

บทที่ 4

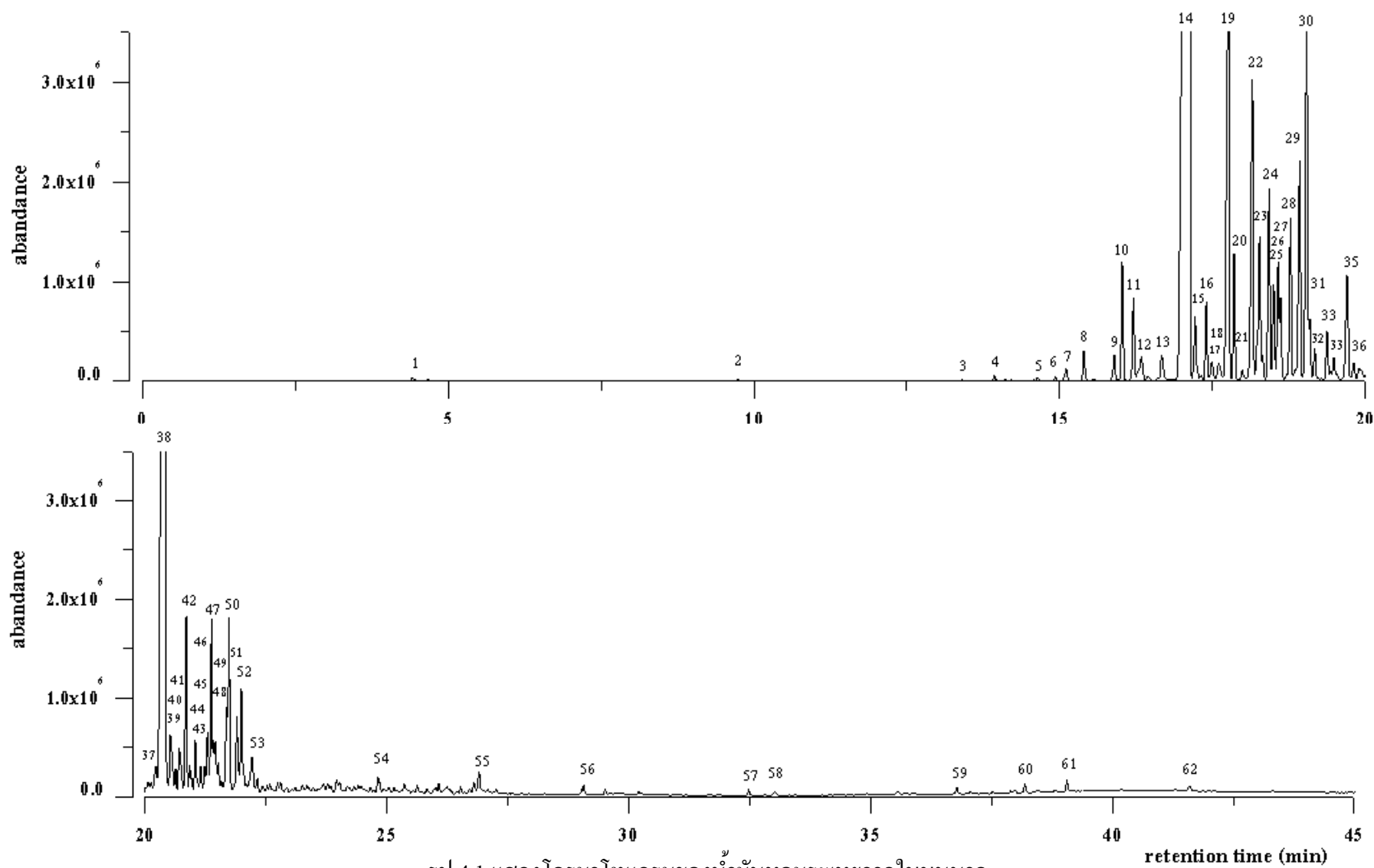
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

เมื่อนำใบขุนนาคสด 1000 กรัม ทำการกลั่นด้วยไอน้ำ (Clevenger-type apparatus) และสกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เมื่อระเหยไดคลอโรมีเทนออก จะได้ น้ำมันหอมระเหยที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองใส หนัก 0.64 กรัม ร้อยละน้ำมันหอมระเหยที่ได้ เท่ากับ 0.064 % w/w

4.2 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเทคนิค GC/MS

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากใบขุนนาคและสารละลายมาตรฐานไฮโดรคาร์บอนผสม (คาร์บอน 7 – คาร์บอน 30) ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC/MS ใช้คอลัมน์ HP-5 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยทำได้ โดยการนำแมสสเปกตรัมของสารที่ได้ของแต่ละพีคเทียบกับแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานที่เก็บไว้ในเครื่องคอมพิวเตอร์ ถ้าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนมากกว่า 90% ถือว่าสารที่ได้เป็นสารตัวเดียวกันกับสารมาตรฐาน และคำนวณหาค่า retention index (RI) ของสารแต่ละตัว โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานไฮโดรคาร์บอนผสม ที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะเดียวกันกับน้ำมันหอมระเหย โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยแสดงดังรูป 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบขุนนาค ประกอบด้วยค่า retention time (RT), เปอร์เซนต์พื้นที่ใต้พีค (% area) และค่า retention index (RI) ของแต่ละพีคแสดงในตาราง 4.1 จากโครมาโทแกรมรูป 4.1 พบว่าในน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบทางเคมีไม่น้อยกว่า 62 สาร แต่สามารถวิเคราะห์สารที่คือสารชนิดใดได้เพียง 35 สาร คิดเป็น 81.4% ของสารทั้งหมด สารที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของใบขุนนาค ได้แก่ *trans*-caryophyllene (30.9%), β -caryophyllene oxide (17.9%), α -humulene (6.0%), δ -cadinene (4.1%), γ -muurolene (3.5%), γ -cadinene (2.3%), β -selinene (1.9%), germacrene D (1.8%) และ β -bisabolene (1.6%) เคยมีรายงานถึงองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากใบขุนนาคมาก่อน (71-72) แต่มีสารที่เป็นองค์ประกอบและมีปริมาณที่แตกต่างจากการวิจัยครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากแหล่งที่ปลูกขุนนาค ระยะเวลาที่ปลูก และอายุต้นขุนนาคที่นำมาวิจัยแตกต่างกัน นอกจากนี้วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยของแต่ละวิธีแตกต่างกัน



รูป 4.1 แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยจากใบขุนนาค

ตาราง 4.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบขุนนาค

พีคที่	สาร	RT (min)	Area (%)	RI (exp)	RI (lit)	ID	อ้างอิง
1	(Z) 3-Hexanol	4.41	0.1	866	859	RI,MS	69
2	Linalool	9.75	tr	1105	1097	RI,MS	69
3	Edulan I	13.40	tr	1263	1315	MS	68
8	α -Cubebene	15.40	0.3	1353	1351	RI,MS	70
9	α -Ylangene	15.89	0.3	1375	1375	RI,MS	69
10	α -Copaene	16.03	1.1	1381	1377	RI,MS	69
11	β -Bourbonene	16.21	0.8	1389	1388	RI,MS	69
12	β -Elemene	16.34	0.5	1395	1391	RI,MS	69
13	(<i>cis</i>)-Caryophyllene	16.67	0.4	1411	1409	RI,MS	69
14	(<i>trans</i>)-Caryophyllene	17.13	30.9	1434	1419	RI,MS	69
16	(+) Aromadendrene	17.40	0.7	1447	1441	RI,MS	69
19	α -Humulene	17.76	6.0	1465	1455	RI,MS	69
20	(-) Alloaromadendrene	17.85	1.1	1469	1460	RI,MS	69
22	γ -Murolene	18.15	3.5	1483	1480	RI,MS	69
23	Germacrene D	18.27	1.8	1489	1485	RI,MS	69
24	β -Selinene	18.43	1.9	1496	1490	RI,MS	69
25	Valencene	18.50	1.0	1499	1496	RI,MS	69
26	α -Selinene	18.57	1.1	1503	1498	RI,MS	69
27	α -Murolene	18.61	0.7	1505	1500	RI,MS	69
28	β -Bisabolene	18.78	1.6	1514	1506	RI,MS	69
29	γ -Cadinene	18.93	2.3	1522	1514	RI,MS	69
30	δ -Cadinene	19.04	4.1	1528	1523	RI,MS	69
31	(<i>cis</i>)-Calamenene	19.09	0.5	1530	1540	RI,MS	69
34	α -Calacorene	19.48	0.3	1551	1546	RI,MS	6
37	Caryophyllenyl alcohol	20.23	0.5	1588	1572	RI,MS	69

พีคที่	สาร	RT (min)	Area (%)	RI (exp)	RI (lit)	ID	อ้างอิง
38	β -Caryophyllene oxide	20.42	17.9	1598	1583	RI,MS	69
48	T-muurolool	21.47	0.5	1655	1646	RI,MS	69
54	Hexahydrofarnesyl acetone	24.83	0.4	1846	1849	RI,MS	69
55	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	26.92	0.5	1973	1989	RI,MS	69
56	Phytol	29.07	0.2	2114	2109	RI,MS	69
58	4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olide	32.48	0.1	2356	2337	MS	71
58	Hexanedioic acid, bis(2- ethylhexyl) ester	33.02	0.1	2396	-	MS	-
59	Heptacosane	36.79	0.1	2697	2700	RI,MS	69
60	Squalene	38.19	0.2	2819	2829	MS	72
61	Nonacosane	39.07	0.2	2897	2900	RI,MS	69
Sesquiterpene hydrocarbons				60.7			
Oxygenated sesquiterpenes				19.0			
Diterpene and triterpenes				0.4			
Terpene related compounds				0.4			
Carboxylic acids				0.5			
Saturated hydrocarbons				0.3			
Others				0.2			
Total				81.4			

tr = trace (% area = 0.02);

