

องค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของราก *Glochidion daltonii*

Chemical components from Dichloromethane extracts of *Glochidion daltonii* roots (Euphorbiaceae)

กัณฑิมา สว่างวงศ์ และ วารี เนื่องจางค์*

Kantima Sawangwong and Waree Naengchomnong*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของราก *Glochidion daltonii* ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี และการตกผลึกพบว่าได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาว มีจุดหลอมเหลว 158- 160 °C นำสารบริสุทธิ์ที่ได้มาพิสูจน์เอกลักษณ์โดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี ด้วยเทคนิค ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-90 และ DEPT-135 และเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกโตรสโคปีกับสารอ้างอิง พบว่าสารบริสุทธิ์ที่ได้จากส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของราก *G. daltonii* คือ Glochidone

คำสำคัญ : *Glochidion daltonii* / *Glochidion* / Glochidone

Abstract

The isolation of pure compound from dichloromethane extracts of *G. daltonii* roots was carried out by chromatographic and crystallization techniques gave one pure compound, white needle crystal, melting point 158 – 160°C. The structure of this pure compound was identified by spectroscopic techniques ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-90 and DEPT-135 and compared these data with reference spectra of triterpene compound. The results show that pure compound is Glochidone.

Keywords : *Glochidion daltonii* / *Glochidion* / Glochidone

*Corresponding author. E-mail: wareenaeng@buu.ac.th

1. บทนำ

พืชสกุล *Glochidion* วงศ์ Euphorbiaceae นิยมนำมาทำเป็นยาสมุนไพร พบว่าส่วนต่างๆ ของพืชสกุลนี้ใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ในด้านการแพทย์ เช่น รากและลำต้นของ *G. perakensis* (เทศบาลเมืองทุ่งสง, 2550) ใช้เป็นยาแก้ร้อนในช่วยบำรุงกำลัง ใบของ *G. acuminatum* (โครงการเผยแพร่ข้อมูลทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นบนพื้นที่สูง, 2553) ใช้รักษาโรคไข้หวัด และอาการไม่มีแรง อ่อนเพลีย เปลือกบรเทศอาการปวดฟัน รากของ *G. rubrum* (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช, 2544) ใช้ต้มน้ำดื่มแก้อาการปวดท้อง จะเห็นได้ว่าพืชในสกุลนี้มีประโยชน์มากในด้านการแพทย์และเภสัชวิทยา *G. daltonii* เป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่อยู่ในสกุลนี้ ประกอบกับมีสรรพคุณช่วยในการรักษาโรคได้ เช่น รากสามารถนำมาต้มเป็นยาแก้ท้องผูก ยาขับลม ดังนั้น *G. daltonii* จึงเป็นพืชที่น่าสนใจ จึงนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเพื่อนำสารบริสุทธิ์ มาประเมินคุณค่าทางเภสัชวิทยา การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความปลอดภัย เพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

2. วิธีทดลอง

นำรากของ *G. daltonii* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งเก็บกรมป่าไม่เก็บในเดือนมิถุนายน 2553 มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปตากแห้งและบดให้ละเอียด นำสารตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียด 3 kg มาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไประเหย ตัวทำละลายให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน และดูดด้วยเครื่องสุญญากาศ จนได้ส่วนสกัดแบบหยาบเฮกเซน ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำส่วนสกัดหยาบทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน จากนั้นนำกากที่เหลือมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 3 ครั้งในทำนองเดียวกัน ได้ส่วนสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน หนัก 19.00 g

นำส่วนสกัดหยาบมาแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยมีซิลิกาเจล 60 (0.063-0.200 mm, Merck) เป็นตัวดูดซับ ละเอียดด้วยตัวทำละลายระบบ gradient elution เริ่มชะด้วยเฮกเซนและเพิ่มความเข้มข้นด้วยเอทิลอะซิเตท จากนั้นเติม 100% เมทานอล เพื่อชะสารสกัดที่อยู่ในคอลัมน์ออกมาทั้งหมด ทำการเก็บสารละลายที่ออกมาจากคอลัมน์ครั้งละ 125 mL แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนให้แห้ง นำมาทดสอบด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) สารที่มีลักษณะ TLC เหมือนกันรวมเป็น fraction เดียวกัน นำสารที่แยกได้ไประเหยตัวทำละลายจนแห้ง และทำให้แห้งด้วยเครื่องสุญญากาศ fraction ที่บริสุทธิ์จากการทดสอบ TLC จะนำไปตกผลึกเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ ส่วน fraction ที่ยังไม่บริสุทธิ์จะทำการแยกต่อด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีจนได้สารบริสุทธิ์ จากนั้นนำสารบริสุทธิ์มาตกผลึกใหม่ โดยเติมตัวทำละลายที่เหมาะสม นำไปให้ความร้อนเพื่อละลายสารตัวอย่าง กรองสารตัวอย่างขณะร้อนเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนออก ตั้งทิ้งไว้ให้สารตกผลึก ทำการกรองด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ ล้างผลึกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ทำให้แห้งด้วยเครื่องสุญญากาศ นำผลึกที่ได้ไปพิสูจน์พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีเพื่อหาสูตรโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$, DEPT-90 และ DEPT-

3. ผลการทดลองและอภิปราย

จากการนำส่วนสกัดหยาบไดคอลลอโรมีเทนของราก *G. daltonii* น้ำหนัก 19.00 g มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี แยกสารได้ทั้งหมด 8 fraction ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะและน้ำหนักของ fraction ที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบไดคอลลอโรมีเทนของราก *G. daltonii*

Fraction	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (g)
F1	ของเหลวหนืดสีเหลือง	2.1288
F2	ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน	0.5396
F3	ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน	1.6312
F4	ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน	2.8557
F5	ของเหลวหนืดสีเหลือง	1.3841
F6	ของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม	0.9663
F7	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอ่อน	2.4275
F8	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม	0.7925

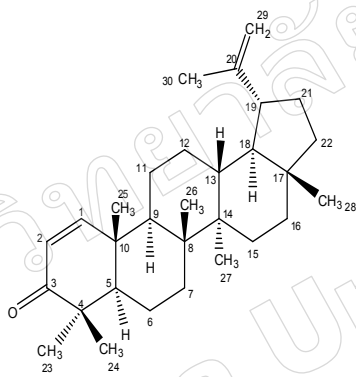
เนื่องจากสารที่แยกได้ในแต่ละ fraction ยังไม่บริสุทธิ์ จึงนำทั้ง 8 fraction ไปแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าจากการแยก fraction ที่ 1 ด้วย 5% เอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 5 fraction ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะและน้ำหนักของ fraction ที่แยกได้จาก fraction ที่ 1.1

Fraction	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (g)
F1.1	ของแข็งสีขาว	2.3890
F1.2	ของเหลวหนืดใส	0.3728
F1.3	ของเหลวหนืดใส	0.1140
F1.4	ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน	0.1359
F1.5	ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน	0.0503

จากการทดสอบด้วย TLC พบว่า fraction 1.1 เป็นสารบริสุทธิ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จึงนำไปตกผลึกใหม่ด้วยเฮกเซน ได้ผลึกรูปเข็มสีขาว น้ำหนัก 2.3890 กรัม นำผลึกที่ได้มาทำการพิสูจน์เอกลักษณ์และหาสูตรโครงสร้าง ด้วยเครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เปกโทรสโกปีเทคนิค ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-90 และ DEPT-135 ดังตารางที่ 3 และ 4 และจุดหลอมเหลวมีค่าเท่ากับ $161 - 162^\circ\text{C}$

การแยกผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของราก *G. daltonii* ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีและการตกผลึกพบว่าได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิดจาก fraction ที่ 1.1 นำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-90 และ DEPT-135 ได้ข้อมูลดังตารางที่ 3 และ 4 จากข้อมูล ^{13}C NMR แสดงจำนวนคาร์บอนทั้งหมด 30 คาร์บอน ซึ่งใกล้เคียงกับสารกลุ่ม Triterpenoids และเมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลทาง NMR กับงานวิจัยต่างๆ พบว่า ข้อมูลทาง NMR ของ สารบริสุทธิ์ที่ได้มีข้อมูลใกล้เคียงกับ Glochidone (Aguiar *et al.*, 2005; Reyes *et al.*, 2006) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้าง Glochidone

