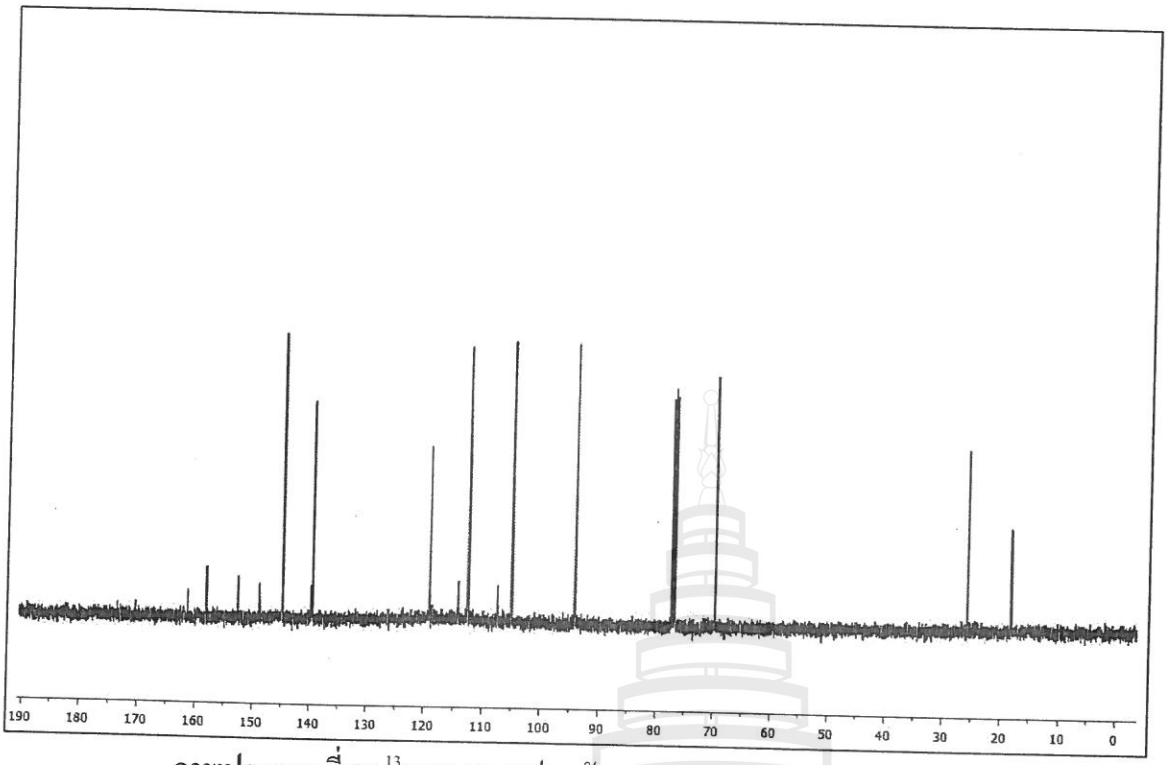
ภาพประกอบที่ 20 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI4** (400 MHz, $CDCl_3$)



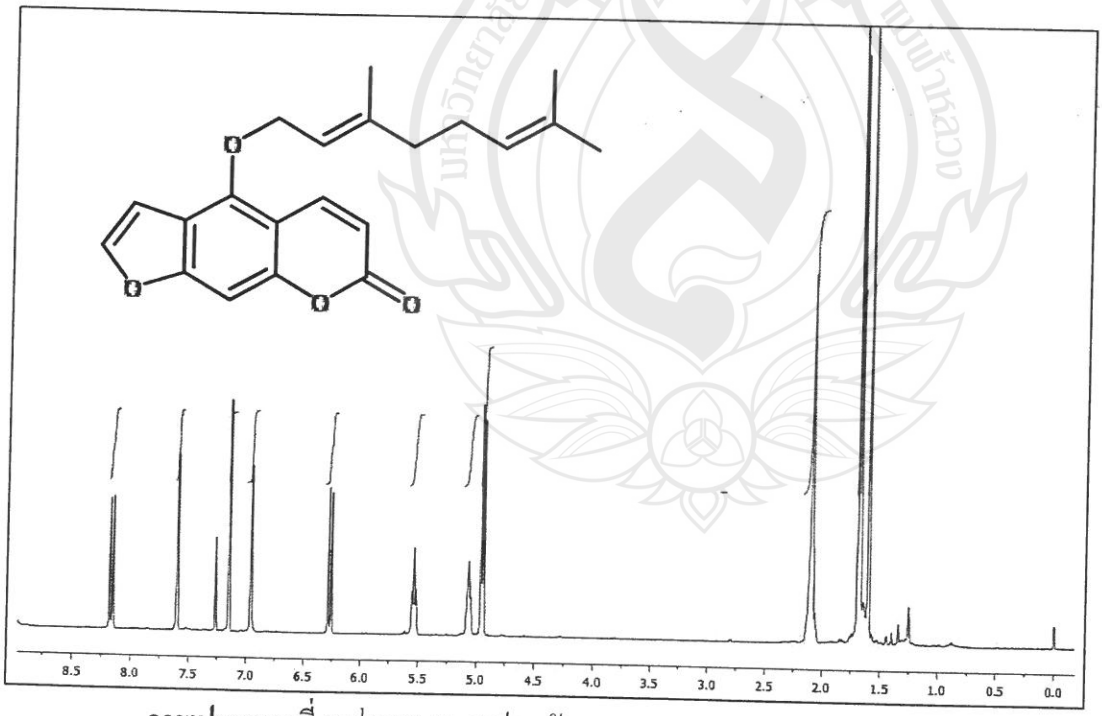
ภาพประกอบที่ 21 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI4** (100 MHz, $CDCl_3$)



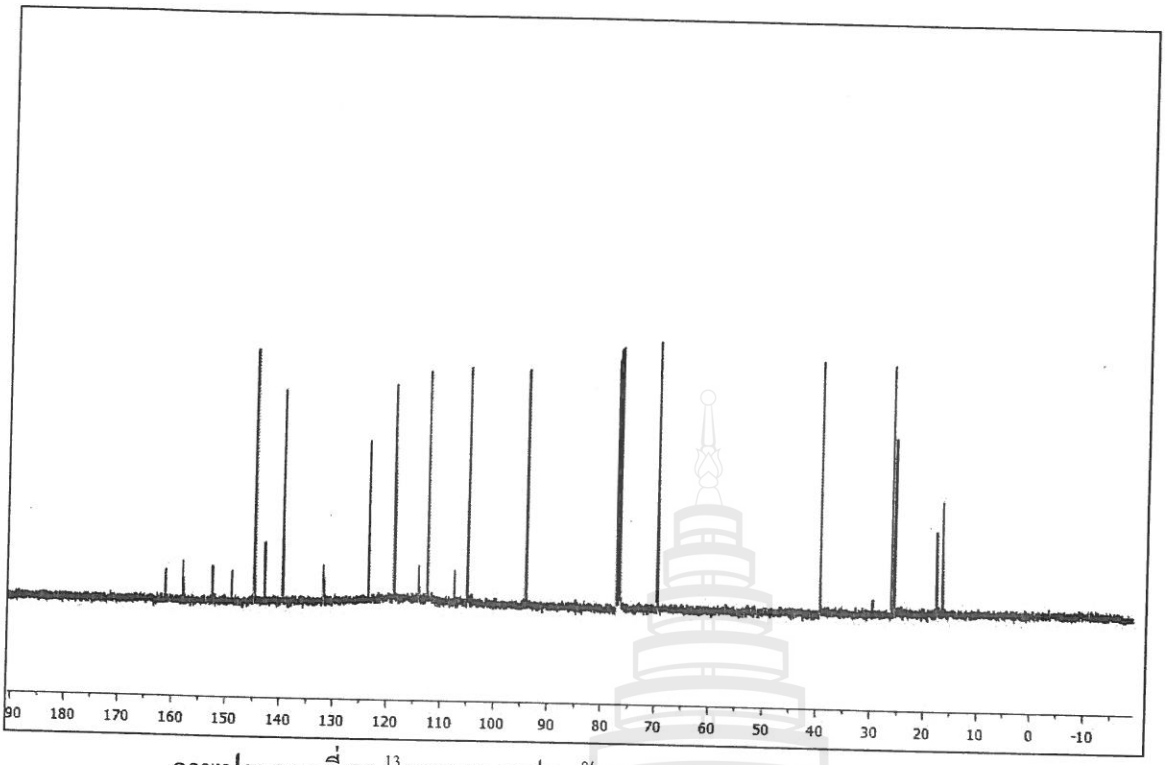
ภาพประกอบที่ 22 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI5** (400 MHz, $CDCl_3$)



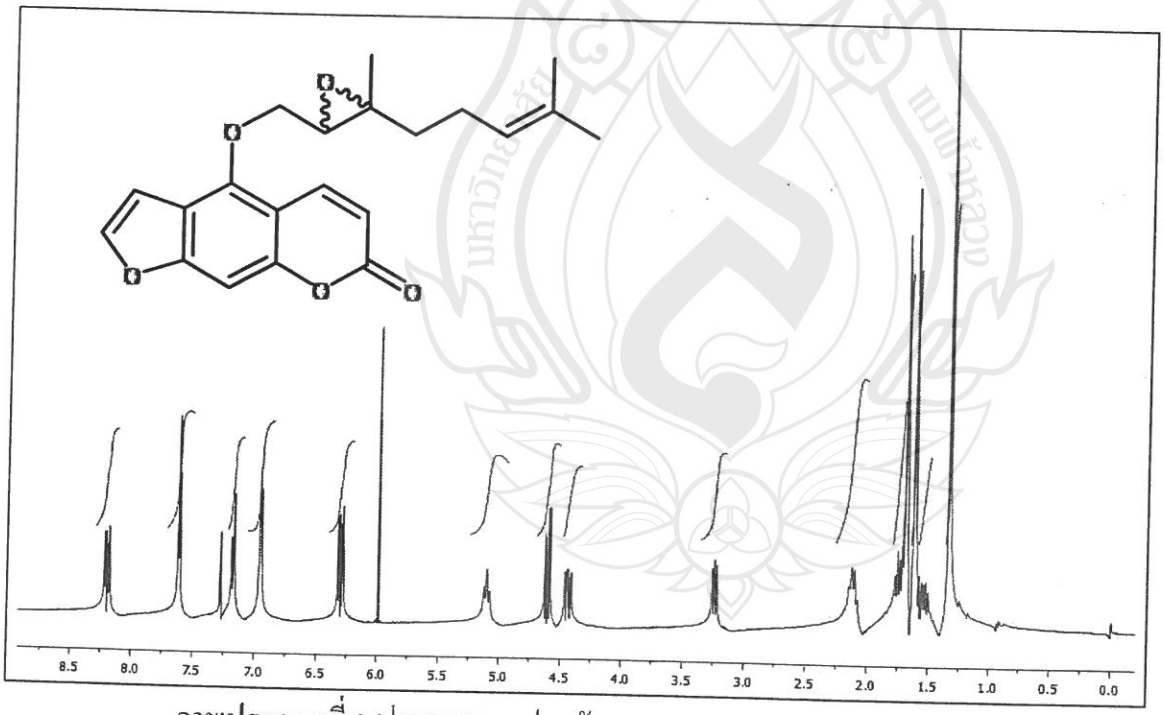
ภาพประกอบที่ 23 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI5** (100 MHz, $CDCl_3$)