RT = retention time;

RI (lit) = ค่า RI จากการอ้างอิง

RI (exp) = ค่า RI จากการทดลอง

ID = วิธีการวิเคราะห์แมสสเปกตรัมโดยเทียบกับแมสสเปกตรัมมาตรฐานและเทียบ RI จากอ้างอิง

สำหรับพีคที่ไม่ได้ใส่ในตาราง ถือเป็นสาร unknown เนื่องจากแมสสเปกตรัมของสารตัวอย่างมีความเหมือนกับแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานในเครื่อง GC/MS น้อยกว่า 90%

4.3 ผลการสกัดสารจากใบและกิ่งบนานาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ

เมื่อนำใบบนานาคน้ำหนัก 420.30 กรัมและกิ่งบนานาคน้ำหนัก 1820.00 กรัม มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ พบว่าสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเมทานอลของใบบนานาคมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นสีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดเฮกเซนของกิ่งบนานาคมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นสีเขียวอ่อน สารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเมทานอลของกิ่งบนานาคมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นสีน้ำตาลเข้ม น้ำหนักของสารสกัดที่ได้และร้อยละผลผลิตของสารสกัด (% yield) แสดงดังตาราง 4.2 พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบบนานาคมีร้อยละผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับสารสกัดจากไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนจากใบบนานาค นอกจากนี้สารสกัด เมทานอลจากกิ่งบนานาคมีร้อยละผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับสารสกัดจากไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนจากกิ่งบนานาคเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันของใบและกิ่งบนานาค พบว่าสารสกัดจากใบบนานาคให้ร้อยละผลผลิตที่สูงกว่า

ตาราง 4.2 น้ำหนักและร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบและกิ่งบนานาค

ส่วนที่ใช้	น้ำหนักพืชที่ใช้ (กรัม)	ตัวทำละลายที่ใช้ สกัด	น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (%)
ใบ	420.30	เฮกเซน	8.36	1.99
		ไดคลอโรมีเทน	18.16	4.32
		เมทานอล	27.36	6.51
กิ่ง	1820.00	เฮกเซน	14.56	0.80
		ไดคลอโรมีเทน	19.11	1.05
		เมทานอล	52.96	2.91

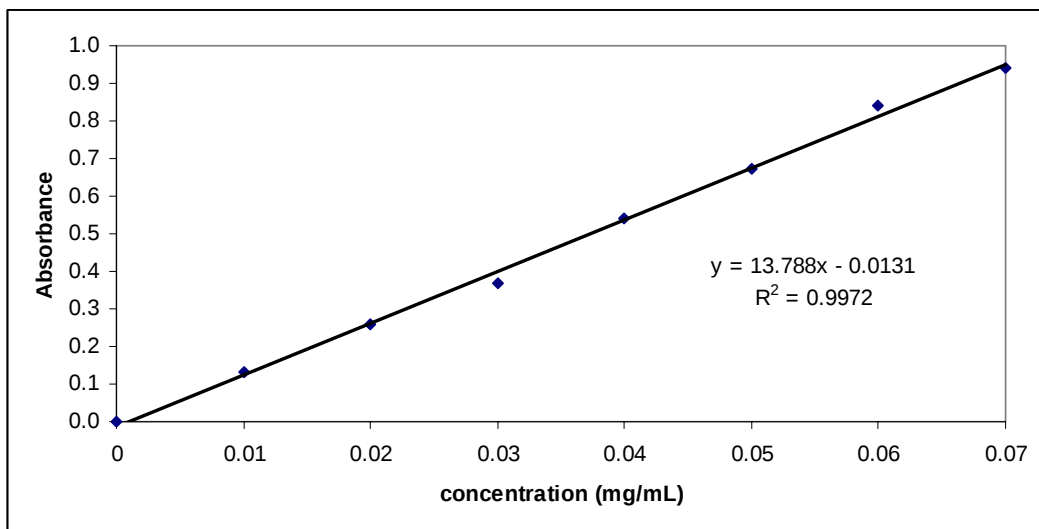
4.4 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent และตั้งทิ้งไว้ 8 นาที เติมสารละลาย Na_2CO_3 แล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ได้ผลการทดลองดังตาราง 4.3

ตาราง 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน gallic acid

ความเข้มข้นของสารละลาย gallic acid (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.01	0.125	0.136	0.130	0.130
0.02	0.250	0.264	0.258	0.257
0.03	0.361	0.368	0.376	0.368
0.04	0.537	0.542	0.551	0.543
0.05	0.664	0.675	0.681	0.673
0.06	0.866	0.821	0.843	0.843
0.07	0.972	0.95	0.905	0.942

เมื่อพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย ได้กราฟแสดงดังรูป 4.2



รูป 4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง

จากกราฟเส้นตรงจะได้สมการเส้นตรง $Y = 13.788X - 0.0131$

จะได้

$$X = (Y + 0.0131) / 13.788$$

สำหรับสารละลายของสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไคคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบ และกิ่งบุนนาค เมื่อทำการทดสอบเช่นเดียวกัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ได้ผลการทดลองแสดงดังตาราง 4.4

ตาราง 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สาร	ค่าการดูดกลืนแสง		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
สารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาค	0.424	0.418	0.412
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาค	0.465	0.460	0.455
สารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาค	0.200	0.210	0.204
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาค	0.410	0.510	0.450
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาค	0.660	0.650	0.670
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาค	0.270	0.263	0.252

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสง ไปแทนในสมการเส้นตรง $X = (Y + 0.0131)/13.788$ จะได้ค่า X ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารในหน่วย มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด หาได้จาก

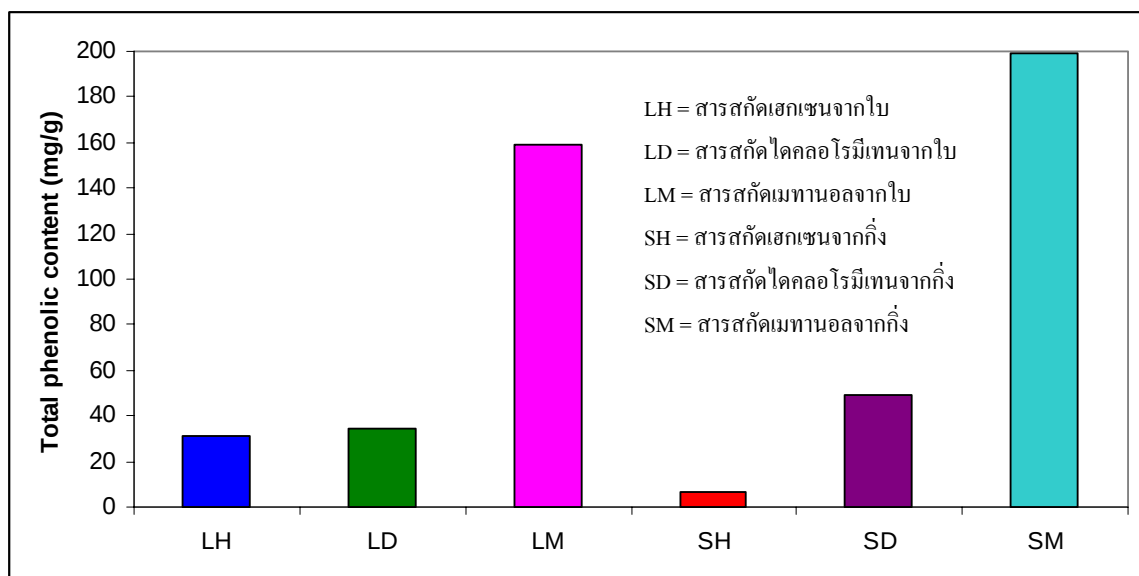
$$\text{Total phenol content (mg, GAE/g)} = 10 (X) / \text{น้ำหนักสารสกัด (กรัม)}$$

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ของใบและกิ่งบุนนาค แสดงดังตาราง 4.5 และรูป 4.3 จะเห็นได้ว่าสารสกัดเมทานอลจากกิ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (199.27 ± 6.55 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ในตัวอย่างแห้งหนัก 1 กรัม) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากใบ และสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งของบุนนาค ตามลำดับ

สารประกอบฟีนอลิก เป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลิกมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่ต่างกัน และสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นสารที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากไคคลอโรมีเทนและเฮกเซนจากใบและกิ่ง อาจเนื่องมาจากตัวทำละลายเมทานอลเป็นสารที่มีขั้วสูงจะสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าตัวทำละลายไคคลอโรมีเทนและเฮกเซน ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วต่ำ