ตารางที่ 3 ค่าchemical shift (^{13}C NMR) และ ค่าchemical shift (^1H NMR) ของ Glochidone กับสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัด

ไดคลอโรมีเทนของราก *G. daltonii*

ชนิดของคาร์บอนโปรตอน	ตำแหน่ง	ค่า δ_{C} (ppm)		ค่า δ_{H} (ppm)		ชนิดของคาร์บอน/โปรตอน	ตำแหน่ง	ค่า δ_{C} (ppm)		ค่า δ_{H} (ppm)	
		δ_{C} Glochidone	δ_{C} สารบริสุทธิ์	δ_{H} Glochidone	δ_{H} สารบริสุทธิ์			δ_{C} Glochidone	δ_{C} สารบริสุทธิ์	δ_{H} Glochidone	δ_{H} สารบริสุทธิ์
CH_3	23	27.79	27.81	1.13	1.10	CH	1	159.94	159.68	7.10 (d) J= 10 Hz	7.11 (d) J= 10.19 Hz
	24	21.41	21.52	1.07	1.04		2	125.13	125.25	5.70 (d) J= 10 Hz	5.79 (d) J= 10.15 Hz
	25	19.20	19.29	1.08	1.08		5	53.42	53.56	1.55	1.55
	26	16.45	16.57	1.10	1.10		9	44.42	44.55	1.75	1.75
	27	14.42	14.55	0.96	0.97		13	38.22	38.33	1.90 (t) J=10.9 Hz	1.92 (m)
	28	18.03	18.17	0.65	0.67		18	48.14	48.25	1.45	1.45
	30	19.32	19.47	1.59	1.60		19	47.29	47.95	2.40	2.41
CH_2	6	19.01	19.12	1.35, 1.90	1.33, 1.90	C	3	205.63	205.21		
	7	33.75	33.89	1.44	1.43		4	44.65	44.67		
	11	21.24	21.36	-	1.95		8	41.75	41.84		
	12	25.09	25.19	1.98	1.98		10	39.55	39.61		
	15	27.36	27.48	1.24, 1.40	1.23, 1.40		14	43.01	43.08		
	16	35.48	35.66	1.45, 1.56	1.48, 1.60		17	43.10	43.18		
	21	29.78	29.91	1.40, 2.01	1.40, 2.00		20	150.77	150.55		
	22	39.96	40.07	1.31, 1.40	1.32, 1.40						
	29	109.49	109.68	4.50(d), 4.70(d) J=1.1 Hz	4.61, 4.72						

จากข้อมูล ^{13}C NMR ของสารบริสุทธิ์ตารางที่ 3 พบว่า ตำแหน่งที่ 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30 ค่า chemical shift ที่ 27.81, 21.52, 19.29, 16.57, 14.55, 18.17, 19.47 ppm เป็นพีคของ methyl carbon (CH_3) 7 หมู่ ตามลำดับ ตำแหน่งที่ 6, 7, 11, 12, 15, 16, 21, 22 และ 29 ค่า chemical shift ที่ 19.12, 33.89, 21.36, 25.19, 27.48, 35.66, 29.91, 40.07 และ 109.68 ppm เป็นพีคของ methylene carbon ($-\text{CH}_2-$) 9 หมู่ ตามลำดับ ตำแหน่งที่ 1, 2, 5, 9, 13, 18, 19 ค่า chemical shift ที่ 159.68, 125.25, 53.56, 44.55, 38.33, 48.25, 47.95 ppm เป็นพีคของ methine carbon ($-\text{CH}-$) 7 หมู่ ตามลำดับ ตำแหน่งที่ 3, 4, 8, 10, 14, 17, 20 ค่า chemical shift ที่ 205.21, 44.67, 41.84, 39.61, 43.08, 43.18 และ 150.55 ppm เป็นพีคของ quaternary carbon ($-\text{C}-$) 7 หมู่ ตามลำดับ