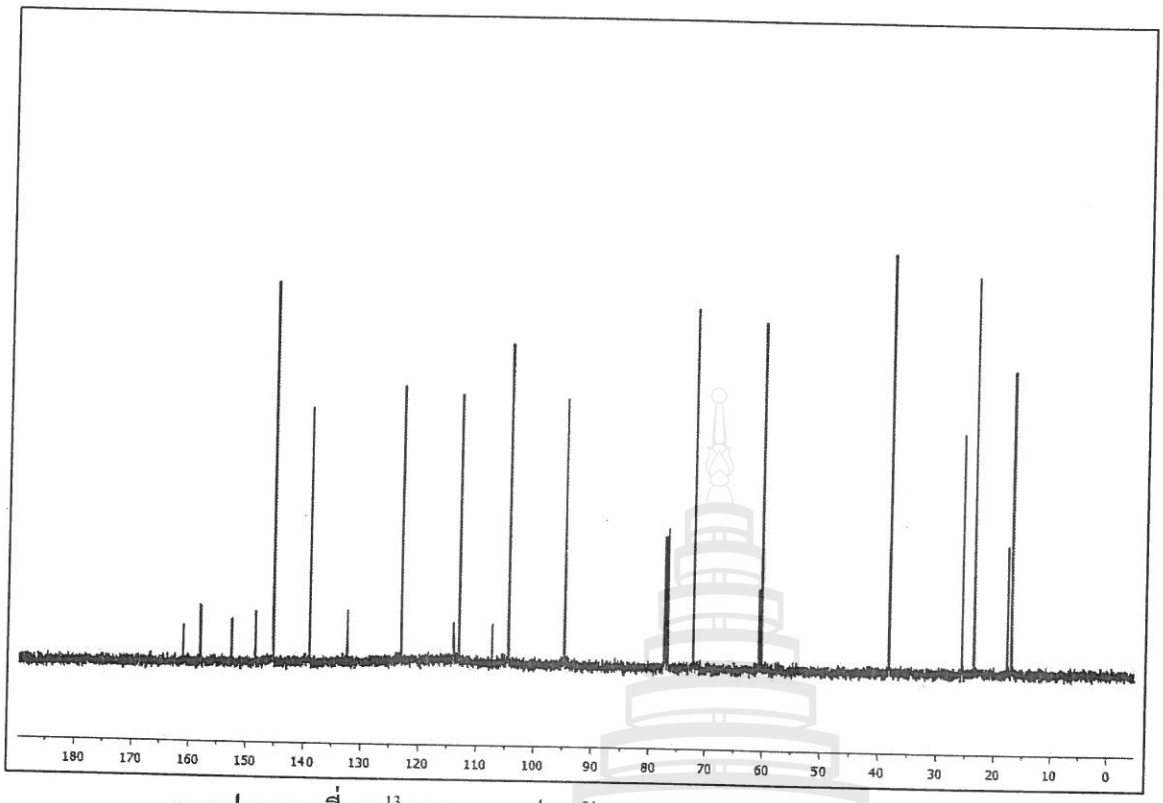
ภาพประกอบที่ 24 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI6** (400 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบที่ 25 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI6** (100 MHz, $CDCl_3$)

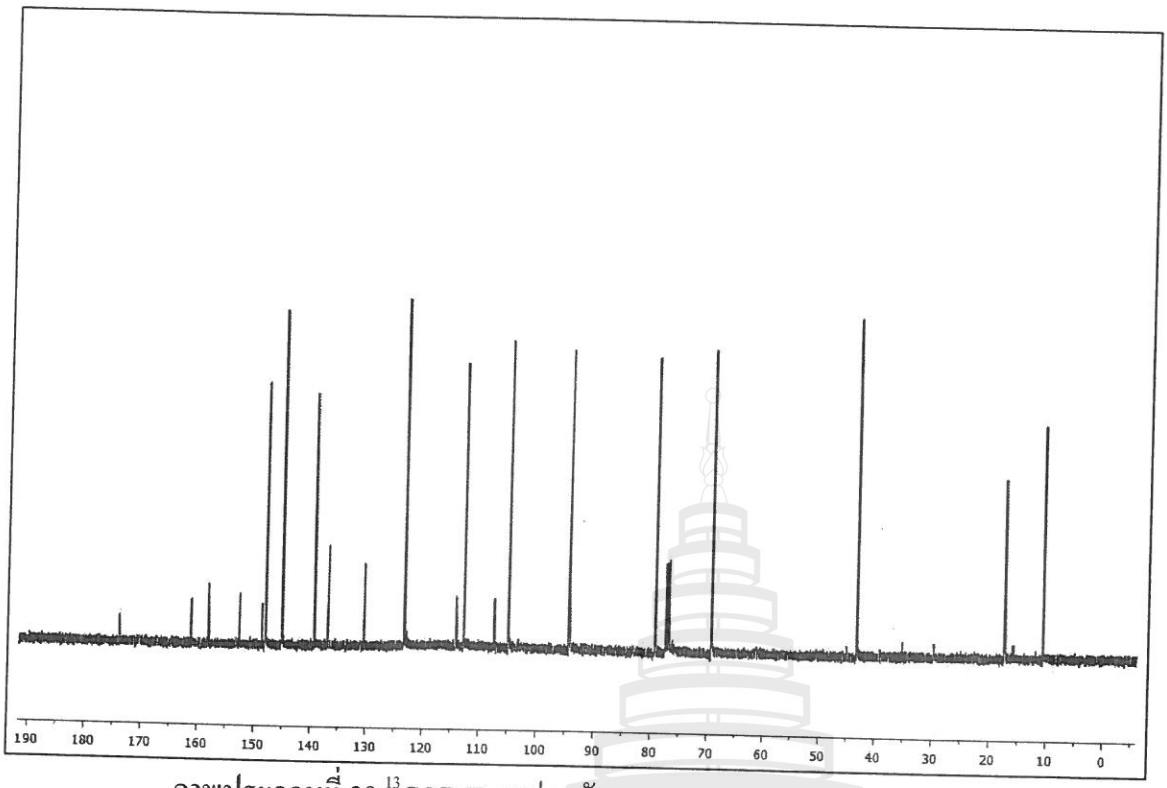


ภาพประกอบที่ 26 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI7** (400 MHz, $CDCl_3$)

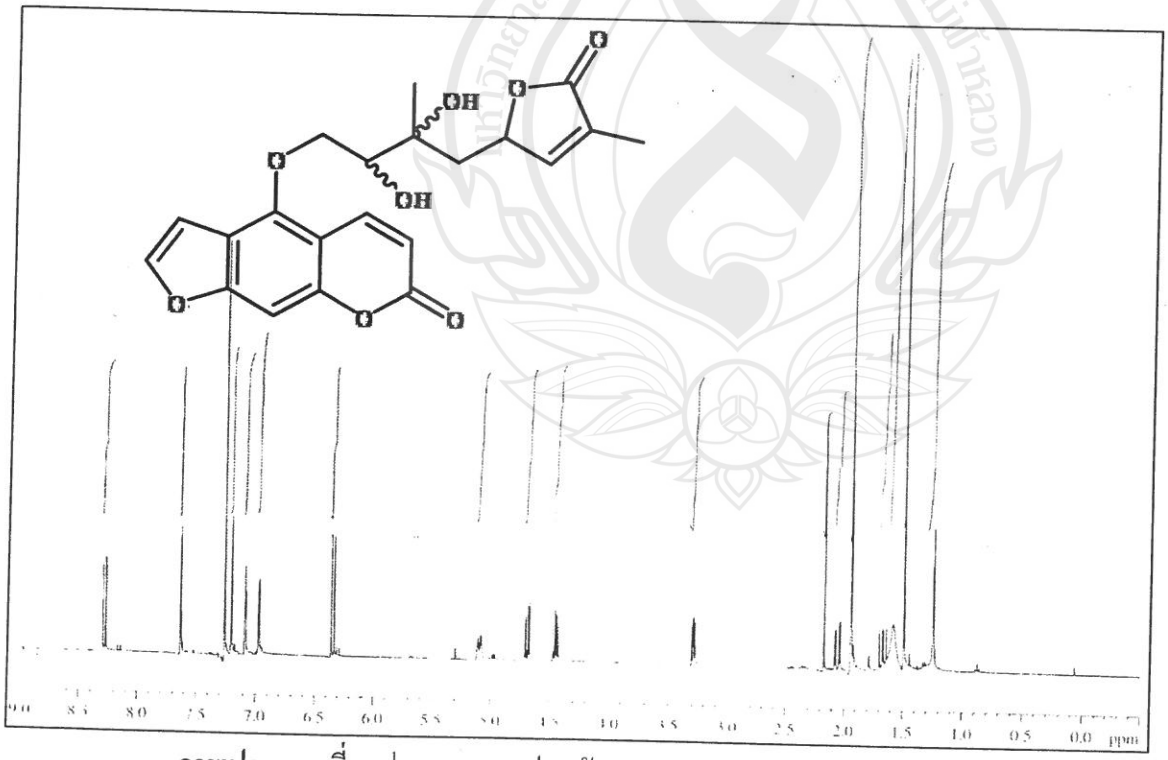


ภาพประกอบที่ 27 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI7** (100 MHz, $CDCl_3$)