ตาราง 4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบและกิ่งบนานาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สาร	ค่า X			Total phenol content (mg, GAE/g)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
สารสกัดเฮกเซนจากใบ บนานาค	0.03170	0.03127	0.03134	31.70	31.27	31.34	31.44 $\pm$ 0.23
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจาก ใบบนานาค	0.03468	0.03431	0.03395	34.68	34.31	33.95	34.31 $\pm$ 0.37
สารสกัดเมทานอลจากใบ บนานาค	0.01546	0.01618	0.01618	154.60	161.80	161.80	159.40 $\pm$ 4.16
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง บนานาค	0.03068	0.03794	0.03359	6.14	7.59	6.72	6.82 $\pm$ 0.73
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจาก กิ่งบนานาค	0.04882	0.04809	0.04954	48.82	48.09	49.54	48.82 $\pm$ 0.73
สารสกัดเมทานอลจากกิ่ง บนานาค	0.02053	0.02002	0.01923	205.30	200.20	192.30	199.27 $\pm$ 6.55



รูป 4.3 กราฟแท่งเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบและกิ่งบนานาค

4.5 ผลการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

4.5.1 ผลการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH

4.5.1.1 ผลการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐานด้วยวิธี DPPH

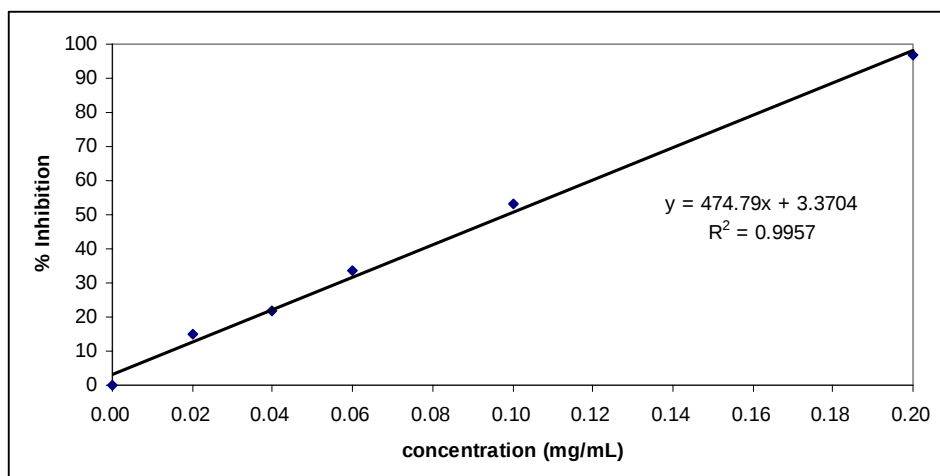
เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C แสดงดัง ตาราง 4.6 และตาราง 4.7 เมื่อพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ได้กราฟดังรูป 4.4 และรูป 4.5 (กราฟแสดงเฉพาะการทดลองครั้งที่ 1 เท่านั้น)

ตาราง 4.6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลาย trolox (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.02	14.86	14.55	12.35
0.04	24.60	24.29	25.14
0.06	33.47	37.49	35.92
0.10	50.97	50.92	49.80
0.20	96.74	97.56	98.46

ตาราง 4.7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลาย vitamin C (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.01	6.58	5.13	6.69
0.02	18.00	18.97	16.50
0.04	35.98	37.66	34.96
0.06	48.71	52.49	48.38
0.10	95.76	94.73	96.73



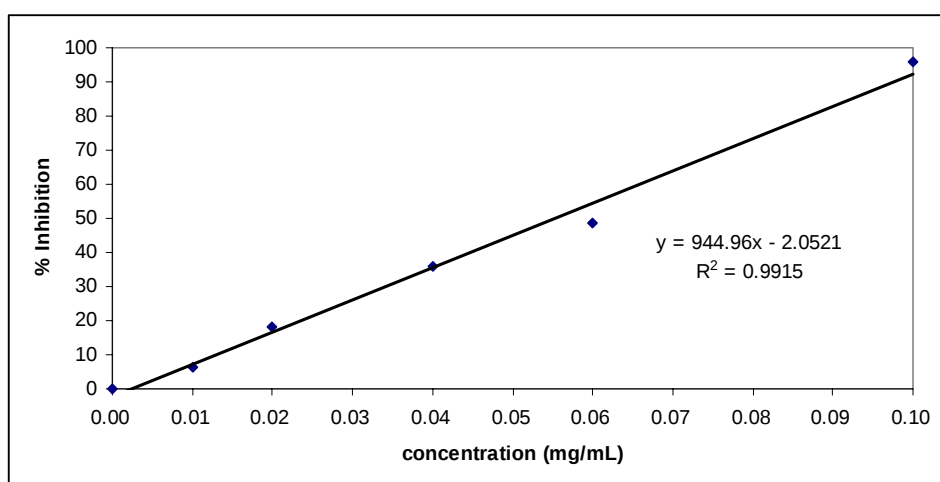
รูป 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH (การทดลองครั้งที่ 1)

การทดลองครั้งที่ 1 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 474.49x + 3.3704$ และ $R^2 = 0.9957$

การทดลองครั้งที่ 2 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 454.35x + 6.7973$ และ $R^2 = 0.9962$

การทดลองครั้งที่ 3 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 465.53x + 5.2290$ และ $R^2 = 0.9959$

จากสมการเส้นตรง เมื่อแทนค่า $y = 50$ สามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ของสารละลาย trolox ครั้งที่ 1 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.098 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.095 และ 0.096 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



รูป 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH (การทดลองครั้งที่ 1)

การทดลองครั้งที่ 1 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 944.96x - 2.0521$ และ $R^2 = 0.9915$

การทดลองครั้งที่ 2 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 966.12x - 2.6464$ และ $R^2 = 0.9958$

การทดลองครั้งที่ 3 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 980.75x - 4.4633$ และ $R^2 = 0.9901$

จากสมการเส้นตรง เมื่อแทนค่า $y = 50$ สามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ของสารละลาย vitamin C ครั้งที่ 1 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.055 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.054 และ 0.056 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.5.1.2 ผลการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ สารสกัดจากกิ่ง ใบบุนนาค และน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธี DPPH

เมื่อนำสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ จากใบบุนนาคแสดงดังตาราง 4.8-4.10

ตาราง 4.8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1.00	20.12	19.21	18.25
2.00	34.21	35.46	36.38
3.00	47.91	49.14	49.47
4.00	72.02	71.11	73.57
5.00	85.25	86.43	88.25

ตาราง 4.9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ
ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัด ไคคโลโรมีเทนจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1.00	22.16	21.24	22.16
2.00	34.10	36.12	35.23
3.00	56.62	55.10	56.22
4.00	73.38	74.03	72.41
5.00	86.19	85.18	88.66

ตาราง 4.10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ
ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสาร สกัดเมทานอลจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.05	8.46	6.63	7.42
0.10	18.09	16.94	17.14
0.20	35.61	33.51	36.28
0.40	67.20	68.57	66.83
0.60	93.89	90.06	94.43

ในตาราง 4.11-4.13 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไคคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนานาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตาราง 4.11 เปอร์เซนต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนานาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนานาค (mg/mL)	เปอร์เซนต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1.00	11.12	10.14	12.98
4.00	45.87	46.03	47.19
5.00	53.03	55.15	54.79
6.00	64.53	62.70	64.65
8.00	84.68	86.24	88.42

ตาราง 4.12 เปอร์เซนต์การยับยั้งของสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนานาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนานาค (mg/mL)	เปอร์เซนต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.25	10.51	13.38	10.47
0.50	20.03	19.60	20.29
1.00	35.58	32.26	34.87
1.50	47.51	45.70	46.20
2.00	67.01	68.41	68.13

ตาราง 4.13 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนูนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.05	18.16	19.14	17.24
0.10	37.42	38.46	37.12
0.20	70.75	69.25	66.65
0.25	80.24	81.13	83.13
0.30	96.69	95.63	97.63

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาค ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาคแสดงดังตาราง 4.14

ตาราง 4.14 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
5.00	7.86	5.60	5.67
10.00	14.64	15.42	13.58
20.00	33.13	35.46	34.97
30.00	48.76	47.58	50.68
40.00	60.57	61.16	59.99
50.00	78.59	79.57	79.95

เมื่อพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากใบและกิ่งบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และกราฟระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง นำสมการเส้นตรงที่ได้ไปคำนวณหาค่า IC_{50} สามารถสรุปค่า IC_{50} ของสารสกัดจาก

ใบและกิ่งบนุนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และค่า IC_{50} น้ำมันหอมระเหยจากใบบนุนาค เทียบกับ สารละลายมาตรฐาน ด้วยวิธี DPPH แสดงดังตาราง 4.15

ตาราง 4.15 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและกิ่งบนุนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหย จากใบบนุนาค ด้วยวิธี DPPH

สาร	ค่า IC_{50} (mg/mL)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
สารสกัดเฮกเซนจากใบบนุนาค	2.90	2.87	2.82	2.86 ± 0.04
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบนุนาค	2.76	2.74	2.71	2.74 ± 0.03
สารสกัดเมทานอลจากใบบนุนาค	0.31	0.32	0.31	0.31 ± 0.01
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนุนาค	4.64	4.61	4.46	4.57 ± 0.10
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนุนาค	1.49	1.51	1.50	1.50 ± 0.01
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนุนาค	0.15	0.14	0.15	0.15 ± 0.01
น้ำมันหอมระเหยจากใบบนุนาค	31.87	31.62	31.53	31.67 ± 0.18
สารมาตรฐาน trolox	0.098	0.095	0.096	0.096 ± 0.002
สารมาตรฐาน vitamin C	0.055	0.054	0.056	0.055 ± 0.001

