กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านการอักเสบจากงิ้ว” สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากบุคลากรและหน่วยงานหลายฝ่าย คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ประจำปีงบประมาณ 2551

ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร พิทยา ตันติเวชวุฒิกุล มหาวิทยาลัยศิลปากร และรองศาสตราจารย์ ดร อุมา ประวัติ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำทางด้านวิชาการ เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการวิจัย การทดสอบ การแปลผลข้อมูลทาง NMR

รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณพร อิฐรัตน์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และดร.ดลรวี ลีลารุ่งระยับ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์ ในการทดสอบ COX-2 และ iNOS

คุณ ณรงค์ นันทะแสน นักวิชาการ 8 กรมป่าไม้ ที่กรุณาพิสูจน์เอกลักษณ์ของงิ้ว

คุณ ธนิตศักดิ์ หิรัญบุณยพงศ์ ผู้อำนวยการโรงเรียนอนุบาลสรรคบุรี ผู้เอื้อเฟื้อจัดหาและกรุณาแนะนำแหล่งของวัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม โปรแกรมวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประภาพร ภูริปัญญาคุณ หัวหน้าโครงการ

นางอุษณีย์ ใบบัว ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านการอักเสบจากงิ้ว

Chemical Constituents and Anti-inflammatory Activities from *Bombax anceps.* Pierre

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณประจำปี พ.ศ. 2551

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

ชื่อผู้วิจัย 1. ผศ. ประภาพร ภูริปัญญาคุณ (หัวหน้าโครงการวิจัย)

39/1 สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม แขวง จันทรเกษม เขตจัตุจักร กรุงเทพมหานคร โทร. 02-9426900-99 ต่อ 5167 – 5168 มือถือ 086-0935969

2. นางอุษณีย์ ใบบัว (ผู้ร่วมวิจัย)

39/1 สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม แขวง จันทรเกษม เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร โทร. 02-9426900-99 ต่อ 5167 – 5168

บทคัดย่อ

งิ้วป่าดอกขาว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bombax anceps* Pierre ตำรับยาพื้นบ้านมีความเชื่อว่าสามารถรักษาอาการอักเสบได้ การวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของงิ้วป่าดอกขาว และได้ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดของดอกและใบงิ้วดอกขาวโดยการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ COX-2 เอนไซม์ iNOS และได้นำสารสกัดของดอกงิ้วดอกขาวทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูทดลอง ผลการศึกษางิ้วป่าดอกขาว ในด้านคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าดอกงิ้วตากแห้งมีความชื้น 17.60% เถ้า 4.57% โปรตีน 6.46% ไขมัน 9.32% เส้นใย 22.60% และคาร์โบไฮเดรต 39.45% ใบงิ้วตากแห้งมีความชื้น 10.53% เถ้า 16.29% โปรตีน 9.20% ไขมัน 1.96 % เส้นใย 28.60% และคาร์โบไฮเดรต 33.42% เมื่อเปรียบเทียบกับงิ้วดอกแดงตากแห้งซึ่งมีผู้รายงานไว้ พบว่างิ้วป่าดอกขาวนี้มีคุณค่าทางโภชนาการเช่นเดียวกับงิ้วดอกแดง ได้นำสารสกัดของ *B. anceps* มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ใช้ BHA เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน พบว่าสารสกัดเอทานอลของดอกงิ้ว มีค่า IC_{50} 0.046 mg/mL สารสกัดเมทานอลของใบงิ้วมีค่า IC_{50} 0.112 mg/mL และ BHA มีค่า IC_{50} 0.016 mg/mL ได้นำดอกงิ้วมาสกัดด้วยเอทิลแอซีเตตและเมทานอล หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเอทิลแอซีเตตของดอกงิ้วแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และยืนยันโครงสร้างของสารประกอบด้วยจุดหลอมเหลว, ข้อมูล ^1H NMR , EIMS และ high resolution mass spectral data พบสารประกอบ 6 ชนิดคือ 2-butoxyethylacetate ซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (NCI-H187),