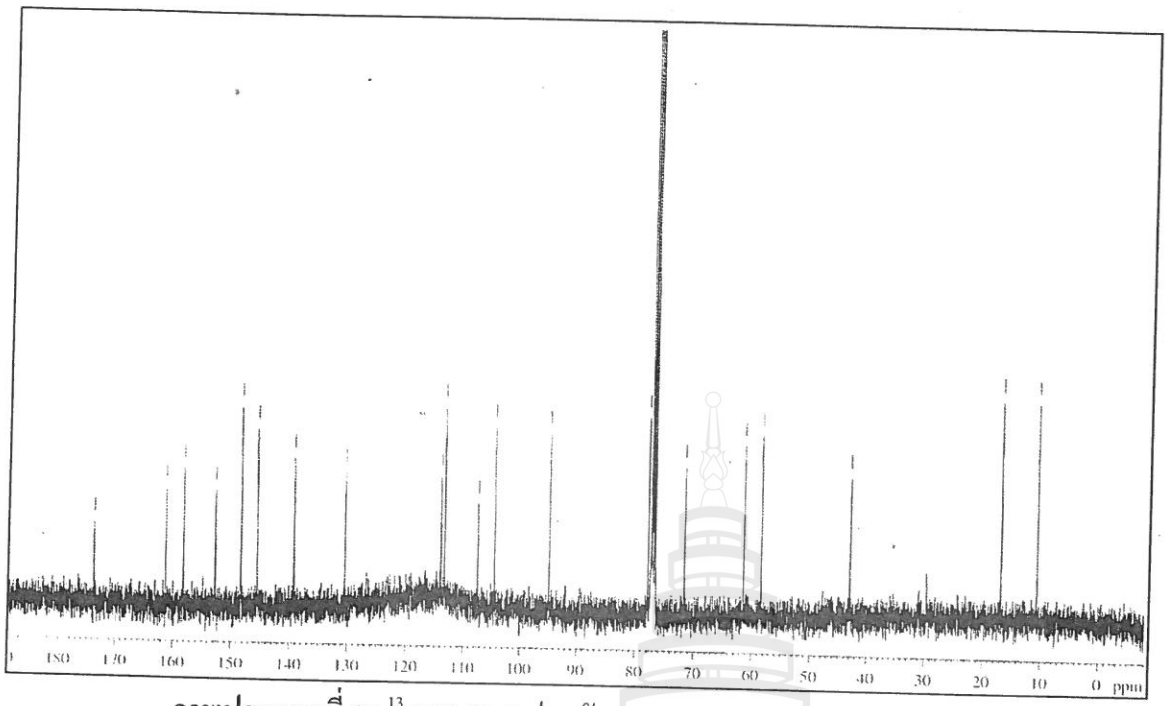
ภาพประกอบที่ 28 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI8** (400 MHz, $CDCl_3$)



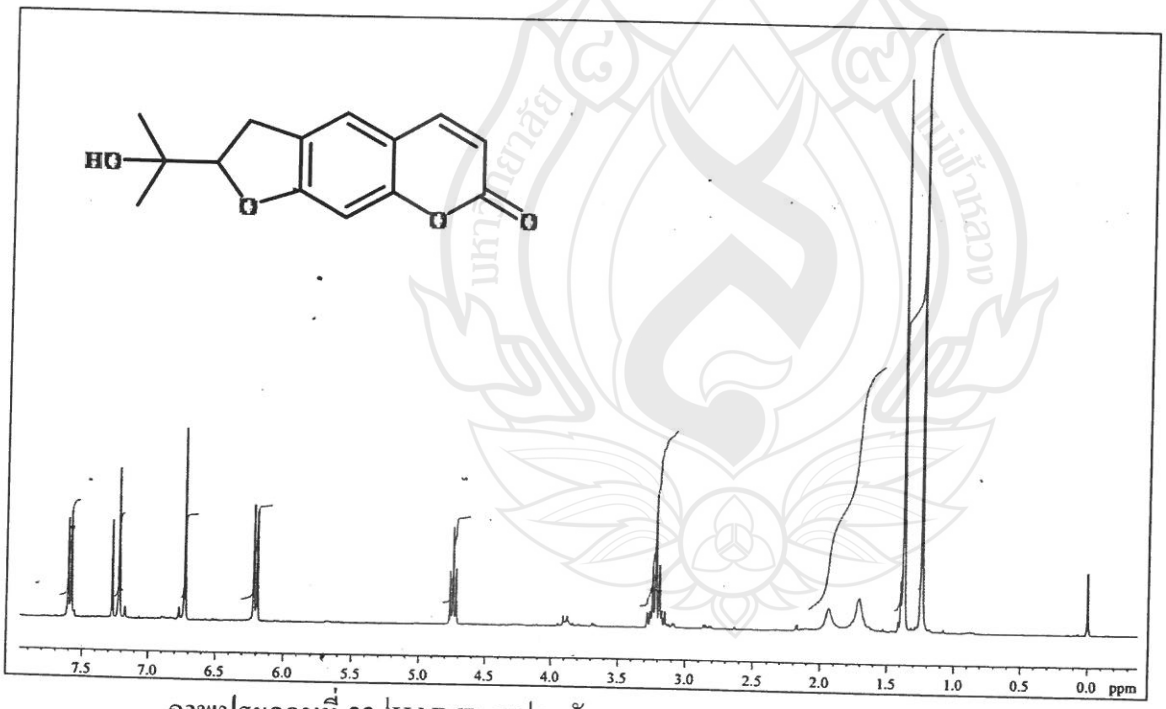
ภาพประกอบที่ 29 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI8** (100 MHz, $CDCl_3$)



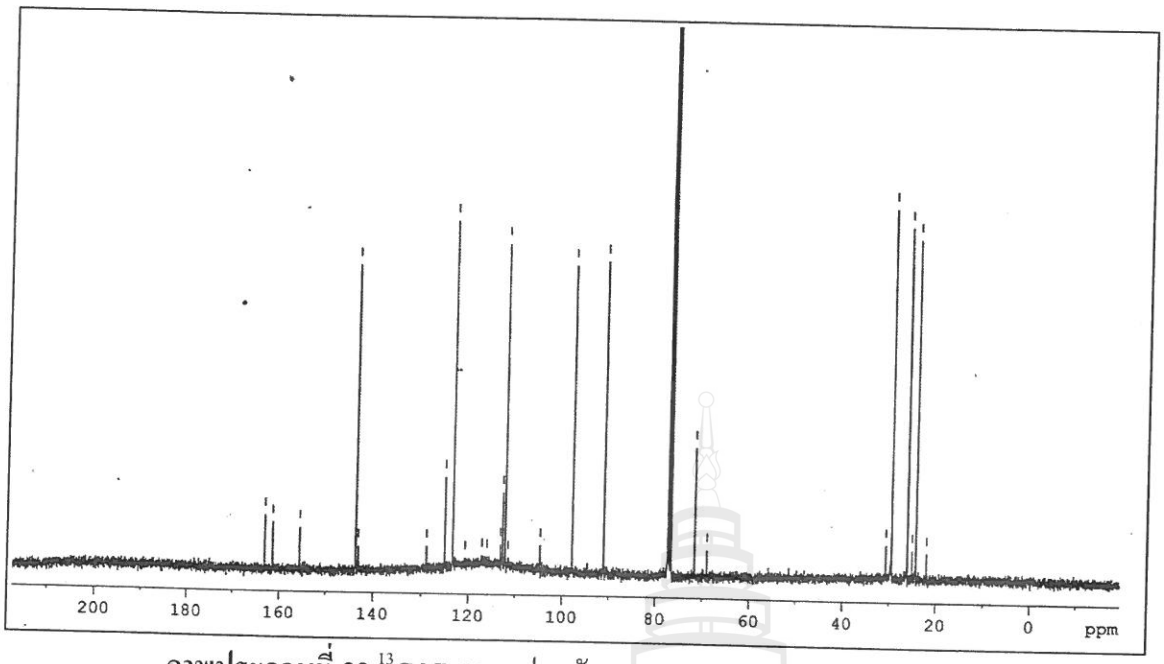
ภาพประกอบที่ 30 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI9** (400 MHz, $CDCl_3$)



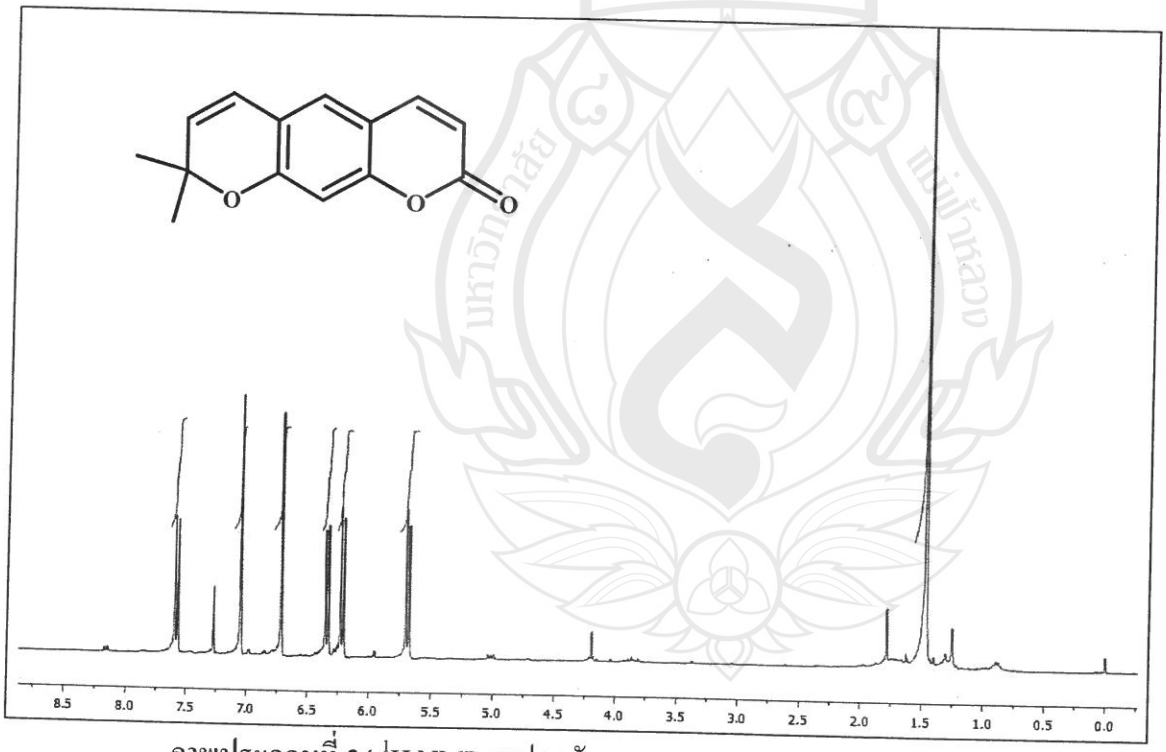
ภาพประกอบที่ 31 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI9** (100 MHz, $CDCl_3$)