ดังนั้น สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนุนาค มีค่า IC_{50} ต่ำสุด (0.15 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แสดงว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากใบ และ สารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ต่ำสุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 31.67 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากบนุนาคโดยวิธี DPPH ให้ผลสอดคล้องกับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยพบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สูง

4.5.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS

4.5.2.1 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐานด้วยวิธี ABTS

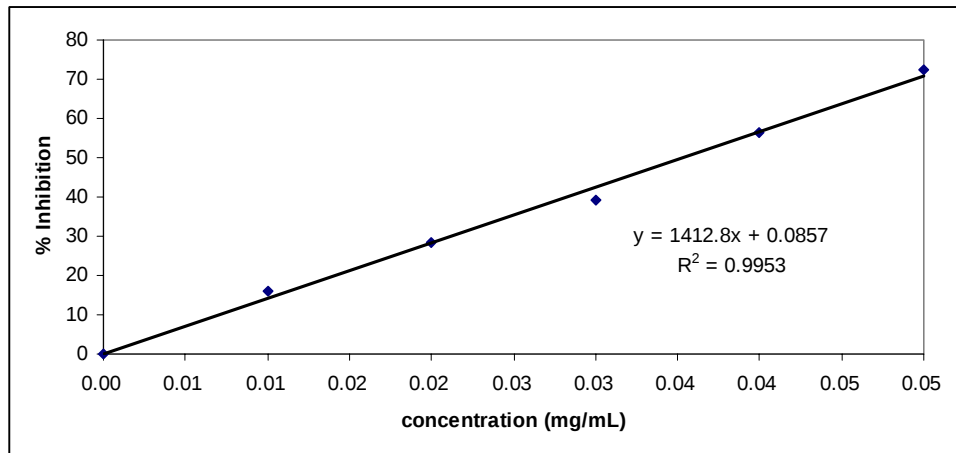
เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C แสดงดัง ตาราง 4.16 และตาราง 4.17 เมื่อพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน trolox และ vitamin C กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ได้กราฟดังรูป 4.6 และรูป 4.7 (กราฟแสดงเฉพาะการทดลองครั้งที่ 1 เท่านั้น)

ตาราง 4.16 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลาย trolox (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.01	16.05	17.06	16.64
0.02	28.21	27.5	29.47
0.03	38.4	37.73	37.86
0.04	56.41	55.43	55.36
0.05	72.46	71.29	71.9

ตาราง 4.17 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลาย vitamin C (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.10	24.41	25.70	23.35
0.15	32.54	35.60	32.10
0.20	48.39	45.71	47.55
0.25	57.2	54.34	56.38
0.30	75.86	70.69	72.64



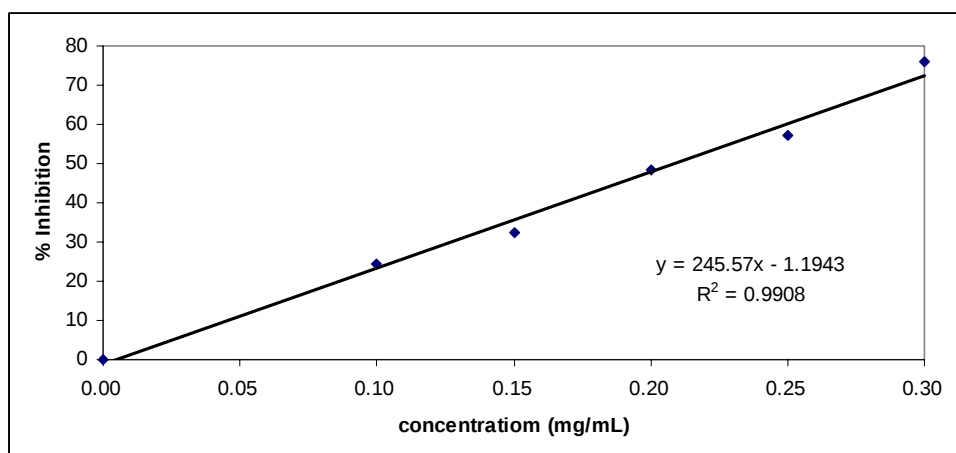
รูป 4. 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS (การทดลองครั้งที่ 1)

การทดลองครั้งที่ 1 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 1412.8x + 0.8570$ และ $R^2 = 0.9935$

การทดลองครั้งที่ 2 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 1376.5x + 0.4214$ และ $R^2 = 0.9914$

การทดลองครั้งที่ 3 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 1383.0x + 0.6300$ และ $R^2 = 0.9913$

จากสมการเส้นตรง เมื่อแทนค่า $y = 50$ สามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ของสารละลาย trolox ครั้งที่ 1 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.035 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.036 และ 0.036 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



รูป 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS (การทดลองครั้งที่ 1)

การทดลองครั้งที่ 1 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 245.57x - 1.1943$ และ $R^2 = 0.9908$

การทดลองครั้งที่ 2 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 225.78x + 1.0429$ และ $R^2 = 0.9934$

การทดลองครั้งที่ 3 ได้กราฟสมการเส้นตรง $y = 237.89x - 0.9786$ และ $R^2 = 0.9944$

จากสมการเส้นตรง เมื่อแทนค่า $y = 50$ สามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ของสารละลาย vitamin C ครั้งที่ 1 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.208 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.217 และ 0.214 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.5.2.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบ สารสกัดกิ่ง หนูนาค และ น้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธี ABTS

เมื่อนำสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบ หนูนาค ที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ จากใบ หนูนาค ด้วยวิธี ABTS แสดงดังตาราง 4.18-4.20

ตาราง 4.18 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากใบ หนูนาค ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเฮกเซนจากใบ หนูนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.20	19.56	16.24	18.46
0.40	33.45	35.64	34.92
0.60	50.31	45.31	50.79
0.80	63.26	64.57	64.55
1.00	73.05	73.54	74.81

ตาราง 4.19 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ
ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัด ไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.20	24.45	25.14	24.56
0.40	36.54	38.42	38.94
0.60	57.69	50.13	50.33
0.80	69.43	73.56	75.13
1.00	89.54	87.45	92.40

ตาราง 4.20 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ
ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสาร สกัดเมทานอลจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.10	11.34	12.89	10.28
0.20	30.54	31.25	34.25
0.30	43.53	42.10	44.69
0.40	53.68	52.18	54.87
0.50	65.30	65.80	67.48

ในตาราง 4.21-4.23 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนานที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตาราง 4.21 เปอร์เซนต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนานที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนาน (mg/mL)	เปอร์เซนต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.20	12.03	10.52	13.51
0.40	24.53	20.53	23.68
0.60	35.64	32.28	32.44
0.80	48.40	45.80	47.84
1.00	55.67	55.26	56.45

ตาราง 4.22 เปอร์เซนต์การยับยั้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบนานที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบนาน (mg/mL)	เปอร์เซนต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.10	15.44	16.45	14.28
0.20	37.53	37.67	35.16
0.30	49.87	50.14	48.56
0.40	60.48	59.83	61.24
0.50	79.87	79.88	80.75

ตาราง 4.23 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.10	22.48	20.45	21.25
0.20	35.67	34.10	33.74
0.30	54.47	55.89	52.13
0.40	65.24	67.48	65.15
0.50	87.59	90.24	88.46

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคแสดงดังตาราง 4.24

ตาราง 4.24 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค (mg/mL)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
2.00	10.10	11.20	10.53
4.00	24.35	23.25	25.67
6.00	40.25	41.50	42.89
8.00	52.98	51.37	50.46
10.00	63.26	64.21	65.74

เมื่อพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ของใบและกิ่งบุนนาค ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และกราฟระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง นำสมการเส้นตรงที่ได้ไปคำนวณหาค่า IC_{50} สามารถสรุปค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และค่า IC_{50} ของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค เทียบกับสารละลายมาตรฐาน ด้วยวิธี ABTS แสดงดังตาราง 4.25

ตาราง 4.25 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและกิ่งบอนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบอนนาค ด้วยวิธี ABTS

สาร	ค่า IC_{50} (mg/mL)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
สารสกัดเฮกเซนจากใบบอนนาค	0.637	0.645	0.625	0.636 ± 0.010
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบบอนนาค	0.543	0.55	0.535	0.543 ± 0.008
สารสกัดเมทานอลจากใบบอนนาค	0.370	0.372	0.357	0.366 ± 0.008
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบอนนาค	0.862	0.902	0.873	0.879 ± 0.021
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบอนนาค	0.311	0.310	0.313	0.311 ± 0.002
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบอนนาค	0.284	0.280	0.289	0.284 ± 0.005
น้ำมันหอมระเหยจากใบบอนนาค	7.623	7.752	7.761	7.712 ± 0.077
สารมาตรฐาน trolox	0.035	0.036	0.036	0.036 ± 0.001
สารมาตรฐาน vitamin C	0.208	0.217	0.214	0.213 ± 0.005