7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (vanillic acid) , 4-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde) and (3*E*)-2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol นำสารสกัดเมทานอลของดอกงิ้วมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องGC-MS พบสาร cycacin และกรด quinic (32.16 และ 14.86% ของสารทั้งหมดที่บันทึกได้) นำใบงิ้วมาสกัดด้วยเมทานอลและวิเคราะห์สารที่มีอยู่ด้วยวิธีการเดียวกัน ได้สาร phytol กรดปาล์มมิติก และกรด quinic (54.09, 18.39 และ 13.14% ของสารทั้งหมดที่บันทึกได้) สำหรับฤทธิ์ต้านการอักเสบ ได้ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้ง COX-2 ซึ่งใช้หลักการทดสอบหาการยับยั้งเอนไซม์ในหลอดทดลอง พบว่าที่ความเข้มข้น 100 µg/mL ของสารสกัดเมทานอลของดอกงิ้วและใบงิ้วมีค่า % inhibition 23% และ 4% ตามลำดับ ค่า IC_{50} มีค่ามากกว่า 100 µg/mL ส่วนการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ iNOS ของสารสกัดเอทานอลของดอกงิ้วและสารสกัดเมทานอลของใบงิ้วที่ความเข้มข้น 1µg/mL, 10 µg/mL และ100 µg/mL พบว่าสารสกัดดอกงิ้วสามารถยับยั้งเอนไซม์ iNOSได้ โดยมีเอนไซม์ iNOS เหลืออยู่ 2.292±0.145, 0.989±0.231 และ0.537±0.123 pg/50µg โปรตีนตามลำดับ สารสกัดใบงิ้วมีเอนไซม์ iNOS เหลืออยู่ 2.199± 0.432, 2.169 ± 0.265 และ 1.883 ±0.112 pg/50µg โปรตีนตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุมซึ่งมีเอนไซม์ iNOS เหลืออยู่ 2.706 ±0.232 pg/50µgโปรตีน กล่าวได้ว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน สารสกัดดอกงิ้วมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ iNOS ได้ดีกว่าสารสกัดใบงิ้ว ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยใช้ rat paw edema โดยใช้ phenylbutazone ขนาด 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวของหนูขาว เป็น positive control สามารถลดการอักเสบของหนูได้ 36.48, 67.47 และ 67.13% หลังจากฉีด carrageenan ไปแล้วในชั่วโมงที่ 1, 2 และ 3 พบว่าสารสกัดเอทานอลของดอกงิ้วขนาด 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัวของหนูขาวเพศผู้ มีผลยับยั้งการอักเสบได้มากกว่า 40% ในชั่วโมงที่ 2 และ 3 หลังจากมีการอักเสบเกิดขึ้น ผลการทดสอบข้างต้นได้ผลสอดคล้องกันว่าสารสกัดดอกงิ้วมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้

Abstract

According to the folklore medicine, the plant *Bombax anceps* Pierre possesses anti-inflammatory property. In this study, the nutritional values of the flowers and the leaves of *B. anceps*, the white flower species, have been evaluated. The antioxidative effects of the extracts of the flowers and the leaves of this plant species were also evaluated. The crude extracts of the flowers and the leaves have been tested for anti-inflammatory properties by investigating their effects on the inhibition of enzyme COX-2, enzyme iNOS and the crude extract of the flowers has also been tested with the model rat paw edema. The nutritional values of the dry flowers were

17.60 % moisture, 4.57 % ash , 6.46 % protein, 9.32 % fat, 22.60 % crude fiber and 39.45 % carbohydrate whereas those of the dry leaves were 10.53% moisture, 16.29 % ash, 9.20% protein, 1.96% fat, 28.60 % crude fiber and 33.42 % carbohydrate. The nutritional values of *B. anceps* were comparable to those reported for the red flower species, *B. ceiba*. The antioxidative effects of the ethanol extract of the flowers and the methanol extract of the leaves of *B. anceps* were evaluated using DPPH assay and their IC_{50} values were 0.046 and 0.112 mg/mL, respectively, while the IC_{50} of BHA (standard antioxidant) was 0.017 mg/mL.The flowers of *B. anceps* were extracted successively with ethylacetate. Extensive chromatography of the EtOAc extract of the flowers of *B. anceps* led to the isolation of six compounds which have been identified as 2-butoxyethyl acetate which showed anticancer activity against NCI-H187 (small cell lung cancer), 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (vanillic acid), 4-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde) and (3*E*)-2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol on the basis of their physical and spectroscopic data (m.p , ^{1}H NMR, EIMS and high resolution mass spectral data). The MeOH extract of the flowers of *B. anceps* was investigated by GC-MS method and cycacin and quinic acid (32.16 and 14.86% of the total compounds recorded, respectively) were identified. The MeOH extract of the leaves of *B. anceps* was similarly studied by the same method and phytol 54.09 % hexadecanoic acid (palmitic acid) 18.39 % and quinic acid 13.14 % (54.09, 18.39 and 13.14% of the total compounds recorded, respectively) were identified. The methanol extract of the flowers and leaves of *B. anceps* showed the effect on the inhibition of enzyme COX-2 at the concentration 100 µg/mL of 23% and 4% respectively. The effect on the inhibition of enzyme iNOS of the ethanol extract of the flowers at the concentration 1 µg/mL, 10 µg/mL and 100 µg/mL could reduced the iNOS, with 2.292±0.145, 0.989± 0.231 and 0.537 ± 0.123 pg/50 µg of remaining protein, respectively. The methanol extract of the leaves at concentration 1 µg/mL, 10 µg/mL and 100 µg/mL could reduced the iNOS, with 2.199±0.432, 2.169± 0.265 and 1.883 ± 0.112 pg/50 µg of remaining protein, respectively, whereas the control showed the remaining iNOS of 2.706 ±0.232 pg/50µg protein. It could be concluded that, at the same concentration, the crude extract of the flowers inhibited the iNOS enzyme better than that of the leaves. The anti-inflammatory activity evaluation of the crude extract of the flowers by oral administration in rats was undertaken. The test was performed using carrageenan-induced hind rat paw edema model and the result indicated that phenylbutazone at a dose of 250 mg/kg body weight, which was used as the positive control, could reduce rat paw edema by 36.48, 67.47 and 67.13% after carrageenan

injection for 1, 2 and 3 hrs respectively whereas the *B. anceps* extract at 1,000 mg/kg body weight of male rats has significantly decreased rat paw edema of more than 40% at 2 and 3 hrs after inflammation. The results indicated that the *B. anceps* extract exhibited an anti-inflammatory