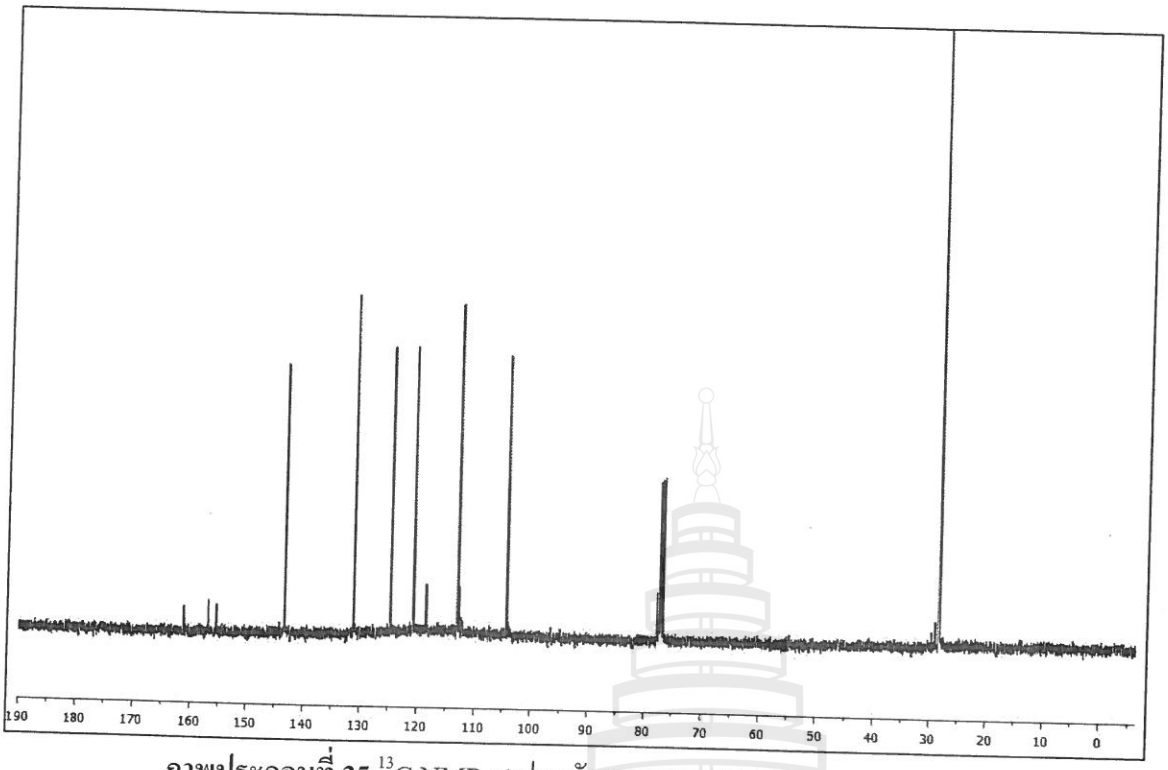
ภาพประกอบที่ 32 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI10** (400 MHz, $CDCl_3$)



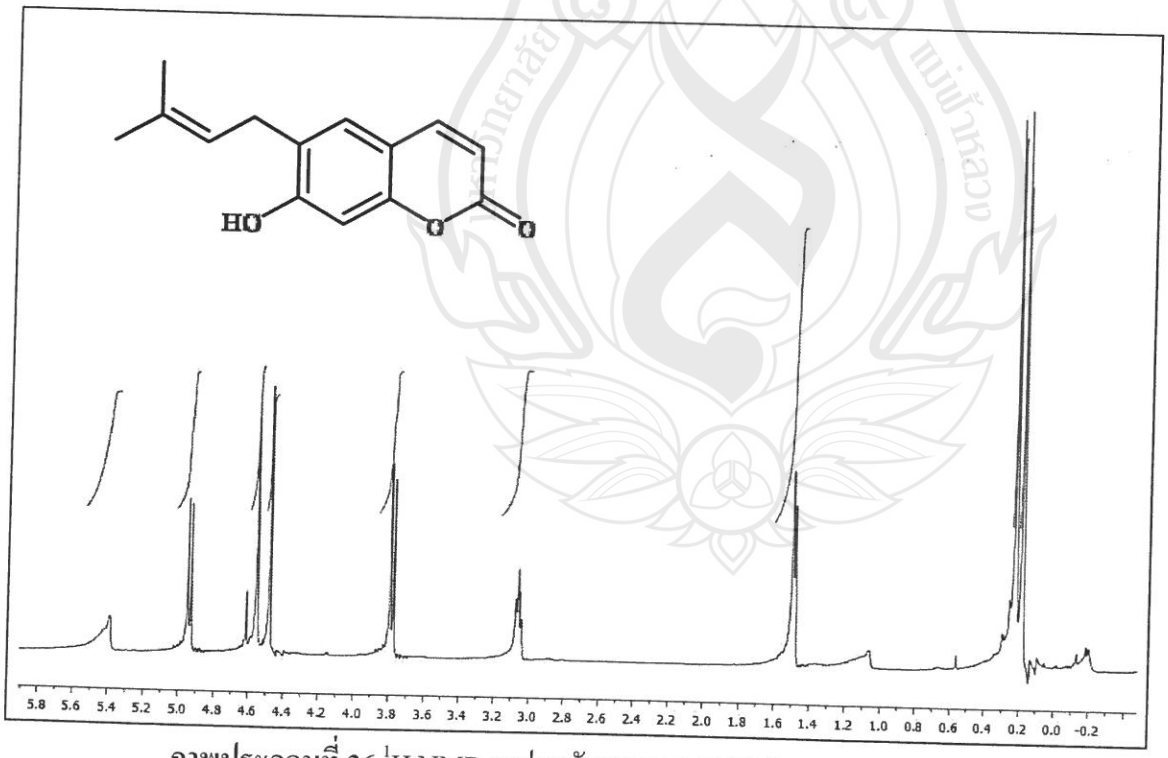
ภาพประกอบที่ 33 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI10** (100 MHz, $CDCl_3$)



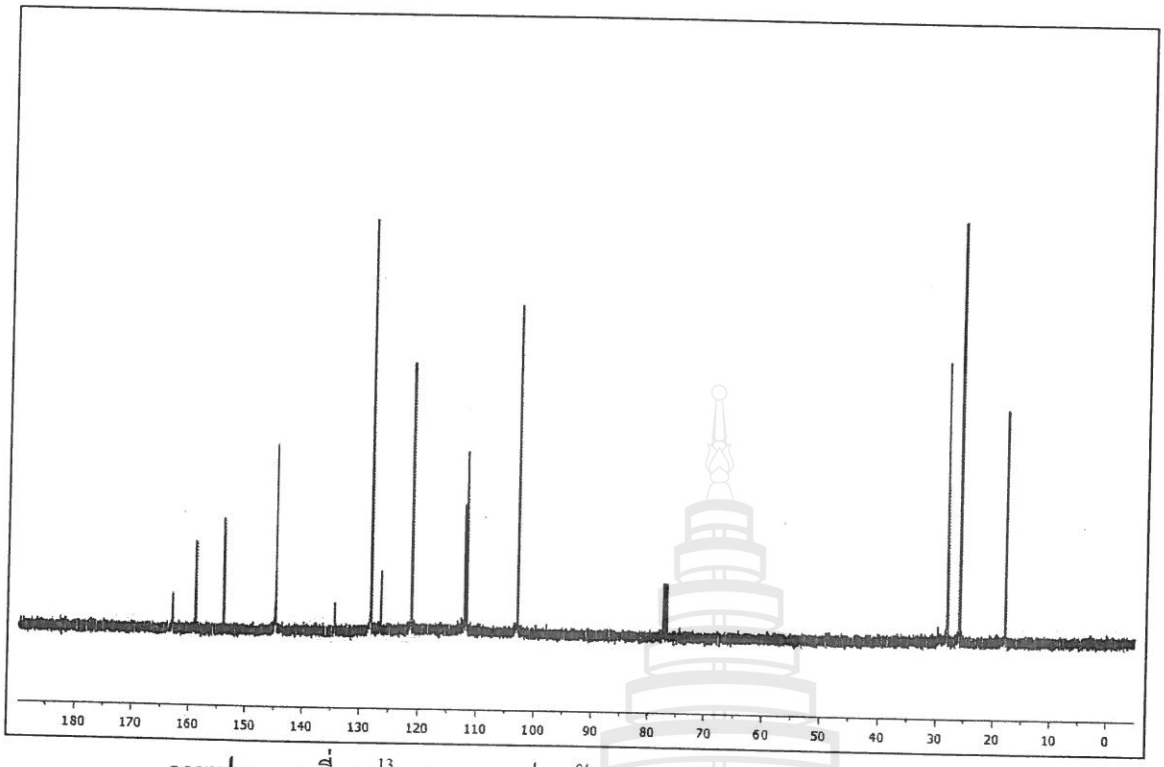
ภาพประกอบที่ 34 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI11** (400 MHz, $CDCl_3$)



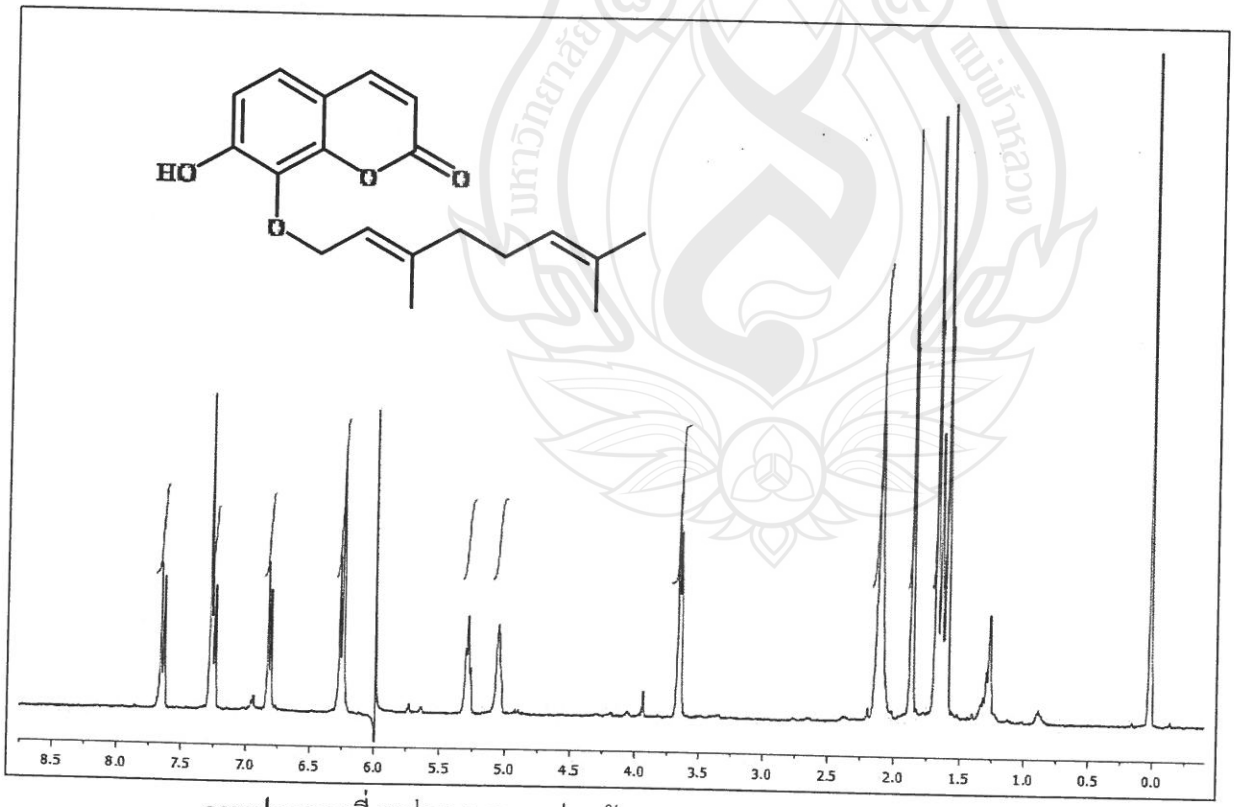
ภาพประกอบที่ 35 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI11** (100 MHz, $CDCl_3$)