ดังนั้นสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบอนนาค มีค่า IC_{50} เฉลี่ยต่ำสุด (0.284 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แสดงว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากใบ และสารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ต่ำสุด และมีค่า IC_{50} เฉลี่ย เท่ากับ 7.712 ± 0.077 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากบอนนาคโดยวิธี ABTS ส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นอกจากนี้พบว่าผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ สารสกัดจากกิ่งบอนนาค และน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี ABTS ไม่สอดคล้องกับวิธี DPPH อาจเนื่องมาจากวิธีการวิเคราะห์ที่ต่างกันและแต่ละวิธีเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารได้ต่างกัน โดยวิธี DPPH เหมาะสำหรับศึกษาสารที่ละลายในน้ำหรือเอทานอล แต่วิธี ABTS เหมาะสำหรับศึกษาสารที่ละลายทั้งในน้ำและไขมัน ดังนั้นผลการทดลองที่ได้จึงไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกัน

4.5.3 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน สารสกัดจากใบและกิ่งบอนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธี reducing power

นำสารละลายมาตรฐาน trolox, น้ำมันหอมระเหย, สารสกัดเฮกเซน, สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งบอนนาค ไปวิเคราะห์ reducing power และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ตาราง 4.26 - 4.34 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายต่างๆ

ตาราง 4.26 Reducing power ของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลาย trolox (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.860	0.872	0.852	0.861 ± 0.010
0.20	1.380	1.375	1.361	1.372 ± 0.010
0.30	1.550	1.569	1.542	1.554 ± 0.014
0.40	1.570	1.589	1.566	1.575 ± 0.012
0.50	1.600	1.624	1.612	1.612 ± 0.012

ตาราง 4.27 Reducing power ของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลาย vitamin C (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.641	0.653	0.662	0.652 ± 0.011
0.20	1.240	1.250	1.258	1.249 ± 0.009
0.30	1.391	1.399	1.401	1.397 ± 0.005
0.40	1.420	1.489	1.498	1.469 ± 0.043
0.50	1.480	1.542	1.501	1.508 ± 0.032

ตาราง 4.28 Reducing power ของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุญนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด เฮกเซนจากใบบุญนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.065	0.063	0.062	0.063 ± 0.002
0.20	0.125	0.128	0.131	0.128 ± 0.003
0.30	0.170	0.166	0.178	0.171 ± 0.006
0.40	0.220	0.219	0.226	0.222 ± 0.004
0.50	0.255	0.266	0.264	0.262 ± 0.006

ตาราง 4.29 Reducing power ของสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด ไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.080	0.089	0.084	0.084 ± 0.004
0.20	0.136	0.139	0.141	0.139 ± 0.003
0.30	0.194	0.199	0.192	0.195 ± 0.004
0.40	0.250	0.259	0.253	0.254 ± 0.005
0.50	0.301	0.296	0.299	0.299 ± 0.003

ตาราง 4.30 Reducing power ของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด เมทานอลจากใบบุนนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.352	0.358	0.341	0.350 ± 0.009
0.20	0.554	0.542	0.563	0.553 ± 0.011
0.30	0.823	0.838	0.847	0.836 ± 0.012
0.40	1.050	1.132	1.023	1.068 ± 0.057
0.50	1.192	1.206	1.212	1.203 ± 0.010

ตาราง 4.31 Reducing power ของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด เฮกเซนจากกิ่งบุนนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
0.20	0.058	0.055	0.056	0.056 ± 0.002
0.30	0.101	0.106	0.097	0.101 ± 0.005
0.40	0.142	0.139	0.140	0.140 ± 0.002
0.50	0.165	0.171	0.175	0.170 ± 0.005

ตาราง 4.32 Reducing power ของสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด ไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนูนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.090	0.094	0.090	0.091 ± 0.002
0.20	0.160	0.166	0.164	0.163 ± 0.003
0.30	0.220	0.226	0.236	0.227 ± 0.008
0.40	0.310	0.317	0.322	0.316 ± 0.006
0.50	0.430	0.431	0.438	0.433 ± 0.004

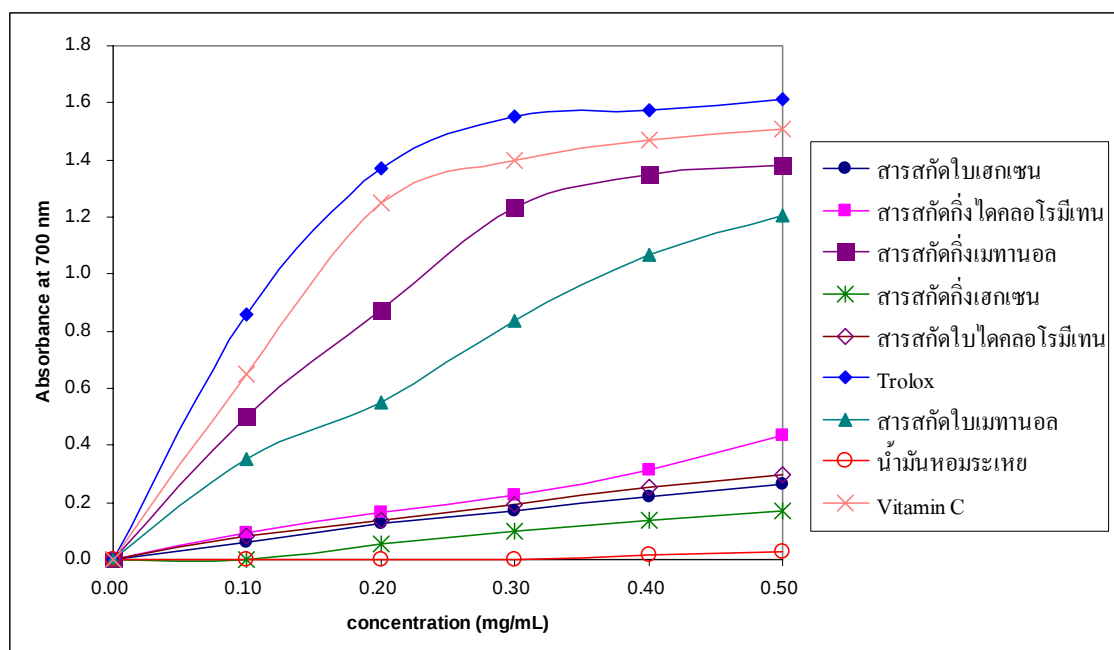
ตาราง 4.33 Reducing power ของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของสารสกัด เมทานอลจากกิ่งบนูนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.500	0.458	0.553	0.504 ± 0.048
0.20	0.860	0.874	0.885	0.873 ± 0.013
0.30	1.210	1.227	1.256	1.231 ± 0.023
0.40	1.340	1.359	1.350	1.350 ± 0.010
0.50	1.370	1.386	1.388	1.381 ± 0.010

ตาราง 4.34 Reducing power ของน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลายของน้ำมัน หอมระเหยจากใบบนูนาค (mg/mL)	Absorbance ที่ 700 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย $\pm$ SD
0.10	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
0.20	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
0.30	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
0.40	0.000	0.030	0.023	0.018 ± 0.016
0.50	0.026	0.025	0.023	0.025 ± 0.002

จากตาราง 4.17 - 4.34 เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน น้ำมันหอมระเหย และ สารสกัดต่างๆ และค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย ไปพล็อตกราฟ จะได้กราฟดังรูป 4.8



รูป 4.8 Reducing power ของสารละลายมาตรฐาน น้ำมันหอมระเหย สารสกัดเฮกเซน สารสกัดไคคโลโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งบุนนาค

จากรูป 4.8 จะเห็นได้ว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำๆ มีความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระน้อยหรือมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อย และพบว่าสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดไคคโลโรมีเทนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง และน้ำมันหอมระเหย ตามลำดับ

จากการผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ รวมถึงน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคโดยวิธี DPPH, วิธี ABTS และวิธี reducing power พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาค รวมถึงน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งได้มีรายงานถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของบุนนาคมาบ้าง (73-76) แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดสารสกัดและวิธีการสกัด การวิจัยครั้งนี้พบว่าสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคมีฤทธิ์ในต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากใบหรือกิ่งด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันพบว่าสารสกัดเมทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดไคคโลโรมีเทนและสารสกัดเฮกเซน อาจเป็นเพราะเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจึงสามารถสกัดสารได้มากกว่าไคคโลโรมีเทนและเฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ แต่ก็ยังไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าการต้าน

อนุผลอิสระของสารสกัดมาจากสารชนิดใด เนื่องจากสารที่สกัดได้มีหลายชนิดและแตกต่างกัน ซึ่งสารบางตัวอาจมีฤทธิ์เสริมกัน บางตัวอาจมีฤทธิ์หักล้างกัน หรือบางตัวอาจจะไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งต้องอาศัยเทคนิควิเคราะห์ขั้นสูงต่อไป

ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากไบบุนนาคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ ได้มีรายงานกล่าวถึงสารบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สาร *trans-caryophyllene* ซึ่งเป็นสารที่พบในปริมาณมากที่สุดคือน้ำมันหอมระเหยจากไบบุนนาค (77), สาร *t-muurolol*, *linalool*, *phytol* และ *squalene* (79-81) นอกจากนี้กรดไขมันบางชนิดโดยเฉพาะกรดปาล์มิติก (*n-hexadecanoic acid*) สามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าเบต้าแคโรทีน (82,83) ดังนั้นการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากไบบุนนาคอาจเป็นผลมาจากสารเหล่านี้