จากข้อมูล ^1H NMR ของสารบริสุทธิ์ตารางที่ 3 พบว่า ตำแหน่งที่ 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30 ค่า chemical shift ที่ 1.10, 1.04, 1.08, 1.10, 0.97, 0.67, 1.60 ppm (s) เป็นพีคของ methyl proton (CH_3) 7 หมู่ ตามลำดับ ตำแหน่งที่ 29 ค่า chemical shift ที่ 4.61, 4.72 ppm (d) เป็นพีคของ methylene proton ($-\text{CH}_2-$) 1 หมู่ ตำแหน่งที่ 6, 7, 11, 12, 15, 16, 21, 22 ค่า chemical shift อยู่ระหว่าง 1.23 – 2.00 ppm (s) เป็นพีคของ methylene proton ($-\text{CH}_2-$) 8 หมู่ ตามลำดับ ตำแหน่งที่ 1 ค่า chemical shift ที่ 7.11 ppm (d) $J = 10.19$ Hz เป็นพีคของ methine proton ($-\text{CH}-$) 1 หมู่ ตำแหน่งที่ 2 ค่า chemical shift ที่ 5.79 ppm (d) $J = 10.15$ Hz เป็นพีคของ methine proton ($-\text{CH}-$) 1 หมู่ ตำแหน่งที่ 19 ค่า chemical shift ที่ 2.41 ppm เป็นพีคของ methine proton ($-\text{CH}-$) 1 หมู่ ตำแหน่งที่ 5, 9, 13, 18 ค่า chemical shift ที่ 1.55, 1.75, 1.92, 1.45 ppm (m) เป็นพีคของ methine proton ($-\text{CH}-$) 4 หมู่

จากนั้นทำการยืนยันสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค DEPT-90 และ DEPT-135 ให้ข้อมูลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า chemical shift ของ DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารบริสุทธิ์

ชนิดของคาร์บอน	ตำแหน่งโปรตอน	ค่า δ (ppm)		ชนิดของคาร์บอน	ตำแหน่งโปรตอน	ค่า δ (ppm)	
		DEPT-90	DEPT-135			DEPT-90	DEPT-135
CH_3	23	-	27.79	CH_3	27	-	14.42
	24	-	21.17		28	-	18.10
	25	-	19.20		30	-	19.37
	26	-	16.47				

ตารางที่ 4 (ต่อ) ค่า chemical shift ของ DEPT-90 และ DEPT-135 ของสารบริสุทธิ์

ชนิดของคาร์บอน	ตำแหน่งคาร์บอน	ค่า δ (ppm)		ชนิดของคาร์บอน	ตำแหน่งคาร์บอน	ค่า δ (ppm)	
		DEPT-90	DEPT-135			DEPT-90	DEPT-135
C	3	-	-	CH	1	159.63	159.63
	4	-	-		2	125.13	125.13
	8	-	-		5	53.41	53.41
	10	-	-		9	44.39	44.38
	14	-	-		13	38.27	38.27
	17	-	-		18	48.14	48.13
	20	-	-		19	47.84	47.84
CH ₂	6	-	19.01	CH ₂	16	-	35.60
	7	-	33.80		21	-	29.39
	11	-	21.39		22	-	39.90
	12	-	25.08		29	-	109.60
	15	-	27.34				