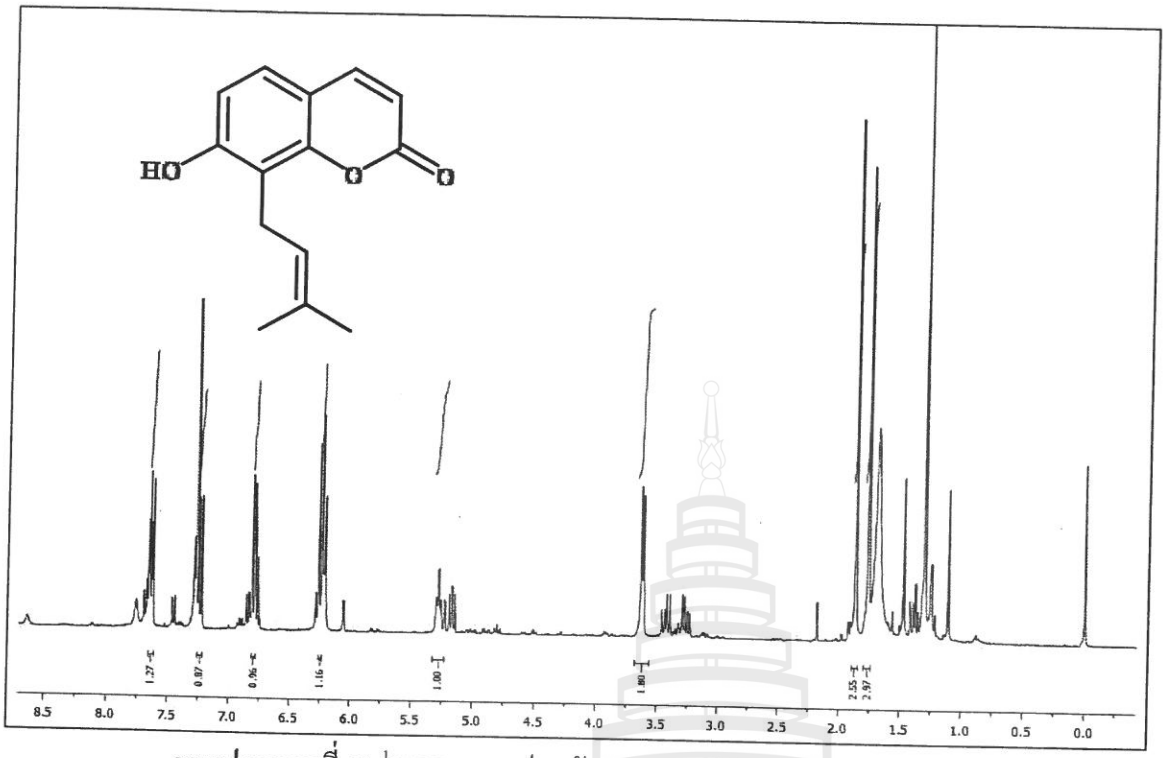
ภาพประกอบที่ 36 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI12** (400 MHz, $CDCl_3$)



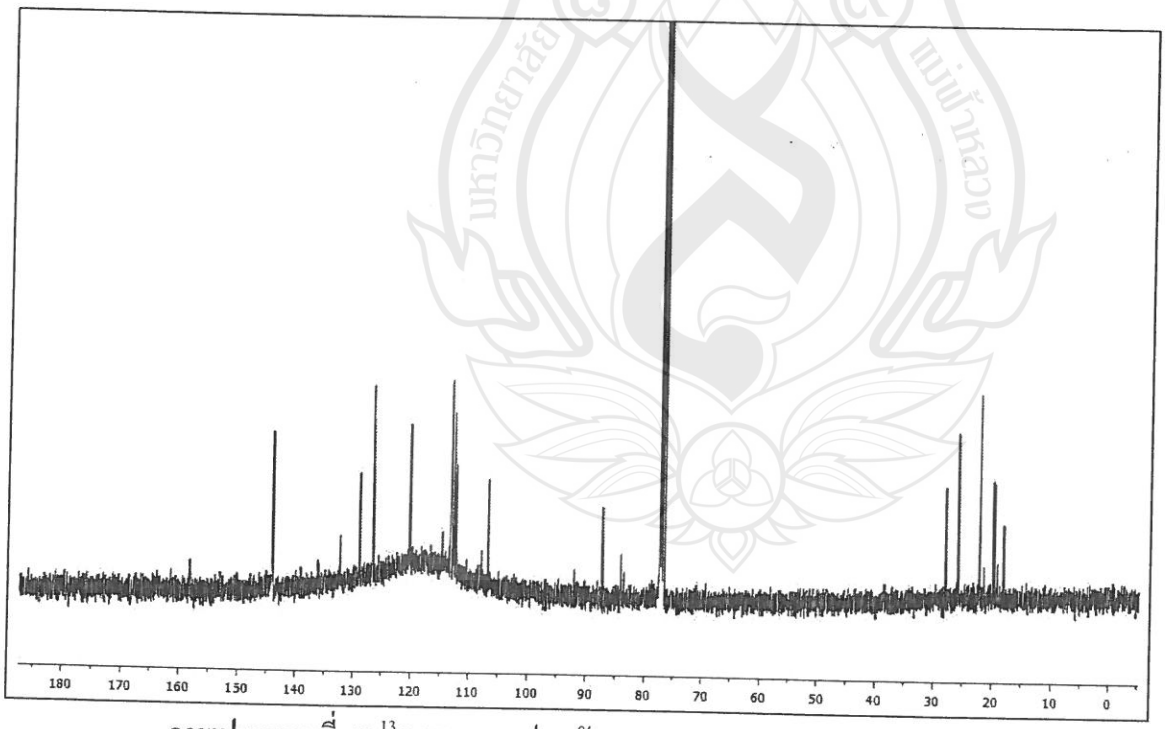
ภาพประกอบที่ 37 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI12** (100 MHz, $CDCl_3$)



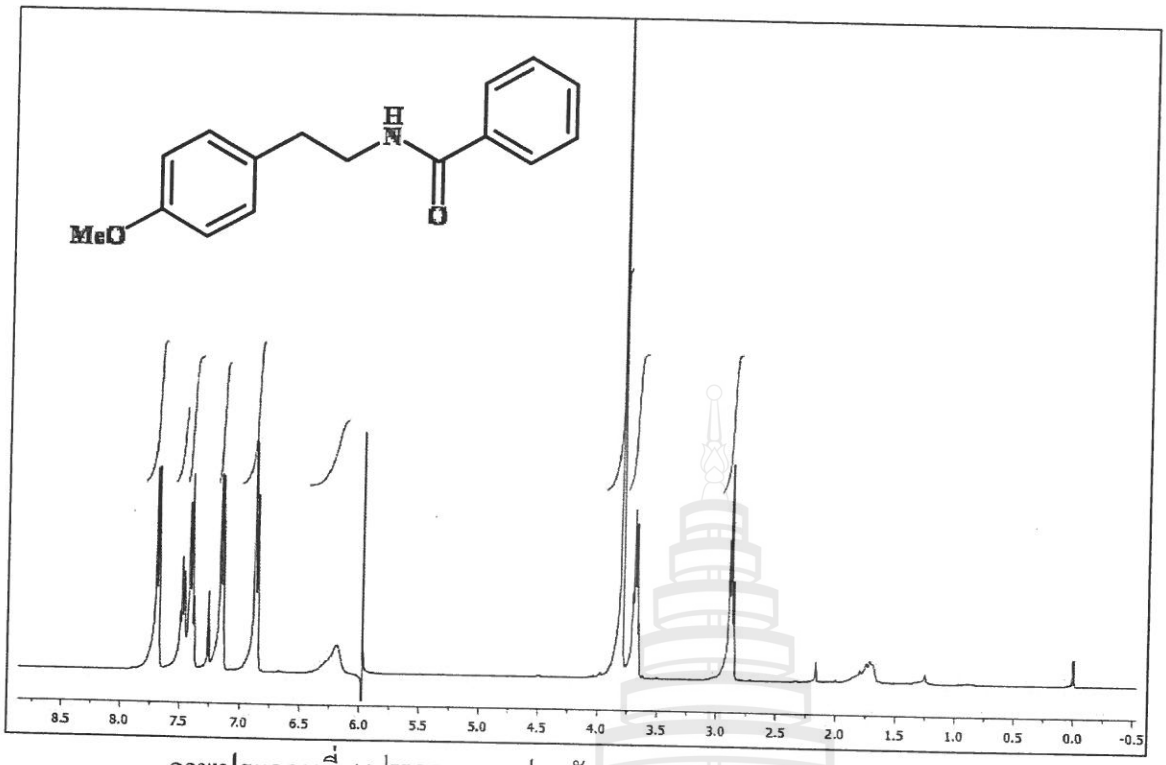
ภาพประกอบที่ 38 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI13** (400 MHz, $CDCl_3$)