4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

4.6.1 ผลทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อรา โดยวิธี agar-well diffusion

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อรา โดยวิธี Agar-well diffusion เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ส่วนเชื้อราที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *C. albican*, *A. flavus* และ *T. mentagrophyte* ใช้สารละลาย gentamicin และ amoxicillin เป็นสารมาตรฐานสำหรับเชื้อแบคทีเรีย และสารละลาย ketoconazole เป็นสารมาตรฐานสำหรับเชื้อรา ค่า inhibition zone ทำโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางในหน่วยมิลลิเมตร ได้ผลดังแสดงในตาราง 4.35-4.36

ตาราง 4.35 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย

โดยวิธี agar-well diffusion

สาร	Inhibition zone (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
สารสกัดเฮกเซนจากไบบุนนาค	-	20.0 ± 1.0	10.0 ± 0.0
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากไบบุนนาค	-	21.0 ± 0.5	10.0 ± 0.0
สารสกัดเมทานอลจากไบบุนนาค	15.2 ± 0.3	23.0 ± 0.5	10.5 ± 0.5
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งไบบุนนาค	10.7 ± 0.6	17.3 ± 0.3	10.3 ± 0.3
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งไบบุนนาค	14.8 ± 0.8	22.2 ± 0.3	12.2 ± 0.3
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งไบบุนนาค	16.0 ± 1.0	21.8 ± 0.3	12.0 ± 0.9
น้ำมันหอมระเหย	15.5 ± 0.5	13.0 ± 0.5	11.0 ± 0.5
Gentamicin	29.0 ± 0.5	33.0 ± 0.5	30.0 ± 0.5
Amoxicillin	42.2 ± 0.5	21.4 ± 0.3	15.6 ± 0.3

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบและกิ่งบนุนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ ในตาราง 4.35 พบว่า สารสกัดเมทานอลจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมทานอลจากใบ ส่วนสารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่ง นอกจากนี้สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมทานอลจากกิ่ง ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบบนุนาค มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เชื้อ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ตามลำดับ

ตาราง 4.36 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี
Agar-well diffusion

สาร	Inhibition zone (mm)		
	<i>C. albican</i>	<i>A. flavus</i>	<i>T. mentagrophyte</i>
สารสกัดเฮกเซนจากใบบนุนาค	10.0 ± 0.0	-	17.0 ± 0.5
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบนุนาค	10.0 ± 0.0	-	17.0 ± 0.0
สารสกัดเมทานอลจากใบบนุนาค	10.0 ± 0.0	-	18.0 ± 0.5
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบนุนาค	10.2 ± 0.3	-	10.0 ± 1.0
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบนุนาค	10.7 ± 0.3	-	10.0 ± 0.5
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบนุนาค	11.8 ± 0.6	-	10.0 ± 0.9
น้ำมันหอมระเหย	11.5 ± 0.5	-	17.8 ± 0.8
Ketoconazole	18.0 ± 0.5	20.0 ± 0.5	34.0 ± 0.5

จากตาราง 4.36 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อราของสารสกัดจากใบและกิ่งบนุนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่า สารสกัดเมทานอลจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albican* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่ง นอกจากนี้สารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *T. mentagrophyte* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเฮกเซนจากใบและสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบบนุนาค มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *T. mentagrophyte* ได้ดีกว่าเชื้อ *C. albican* และพบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งบนุนาค รวมถึงน้ำมันหอมระเหยไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *A. flavus*

4.6.2 ผลทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยวิธี microtiter broth method

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และเชื้อแกรมบวก *S. aureus* ของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค โดยวิธี microtiter broth method และหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (ค่า MIC) ได้ผลดังตาราง 4.37

ตาราง 4.37 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี microtiter broth method

สาร	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
สารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาค	> 2000	62.5
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากใบบุนนาค	1000	62.5
สารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาค	31.25	31.25
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาค	500	62.5
สารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาค	62.5	31.25
สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาค	31.25	31.25
น้ำมันหอมระเหย	250	125
Gentamicin	3.13	1.57
Amoxicillin	3.13	3.13

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด (MIC = 31.25 $\mu\text{g/mL}$) ส่วนสารสกัดเฮกเซนจากใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อ *E. coli* ต่ำสุด (MIC > 2000 $\mu\text{g/mL}$) และสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่ง มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด (MIC = 31.25 $\mu\text{g/mL}$) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* ต่ำสุด (MIC = 125 $\mu\text{g/mL}$)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาค ด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่แตกต่างกันอาจเป็นเพราะสารสกัดแต่ละชนิดมีปริมาณสารและชนิดของสารที่ต่างกัน ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา อาจเนื่องมาจากในน้ำมันหอมระเหยมีสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น

trans-caryophyllene, α -humulene, germacrene D, δ -cadinene, α -cubebene, α -copaene, γ -cadinene, phytol, squalene, และ β -elemene (84-89) สาร *n*-hexadecanoic acid มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (90) นอกจากนี้สาร linalool มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้สูงมาก (91) ส่วนสาร β -caryophyllene oxide และ T-muurolool มีฤทธิ์ในการต้านทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย (92-94)

จากผลการวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดของใบและกิ่งบนูนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยสามารถต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อใช้ในการต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียต่อไป

4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

เมื่อนำสารสกัดของใบและกิ่งบนูนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบนูนาค ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของเซลล์คนต่อเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติโดยใช้เซลล์ของไตลิง ได้ผลดังตาราง 4.38

ตาราง 4.38 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย

สาร	IC ₅₀ (μg/mL)			
	KB-oral	MCF-7	NCI-H187	Vero cell
สารสกัดเฮกเซนจากใบ	IN	38.12	IN	NC
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบ	23.70	IN	38.68	NC
สารสกัดเมทานอลจากใบ	25.14	IN	30.80	NC
สารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง	IN	IN	IN	NC
สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่ง	18.01	28.83	18.42	NC
สารสกัดเมทานอลจากกิ่ง	29.91	IN	33.54	NC
น้ำมันหอมระเหยจากใบ	24.02	16.19	20.32	NC
Ellipticine	0.512	NT	0.875	1.335
Doxorubicin	0.319	0.858	0.050	NT

IN = ไม่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง; NC = ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ; NT = ไม่ได้ทดสอบ

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากใบ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่ง และสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาค มีฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากชนิด KB มีค่า IC_{50} เท่ากับ 23.70, 25.14, 18.01 และ 29.91 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเฮกเซนจากใบและสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่งบุนนาค มีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.12 และ 28.83 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดไคคโลโรมีเทนจากใบ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่ง และสารสกัดเมทานอลจากกิ่ง มีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดชนิด NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.68, 30.80, 18.42 และ 33.54 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากชนิด KB มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และมะเร็งปอด NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.02, 16.19 และ 20.32 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากชนิด KB ได้ดีที่สุด ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ได้ดีที่สุด และสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดชนิด NCI-H187 ได้ดีที่สุด ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาค รวมถึงน้ำมันหอมระเหย พบว่าสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

สารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค อาจมีปริมาณสารหรือมีองค์ประกอบสารที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถต้านเซลล์มะเร็งต่างชนิดกัน การวิจัยครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่กล่าวถึงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคที่ปลูกในประเทศไทย แต่ได้มีรายงานถึงสารบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง เช่น สาร *trans*-caryophyllene มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง A-549, HeLa, และ HT-29 สาร α -humulene มีความเป็นพิษต่อเซลล์ LNCaP, PC-3, A-549, DLD-1, M4BEU, HeLa, HT-29, RAW264.7, HCT-116 และ MCF-7 cell lines (95-98) สาร γ -muurolene มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านม (99) สาร T-muurolol มีฤทธิ์ปานกลางต่อเซลล์ HT-29 และ MCF-7 (100) สาร β -caryophyllene oxide มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HepG2, AGS, HeLa, SNU-1 และ SNU-16 cells (101) สาร *n*-hexadecanoic acid มีความเป็นพิษต่อเซลล์ลูคีเมีย MOLT-4 (102) สาร phytol มีฤทธิ์ต้านเซลล์ HT-29, MG-63 และ AZ-521 (103) ดังนั้นความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายบางชนิด และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค อาจเป็นผลมาจากสารเหล่านี้หรือสารบางชนิดอาจจะมีฤทธิ์ที่เสริมกัน ดังนั้นบุนนาคจัดเป็นพืชที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง อาจจะพัฒนาเป็นยาที่ใช้ยับยั้งเซลล์มะเร็งหรือรักษาโรคมะเร็งต่อไป

4.8 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดไคคโลโรมีเทนของกิ่งบุนนาค

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ พบว่าสารสกัดไคคโลโรมีเทนจากกิ่งบุนนาค มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี และมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด จึงนำสารสกัดคคโลโร