จากข้อมูล DEPT-90 ที่ค่า chemical shift ที่ 159.63, 125.13, 53.41, 44.39, 38.27, 48.14, 47.84 ppm เป็นพีคของ methine carbon (CH-) 7 พีค ที่ตำแหน่ง 1, 2, 5, 9, 13, 18 และ 19 ตามลำดับ จากข้อมูล DEPT-135 ที่ค่า chemical shift ที่ 159.63, 125.13, 53.41, 44.38, 38.27, 48.13, 47.84 ppm เป็นพีคของ methine carbon (CH-) 7 พีค ที่ตำแหน่ง 1, 2, 5, 9, 13, 18 และ 19 ตามลำดับ ค่า chemical shift ที่ 19.01, 33.80, 21.39, 25.08, 27.34, 35.60, 29.39, 39.90 ppm เป็นพีคของ methylene carbon (-CH₂-) 9 พีค ที่ตำแหน่ง 6, 7, 11, 12, 15, 16, 21, 22 และ 29 ตามลำดับ ค่า chemical shift ที่ 27.79, 21.17, 19.20, 16.47, 14.42, 18.10 และ 19.37 ppm เป็นพีคของ methyl carbon (CH₃) เมื่อนำข้อมูลของ DEPT-90 และ DEPT-135 มาเปรียบเทียบกับ ¹³C NMR พบว่าเป็นพีคของ methine carbon (-CH-) ทั้งหมด 7 พีค เป็นพีคของ methylene carbon(-CH₂-) ทั้งหมด 9 พีค และเป็นพีคของ methyl carbon (-CH₃-) ทั้งหมด 7 พีค และนำข้อมูลของ DEPT-90 และ DEPT-

135 มาเปรียบเทียบกับ ^{13}C NMR พบว่าพีคที่เหลือเป็นพีคของ quaternary carbon (-C-) ทั้งหมด 7 พีคซึ่งไม่แสดงผลใน DEPT-90 และ DEPT-135

จากการเปรียบเทียบข้อมูล ^1H และ ^{13}C NMR ของสารบริสุทธิ์กับ Glochidone ดังตารางที่ 3 พบว่ามีค่าเท่ากันทุกประการ และทำการยืนยันสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค DEPT-90 และ DEPT-135 และจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกัน (จุดหลอมเหลวอ้างอิง $163 - 164^\circ\text{C}$) จึงสรุปว่าสารบริสุทธิ์ ที่ได้จากส่วนหยาบสกัดไดคอลลอโรมีเทนของราก *G. daltonii* คือ Glochidone

ในการแยกผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติจากส่วนหยาบสกัดไดคอลลอโรมีเทนของราก *G. daltonii* ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิดคือ Glochidone ซึ่งเป็นสารใหม่จาก *G. Daltonii* และเคยได้จาก *G. sphaerogynum* และ *G. eriocarpum* (Puapairoj *et al.*, 2005) ในการนี้ควรนำสารบริสุทธิ์ที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางการแพทย์และด้านอื่นๆ ต่อไป

4. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้การอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

5. เอกสารอ้างอิง

โครงการเผยแพร่ข้อมูลทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นบนพื้นที่สูง (2553). *ไคร้ร่ม*. วันที่สืบค้นข้อมูล 22 ตุลาคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://eherb.hrdi.or.th/search_result_details.php

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ. (2544). *กระดุมผี (Glochidion rubrum)*. วันที่สืบค้นข้อมูล 22 ตุลาคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/plantdat/euphorbi/grubru_1.htm

เทศบาลเมืองทุ่งสง. (2550). *ผักพื้นบ้านนครศรีธรรมราช 103 ชนิด: มันปู*. วันที่สืบค้นข้อมูล 22 ตุลาคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://www.tungsong.com/NakhonSri/vegetable/group_1/1_27.html

Aguiar, R.M., David, J.P., and David, J.M. (2005). Unusual naphthoquinones, catechin and triterpene from *Byrsonima microphylla*. *Phytochemistry*, 66, 2388-2392.

Puapairoj, P., Naengchomng, W., Kijjoa, A., Pinto, M.M., Pedro, M., Nascimento, M.S.J., Silva, A.M.S. and Herz, W. (2005). Cytotoxic Activity of Lupane-Type Triterpenes from *Glochidion sphaerogynum* and *Glochidion eriocarpum* Two of which Induce Apoptosis. *Planta Medica*, 71(3), 208-213.

Reyes, C.P., Nunez, M.J., Jimenez, I.A., Busserolles, J., Alcaraz, M.J., and Bazzocchi, I.L. (2006). Activity of Lupane triterpenoids from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E₂. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 14, 1573-1579.

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University