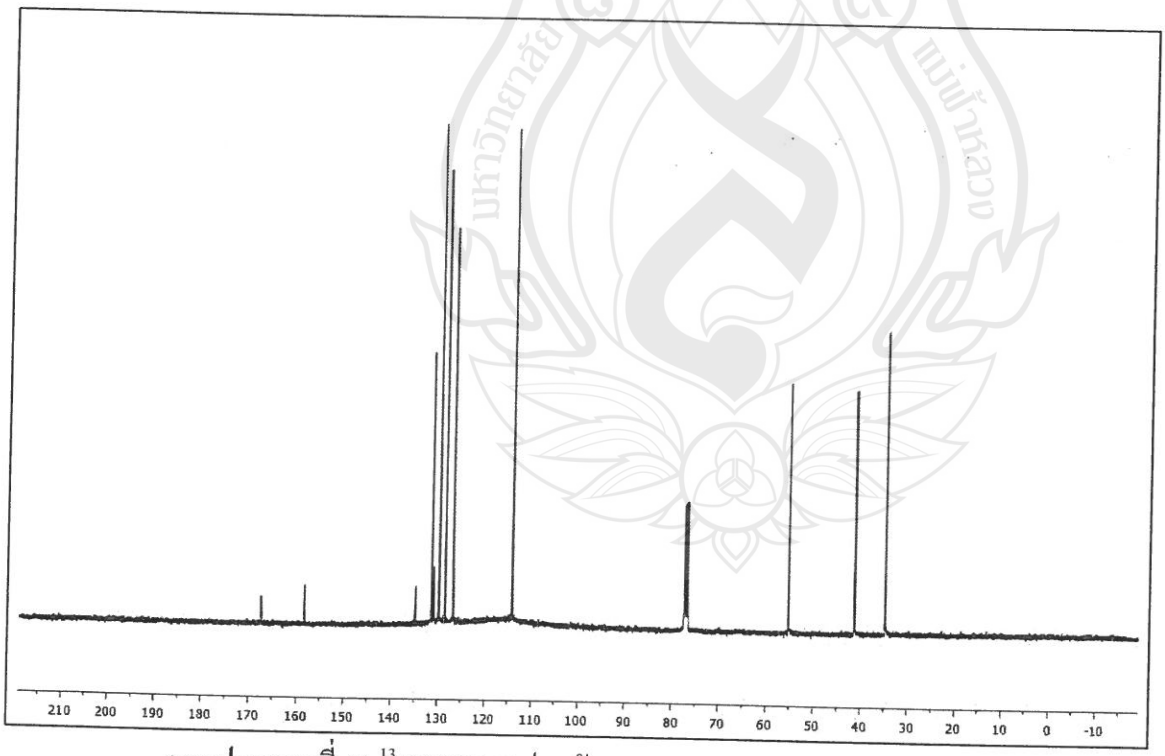
ภาพประกอบที่ 39 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI14** (400 MHz, $CDCl_3$)



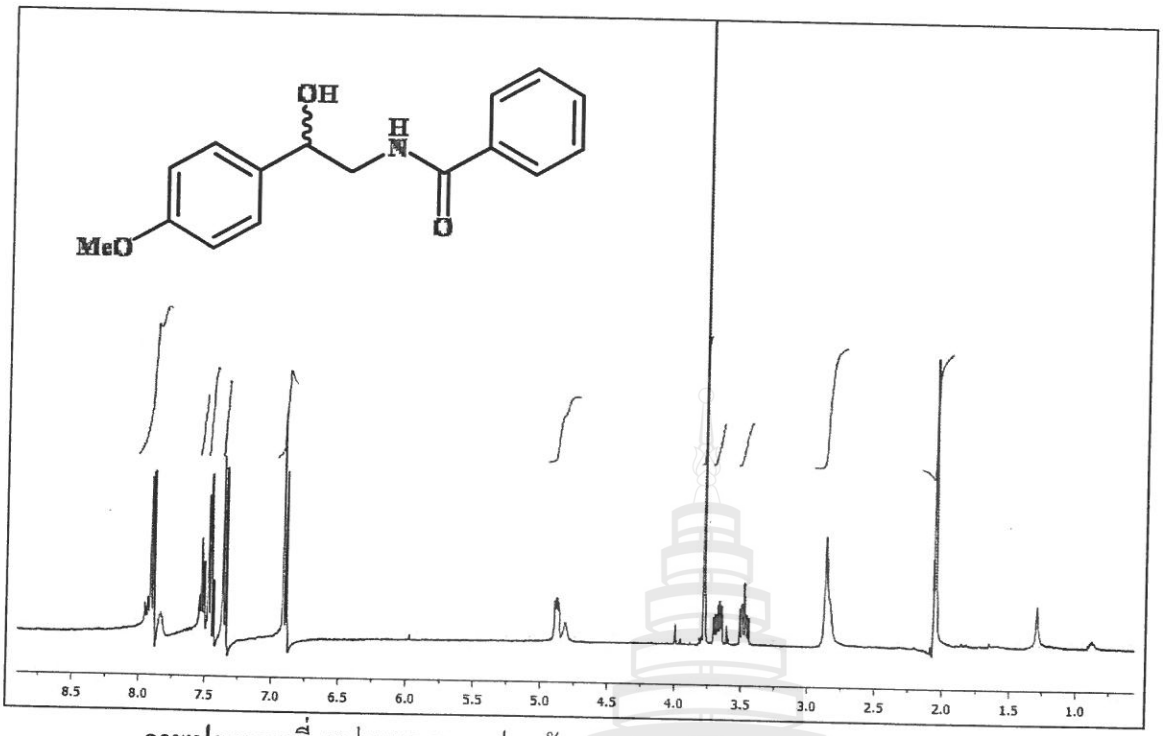
ภาพประกอบที่ 40 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI14** (100 MHz, $CDCl_3$)



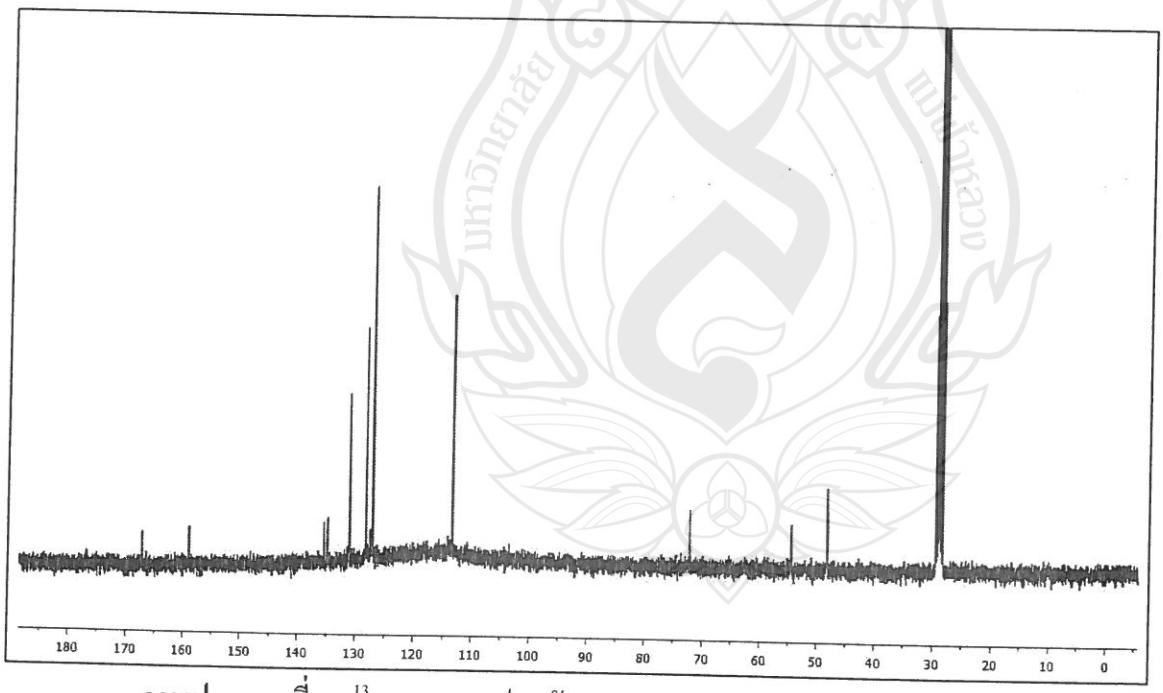
ภาพประกอบที่ 41 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI15** (400 MHz, $CDCl_3$)



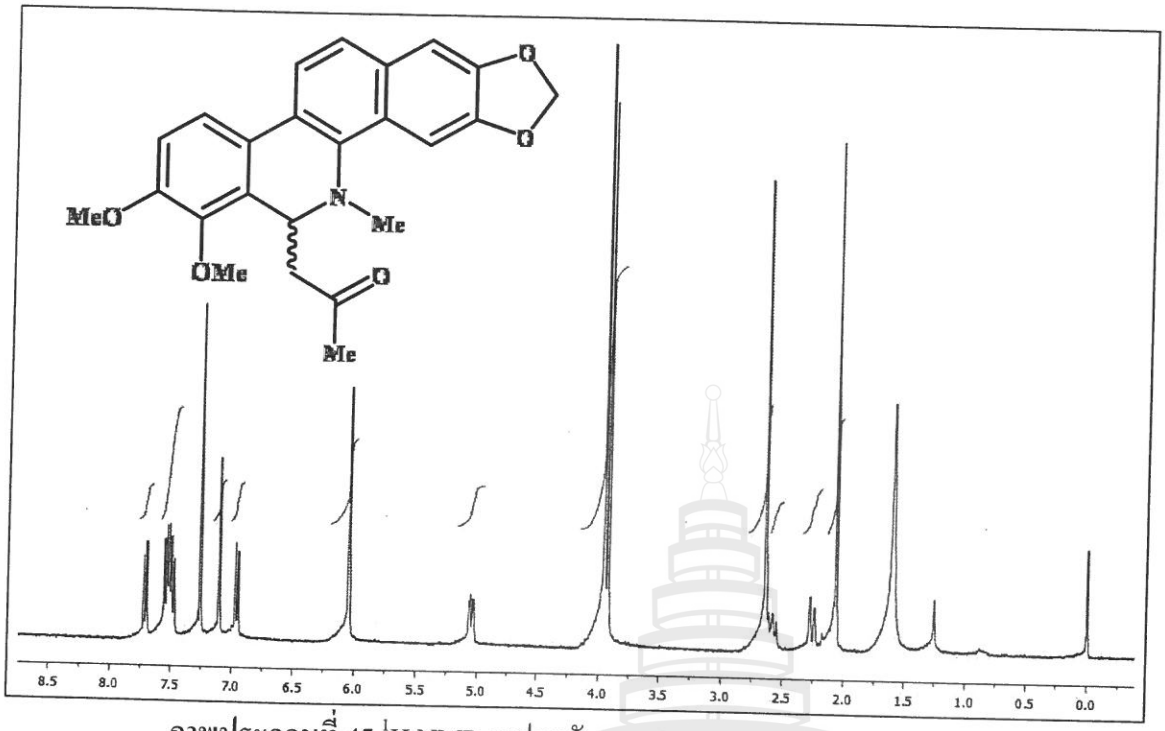
ภาพประกอบที่ 42 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI15** (100 MHz, $CDCl_3$)