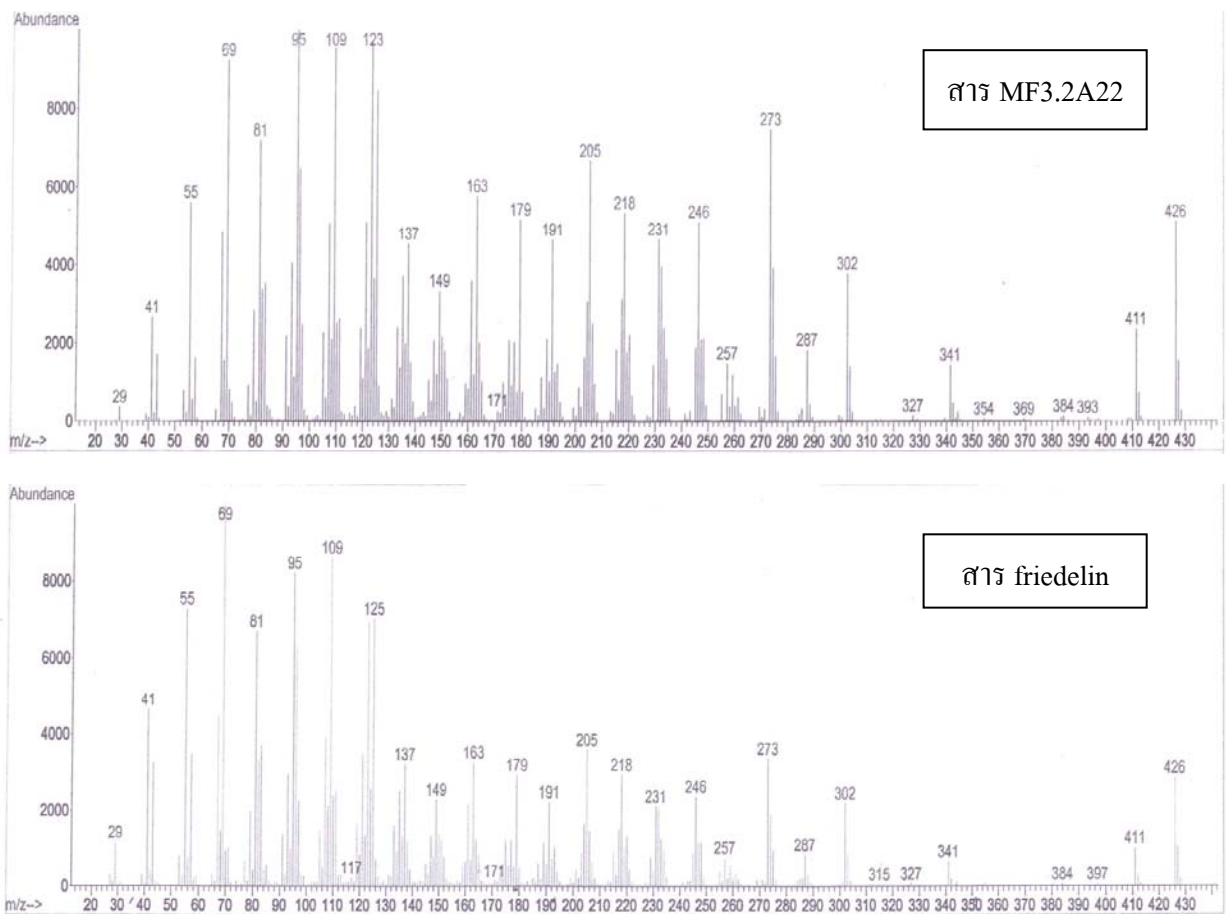
มีเทนจากกิ่งบนนาคมาแยกสารบริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นวัฏภาค
คงที่ จากนั้นนำไปวิเคราะห์เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้วิธีการตรวจวัดด้วย UV และสารละลาย
วานิลิน ได้ส่วนสกัด 6 ส่วน ได้แก่ fraction MF1-MF6 เมื่อนำ fraction MF3 มาทำการแยกด้วยเทคนิค
คอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้ส่วนสกัดแยกได้ 7 ส่วน ได้แก่ fraction MF3.1-MF3.7 และเมื่อนำ fraction
MF3.2 มาแยกต่อด้วยเทคนิค PTLC จะได้ส่วนสกัด 3 ส่วน ได้แก่ fraction MF3.2A1-MF3.2A3 เมื่อนำ
fraction MF3.2A2 มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี สามารถแยกส่วนสกัดได้ 3 กลุ่ม
ได้แก่ fraction MF3.2A21-MF3.2A23 ซึ่ง สาร MF3.2A22 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว และเมื่อนำ
fraction MF3.4 มาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ส่วนสกัด 3 ส่วน ได้แก่ fraction
MF3.4A1-MF3.4A3 เมื่อนำ fraction MF3.4A2 มาทำการแยกด้วยเทคนิค PTLC สามารถแยกส่วนสกัด
ได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ fraction MF3.4A21-MF3.4A23 ซึ่งสาร MF3.4A22 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว
นอกจากนี้เมื่อนำ fraction MF3.6 มาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้ส่วนสกัด 3 ส่วน
ได้แก่ fraction MF3.6A1-MF3.6A3 ซึ่งสาร MF3.6A2 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว (ดังแผนภาพในรูป 3.4)

นอกจากนี้เมื่อนำ fraction MF4 มาแยกหาองค์ประกอบทางเคมีต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โคร
มาโทกราฟี สามารถแยกส่วนสกัดได้ 6 กลุ่ม ได้แก่ fraction MF4.1-MF4.6 และเมื่อนำ fraction MF4.3
มาแยกต่อด้วย PTLC จะได้สาร MF4.3A3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (ดังแผนภาพในรูป 3.5)

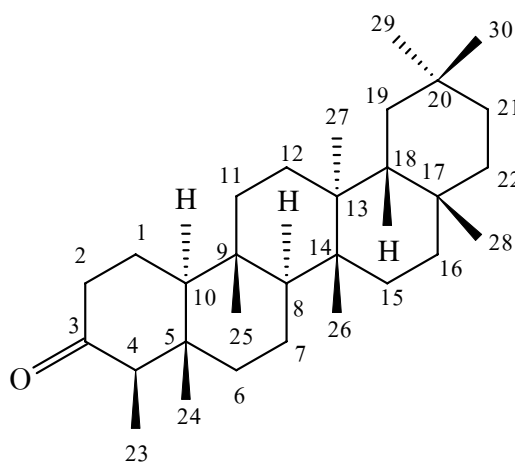
การหาสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้ ทำได้โดยนำสาร MF3.2A22, MF3.4A22, MF3.6A2
และ MF4.3A3 ไปหาค่าจุดเดือดของสาร และนำไปทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR
และ GC/MS

4.8.1 ผลการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร MF3.2A22

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสาร MF3.2A22 ($R_f = 0.56$, EtOAc:hexane; 2:8) มีลักษณะเป็น
ของแข็งสีขาว มีค่าจุดหลอมเหลว เท่ากับ 261.5-263.0 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-
MS เมื่อนำ mass spectrum ไปเทียบกับ mass spectrum กับสารมาตรฐานจาก GC-MS library พบว่า
mass spectrum เหมือนกับ mass spectrum ของสาร friedelin โดยมีค่าร้อยละความเหมือนถึง 95 % และ
มี molecular ion peak ที่ m/z 426(M^+ ,24), 411(12), 341(10), 273(37), 205(40), 123(70), 109(85),
95(80), 81(68) และ 69(100) ดังรูป 4.9 ดังนั้นในเบื้องต้นคาดว่าสาร MF3.2A22 น่าจะเป็นสาร friedelin
มีสูตรโมเลกุล เป็น $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 426 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูป 4.10 นอกจากนี้
จุดหลอมเหลวของสาร MF3.2A22 ใกล้เคียงกับสาร friedelin ที่ได้รายงานไว้ (262.0-263.0 องศา
เซลเซียส) (104)

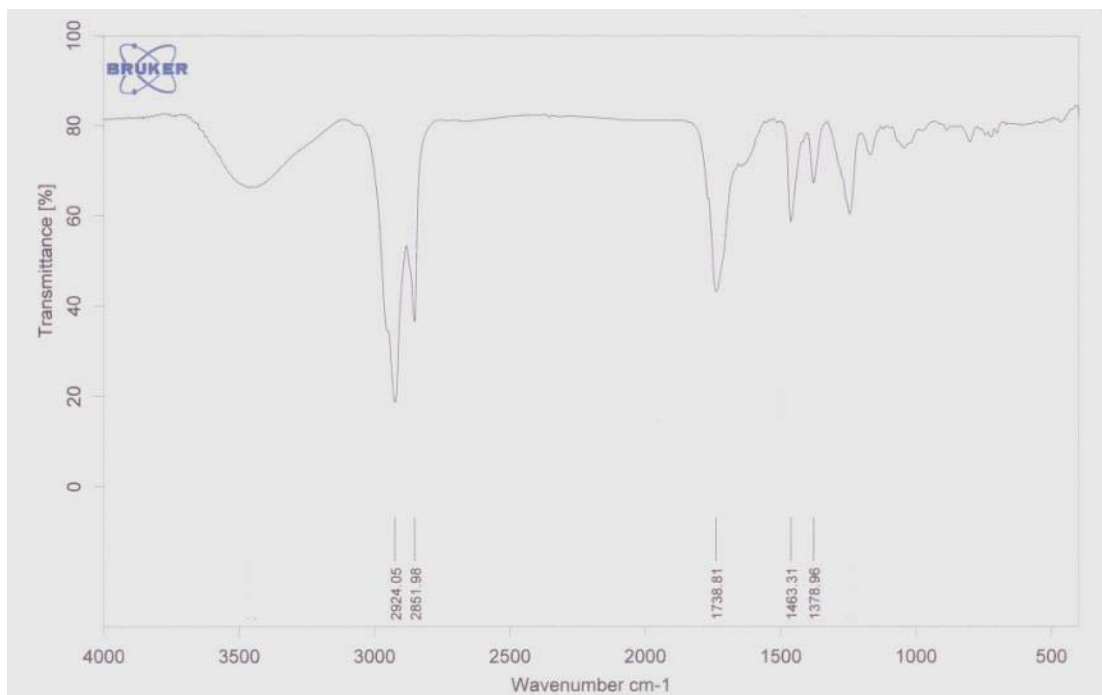


รูป 4.9 Mass Spectrum ของสาร MF3.2A22 และสาร friedelin



รูป 4.10 โครงสร้างของสาร friedelin

จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.2A22 ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แสดงให้เห็นพีคต่างๆ ที่สำคัญในโมเลกุล ซึ่งสามารถระบุหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้อง แสดงดังรูป 4.11 และตาราง 4.39 ตามลำดับ