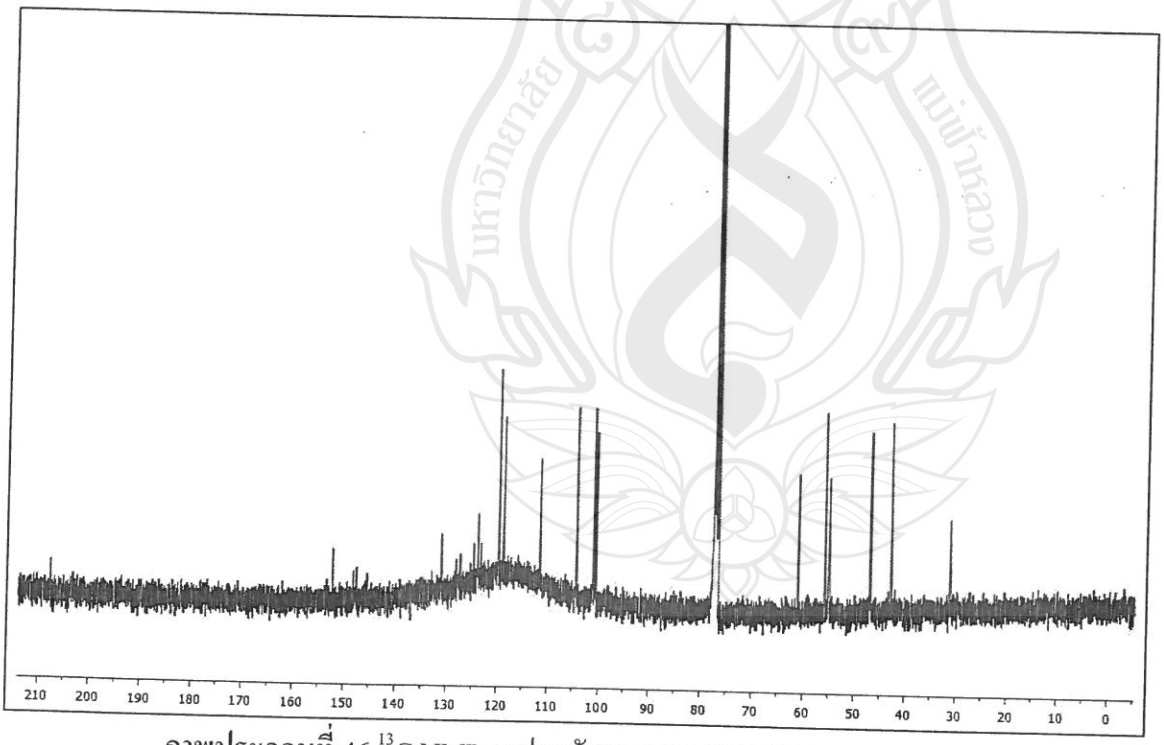
ภาพประกอบที่ 43 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI16** (400 MHz, Acetone-d_6)



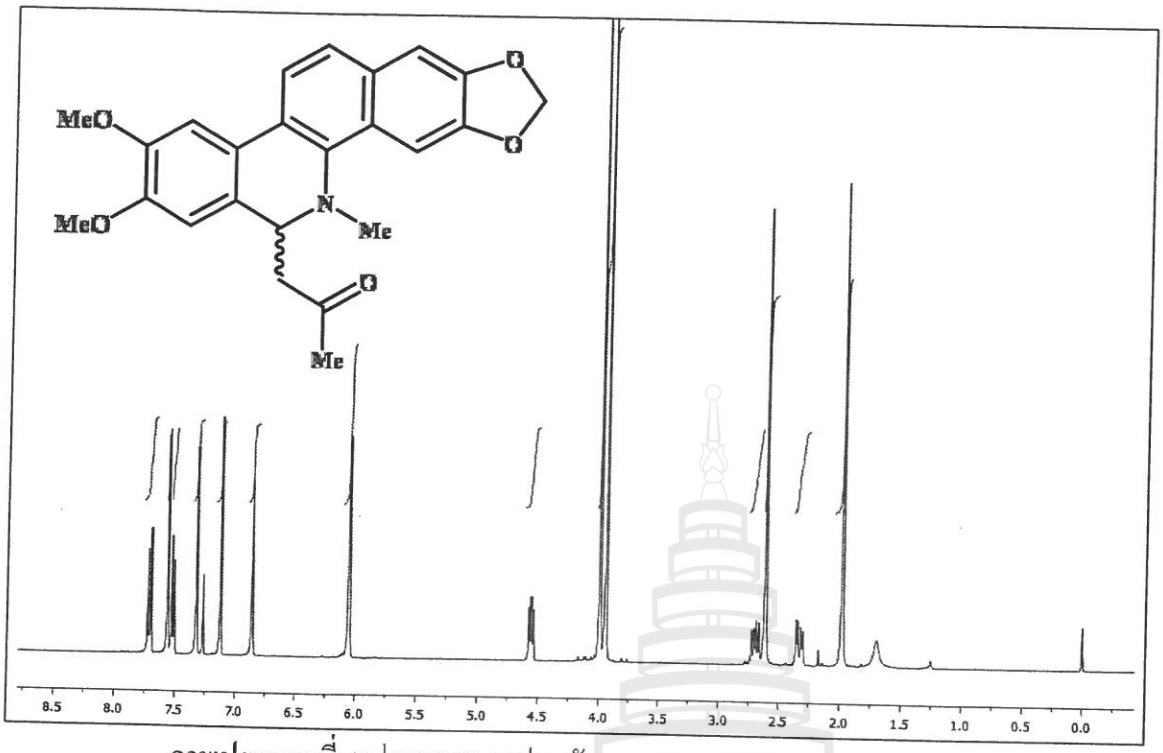
ภาพประกอบที่ 44 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI16** (100 MHz, Acetone-d_6)



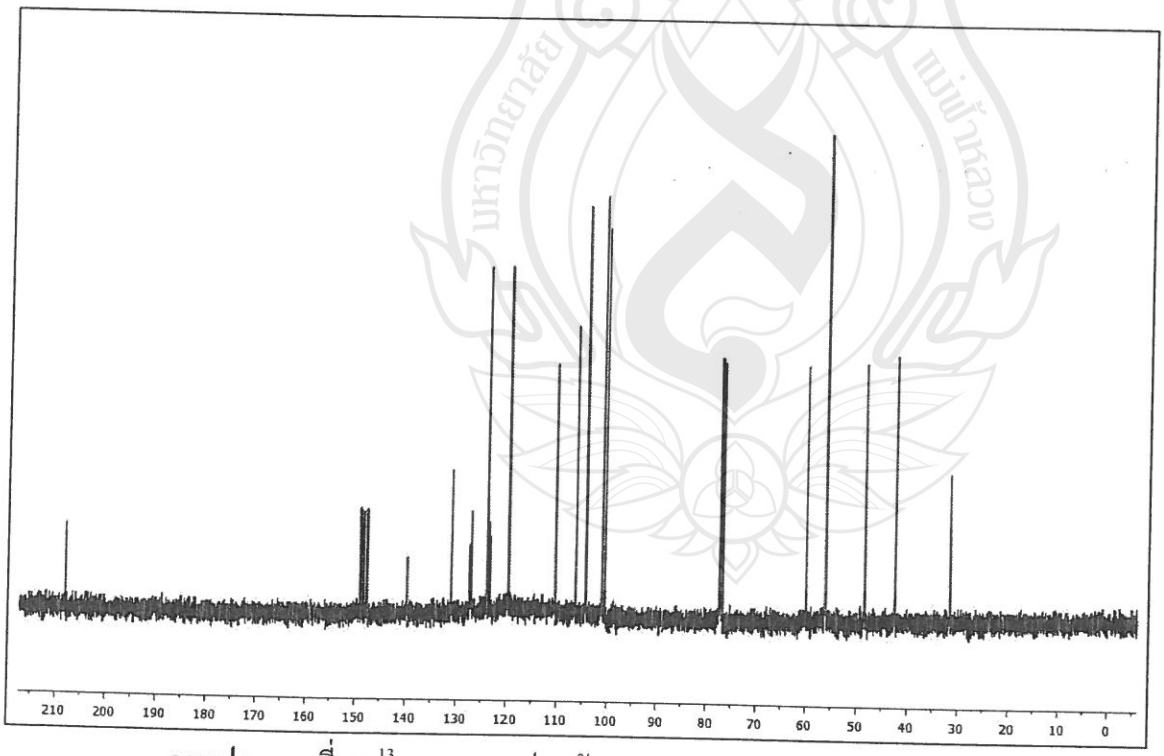
ภาพประกอบที่ 45 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI17** (400 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบที่ 46 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI17** (100 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบที่ 47 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร **FI18** (400 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบที่ 48 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร **FI18** (100 MHz, $CDCl_3$)

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ - สกุล (ภาษาไทย/ ภาษาอังกฤษ)

(ภาษาไทย) นายสุรัตน์ ละภูเขียว

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Surat Laphookhieo

2. ตำแหน่งปัจจุบัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail address

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ต.ท่าสุด อ. เมือง จ. เชียงราย 57100

โทรศัพท์ 0-5391-6778, 0-5391-6238 โทรสาร 0-5391-6776

E-mail: s.laphookhieo@sci.mfu.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

คุณวุฒิ	สาขาวิชา	สถาบัน	ปีที่จบ
ปริญญาเอก	เคมีอินทรีย์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2005
ปริญญาโท	เคมีอินทรีย์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2002
ปริญญาตรี	เคมี	มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี	1999

5. รางวัลที่ได้รับ

รางวัล	สถาบันที่มอบ	ปี พ.ศ.
พนักงานผู้มีผลงานวิจัยยอดเยี่ยม	มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง	2551
นักวิทยาศาสตร์รุ่นใหม่	สมาคมส่งเสริมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์	2552
โล่เชิดชูเกียรติ นักวิทยาศาสตร์รุ่นใหม่	มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง	2552
เงินทุนช่วยเหลือด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	มูลนิธิโทเรแห่งประเทศไทย	2553

6. ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2548- ปัจจุบัน อาจารย์ประจำสำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

เคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

8. ประวัติการนำเสนอผลงานวิจัย (5 ปีย้อนหลัง)

1. **Laphookhieo, S.;** Famakinwa, I.; Yousaf, M.; Shirode, A.; Wali, V.; Sylvester, P.; El Sayed, K. Biocatalytic and Semisynthetic Optimization of the Anticancer Tobacco Cembranoids. South Central Chapter of the Society of Toxicology. University of Louisiana at Monroe, Monroe, LA, USA, 12th -13th October **2006**.

2. **Laphookhieo, S.**; Promnart, P.; Maneerat, W.; Syer, J.K.; Kiatansakul, R.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Kanjana-Opas, A. "Phenolic compounds from the seeds of *Mammea siamensis*" The 33rd Congress on Science & Technology, Thailand (STT33). Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand. 18th -20th, October **2007**.

3. Maneerat, W.; Buatip, T.; **Laphookhieo, S.**; Koysomboon, S.; Kiattansakul, R.; Chantrapromma, S.; Fun, H.K.; Chantrapromma, K. "Limonoids from the seeds of *Chisocheton siamensis*" The 33rd Congress on Science & Technology, Thailand (STT33). Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand. 18th -20th, October **2007**.

4. Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Chantrapromma, K. "Cytotoxic limonoids from the seeds of *Chisocheton siamensis*" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON). Sofitel Centara Grand Bangkok, Bangkok, Thailand, 30th Jan– 1st Feb, **2008**.

5. **Laphookhieo, S.**; Koysomboon, S.; Chantrapromma, K. Antimalarial and cytotoxic activity of xanthones from *Cratoxylum maingayi*. The 34th Congress on Science & Technology, Thailand (STT34). Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok Thailand. 31st Oct-2nd Nov **2008**.

6. Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Koysomboon, S.; Chantrapromma, K. "Antimycobacterial limonoids from the seeds of *Chisocheton siamensis*" The 34th Congress on Science & Technology, Thailand (STT34). Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok Thailand. 31st Oct-2nd Nov **2008**.

7. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Narmdorkmai, W.; Koysomboon, S. Xanthones from the barks of *Cratoxylum cochinchinense*. Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON). Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. 14th – 16th Jan **2009**.

8. Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Prawat, U. Coumarins from Clausena lansium. Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON). Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. 14th – 16th Jan **2009**.

9. Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Prawat, U. Chemical constituents from *Clausena lansium*. The international congress for Innovation in Chemistry VI (PERCH-CIC Congress VI) 3rd -5th May 2009, Jomtein Palm beach Hotel, Pataya, Thailand.

10. Sripisut, T.; **Laphookhieo, S.**; Prawat, U.Chemical constituents from *Clausena excavate*. The international congress for Innovation in Chemistry VI (PERCH-CIC Congress VI) 3rd -5th May 2009, Jomtein Palm beach Hotel, Pataya, Thailand.

11. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; and Sripisut, T. Bioactive compounds from plants. The New (Phase) International Conference of Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (NICCEOCA-1), National Tsing Hua University, Taiwan 7-11 Nov 2010.

12. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; and Sripisut, T. Cytotoxic compounds from *Clausena lansium and C. excavate*. The 3rd Chinese Thailand workshop on natural products and drug discovery/ Xi' an, China, 17-21 Aug 2010.

13. Tantapakul, C. and **Laphookhieo, S**. Carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* stems. The 36th Congress on Science & Technology, Thailand (STT36). 26-28 Oct 2010.

14. Jeerapong, C.; Kruahong, T. and **Laphookhieo, S**. Flavones and dihydrochalcones from *Etlingila literlalis* rhizomes. The 36th Congress on Science & Technology, Thailand (STT36). 26-28 Oct 2010.

15. Siridechakorn, I.; Sripisut, T. and **Laphookhieo, S**. Coumarins from *Feronia limonia* roots. The 36th Congress on Science & Technology, Thailand (STT36). 26-28 Oct 2010.

16. Kueankham, A.; Maneerat, W. and **Laphookhieo, S**. Chemical constituents from *Clausena lansium* fruit peel. The 36th Congress on Science & Technology, Thailand (STT36). 26-28 Oct 2010.

9. ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย (5 ปีย้อนหลัง)

1. **Laphookhieo, S.**; Jones, S.; Raw, S. A.; Sainz, Y. F.; Taylor, R. J. K "Tandem oxidation procedures for the regioselective preparation of 5-substituted and 6- substituted 1,2,4-triazine" *Tetrahedron Lett.*, *47*, 3865-3870, **2006**.

2. Boonnak, B.; Karalai, C.; Chantrapromma,S.; Ponglimanont, C.; Fun, H. K.; Kanjana-Opas, A.; **Laphookhieo, S** "Bioactive prenylated xanthones and anthraquinones from *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*" *Tetrahedron*, *62*, 8850-8859, **2006**.

3. Cheenpracha, S.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Chantrapromma, K.; **Laphookhieo, S.** "Cassane-type diterpenes from the seeds of *Caesalpinia crista*" *Helv. Chim. Acta* 89, 1062-1066, **2006**.

4. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Kiattansakul, R. "Phenolic compounds from *Mammea siamensis* seeds" *Can. J Chem.*, *84*, 1546-1549, **2006**.

5. **Laphookhieo**, S.; Syers. J.K.; Kiattansakul, R.; Chantrapromma, K. "Cytotoxic and antimalarial prenylated xanthones from *Cratoxylum cochichinense*" *Chem. Pharm. Bull. 54*, 745-747, **2006**.

6. Jain, S.; **Laphookhieo, S.**; Shi, Z.; Fu, L.; Akiyama, S.; Chen, Z.-S.; Youssef, D. T. A.; van Soest, R. W. M.; El Sayed, K. A. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by Sipholane Triterpenoids. *J. Nat. Prod.*, *80*, 928-931, **2007**.

7. Maneerat,W; Fun, H. K.; Buatip, T.; **Laphookhieo, S.**; Chantrapromma. "6□-Acetoxyepoxyazadiradione" *Acta Cryst.*, *E63*, o3583-o3584, **2007**.

8. **Laphookhieo**, S.; Sroisuwan, P.; Syers. J.K.; Kanjana-Opas, A.; Ponglimanont, C.; Karalai, C. "Coumarins and xanthones from the seed of *Mammea siamensis*" *J. Braz. Chem. Soc. 18*, 1077-1080, **2007**.

9. Fun, H. K.; **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Chantrapromma, S. "2,8-Dihydroxy-1-(3-methylbut-2-enyl)-9H-Carbazole-3-carboxaldehyde,2,8-dihydroxy-1-(3-methyl-2-butenyl)". *Acta Cryst.*, *E63*, o3964-o3965, **2007**.

10. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Koysomboon, S.; Kiattansakul, R.; Chantrapromma, K.; Syers, J. K. "A novel limonoid from the seeds of Chisocheton siamensis" *Can J Chem. 86*, 205-208, **2008**.

11. El Sayed, K. A.; **Laphookhieo, S.**; Youssef, M; Prestridge, J. A.; Shirode, A.B.; Wali, V.B.; Sylvester, P.W. "Semisynthetic and biotranformation studies of (1S,2E,4S,6R,7E,11E)-2,7,11-cembratriene-4,6-diol" *J Nat Prod. 71*, 117-122, **2008**.

12. El Sayed, K.A.; **Laphookhieo, S.**; Baraka, H.N.; Yousaf, M.; Hebert, A.; Bagaley, D.; Rainey, F.A.; Muralidharan, A.; Thomas, S.; Shah, G.V. "Biocatalytic and semisynthetic optimization of the anti-invasive tobacco (1S,2E,4R,6R,7E,11E)-2,7,11-cembratriene-4,6-diol" *Bioorg. Med. Chem. 16*, 2886-2893, **2008**.

13. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Buatip, T.; Syers, J. K. "New xanthone from *Cratoxylum cochinchinense*" *Can J Chem. 86*, 754-760, **2008**.

14. Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Koysomboon, S.; Chantrapromma, K. Antimalarial, antimycobacterialandcytotoxiclimonoids from *Chisocheton siamensis*. *Phytomed. 15*, 1130-1134, **2008**.

15. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Narmdorkmai, W.; Koysomboon, S. "New xanthones from the barks and fruits of *Cratoxylum cochinchinense*". *Heterocycles*, *78*, 1299-1307, **2009**.

16. **Laphookhieo, S.**; Maneerat, W.; Koysomboon, S. "Antimalarial and cytotoxic phenolic compounds from *Cratoxylum maingayi* and *Cratoxylum cochinchinense*. *Molecules*, *14*, 1389-1395, **2009**.

17. **Laphookhieo, S.**; Sripisut, T.; Prawat, U.; Karalai, C. A new coumarin from *Clausena excavata*. *Heterocycles*. *78*, 2115-2119, **2009**.

18. Maneerat, W.; Prawat, U.; Seawan, N.; **Laphookhieo, S.**; New coumarins from *Clausena lansium* tawigs. *J. Braz. Chem. Soc. 21*, 665-668, **2010**.

19. Maneerat, W. and **Laphookhieo, S.** Antitumoral alkaloids from *Clausena lansium*. *Heterocycles*. 81, 1261-1269, **2010**.

20. Chantrapromma, S.; Jeerapong, J.; Kruahong, T.; **Laphookhieo, S.**; Fun, H.K. 1-(2,6-Dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenylpropan-1-one. *Acta Cryst. E66*, o1120–o1121, **2010**.

21. Sripisut, T. and **Laphookhieo, S.** Carbazole alkaloids from *Clausena excavata*. *J. Asian. Nat Prod*. 12, 614-617, **2010**.

22. Chantrapromma, S.; Jeerapong, J.; Kruahong, T.; **Laphookhieo, S.**; Fun, H.K. 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl-1-propanone. *Acta crystallogr*. E66, o1120-o1121, **2010**.

23. **Laphookhieo, S.**; Phungpunya, C.; Tantapakul, C.; Techa, S.; Tha-in, S.; Narmdokmai, W. Chemical constituents from *Aegle marmelos*. *J. Braz. Chem. Soc.* 22, 176-178, **2011**.

24. Jeerapong, C.; Cheenpracha, S.; Maneerat, W.; Kruahong, T.; Prawat, U.; **Laphookhieo, S.** The first hydroperoxy dihydrochalcone in the *Etlingera* genus: Etlinglittoralin from the rhizomes of *Etlingera littoralis*. *Heterocycles*. 83, 849-854, **2011**.

25. Cheenpracha, S.; Phakhodee, W.; Ritthiwigrom, T.; Prawat, U. **Laphookhieo, S.** A New Depsidone from the Twigs of *Garcinia cowa*. *Heterocycles*. 83, 1139-1144, **2011**.

26. Cheenpracha, S.; **Laphookhieo, S.** Alkaloids and amides from *Glycosmis macrophylla*. *Phytochemistry Letters*. 4, 187-189, **2011**.

27. Maneerat, W.; Tha-in, S.; Cheenpracha, S.; Prawat, U.; **Laphookhieo, S.** New amides from the seeds of *Clausana lansium*. *J. Med Plants Res.* **2011** (In press).

28. Sripisut, T.; Cheenpracha, S.; **Laphookhieo, S.** Chemical constituents from the roots of *Feroniella lucida*. *J. Asian. Nat Prod*.13, 556-560, **2011**.

29. Maneerat, W.; Ritthiwigrom, T.; Cheenpracha, S.; Prawat, U.; **Laphookhieo, S.** Clausenawallines A and B, two new dimeric carbazole alkaloids from the roots of *Clausena wallichii*. *Tetrahedron Letters*. 52, 3303-3305, **2011**.

30. Fun, H.K.; Maneerat, W.; **Laphookhieo, S.**; Chantrapromma, S. Glycozolidal. *Acta Cryst. E67*, o1811–o1812, **2011**.

31. Fun, H.K.; Siridechakorn, I.; **Laphookhieo, S.**; Chantrapromma, S. Absolute configuration of micromelin. *Acta Cryst. E67*, o1706–o1707, **2011**.