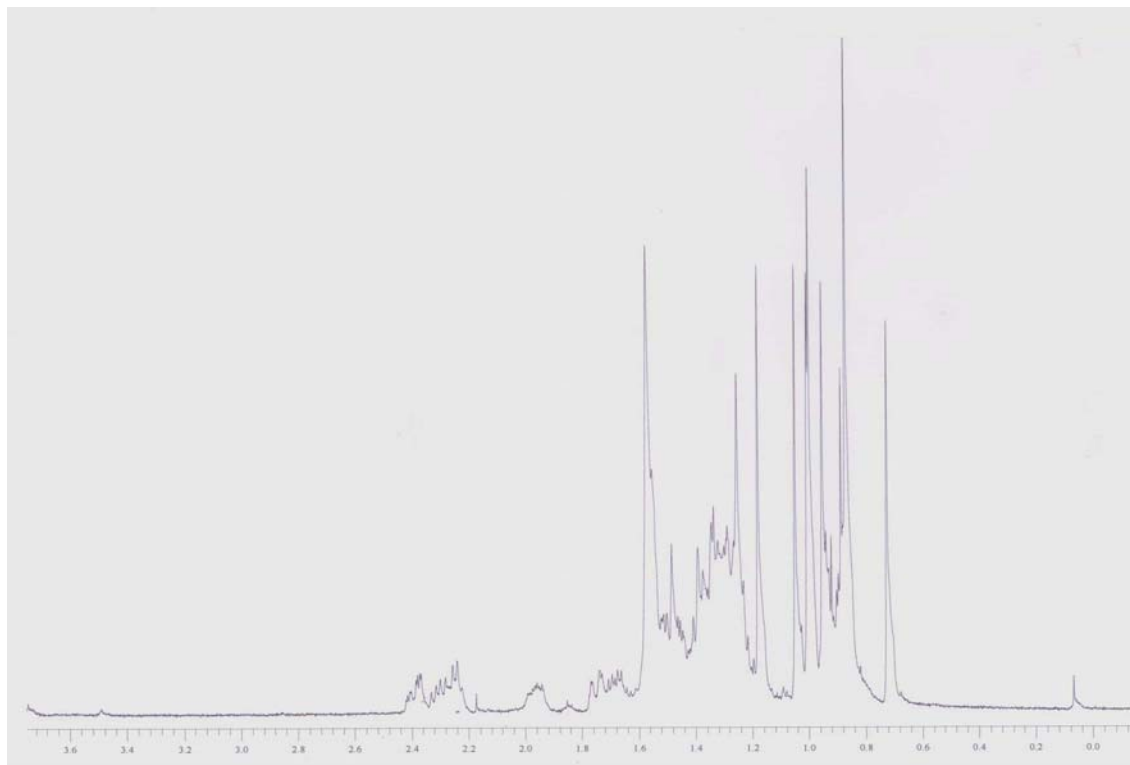
รูป 4.11 IR สเปกตรัมของสาร MF3.2A22 (KBr pellet)

ตาราง 4.39 การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.2A22

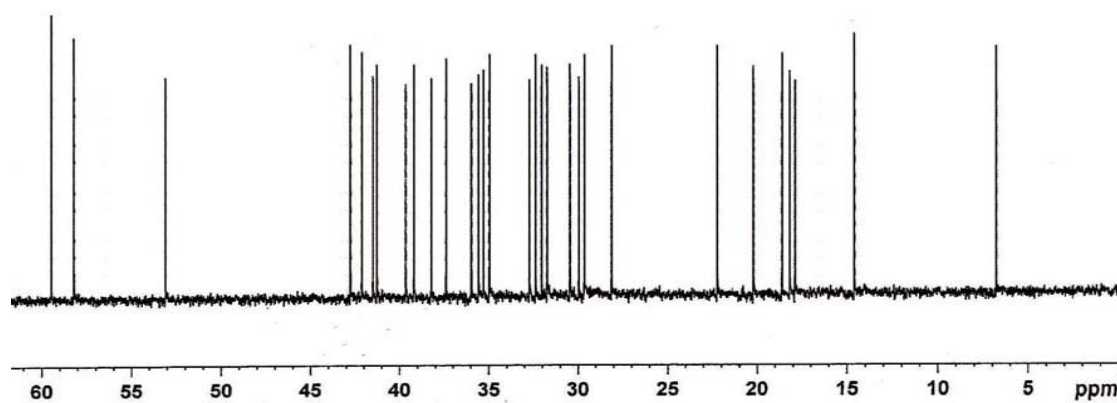
Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
2,924 และ 2852	CH ₃ stretcing
1,739	C=O stretcing
1,463	CH ₂ bending
1379	CH ₃ bending

พิจารณาข้อมูลจาก IR สเปกตรัม ของสาร MF3.2A22 ดังรูป 4.11 และตาราง 4.39 จะเห็นว่าสาร MF3.2A22 มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ ได้แก่ หมู่คาร์บอนิล ซึ่งมีการสั่นแบบยืดของพันธะ C=O ที่ 1739 cm⁻¹ และมีส่วนที่เป็นไฮโดรคาร์บอน คือหมู่ -CH₂- และ -CH₃ ซึ่งมีการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H ของหมู่ -CH₃ ที่ 2924 และ 2852 cm⁻¹ นอกจากนี้มีการสั่นของพันธะ C-H แบบงอของหมู่ -CH₂- และ -CH₃ ที่ 1463 และ 1379 cm⁻¹

ผลการวิเคราะห์สาร MF3.2A22 ด้วยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ได้ผลแสดงดังรูป 4.12-4.13 และตาราง 4.40 ตามลำดับ



รูป 4.12 ^1H -NMR Spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) ของสาร MF3.2A22



รูป 4.13 ^{13}C -NMR Spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ของสาร MF3.2A22

ตาราง 4.40 ผลการวิเคราะห์สาร MF3.2A22 ด้วยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR spectroscopy

Carbon No.	δ_{H} (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} (lit. ¹⁰⁴) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (lit. ¹⁰⁴) (ppm)
1	1.70 (<i>m</i>), 1.96 (<i>m</i>)	1.67 (<i>m</i>), 1.96 (<i>m</i>)	22.3	22.3
2	2.24 (<i>m</i>), 2.37 (<i>m</i>)	2.23 (<i>m</i>), 2.39 (<i>m</i>)	41.5	41.5
3	-	-	-	213.2
4	2.25 (<i>m</i>)	2.23 (<i>m</i>)	58.3	58.2
5	-	-	42.1	42.1
6	1.25 (<i>m</i>), 1.74 (<i>m</i>)	1.27 (<i>m</i>), 1.74 (<i>m</i>)	41.3	41.3
7	1.33 (<i>m</i>), 1.40 (<i>m</i>)	1.33 (<i>m</i>), 1.45 (<i>m</i>)	18.2	18.2
8	1.39 (<i>m</i>)	1.37 (<i>m</i>)	53.1	53.1
9	-	-	37.5	37.4
10	1.55 (<i>m</i>)	1.50 (<i>m</i>)	59.5	59.5
11	-	-	35.6	35.6
12	-	-	30.5	30.5
13	-	-	39.7	39.7
14	-	-	38.3	38.3
15	-	-	32.5	32.4
16	-	-	36.0	36.0
17	-	-	30.0	30.0
18	1.57 (<i>m</i>)	1.53 (<i>m</i>)	42.8	42.8
19	-	-	35.4	35.3
20	-	-	28.2	28.2
21	-	-	32.6	32.8
22	0.95 (<i>m</i>), 1.48 (<i>m</i>)	0.94 (<i>m</i>), 1.48 (<i>m</i>)	39.3	39.2
23	0.87 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.82)	0.86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.0)	6.8	6.8
24	0.72 (<i>s</i>)	0.70 (<i>s</i>)	14.7	14.6
25	0.87 (<i>s</i>)	0.85 (<i>s</i>)	18.0	17.9

Carbon No.	δ_H (mult., J (Hz))	δ_H (lit. ¹⁰⁴) (mult., J (Hz))	δ_C (ppm)	δ_C (lit. ¹⁰⁴) (ppm)
26	1.00 (s)	0.98 (s)	20.3	20.2
27	1.05 (s)	1.03 (s)	18.7	18.6
28	1.17 (s)	1.16 (s)	32.1	32.1
29	0.95 (s)	0.93 (s)	35.0	35.0
30	0.99 (s)	0.98 (s)	31.8	31.8

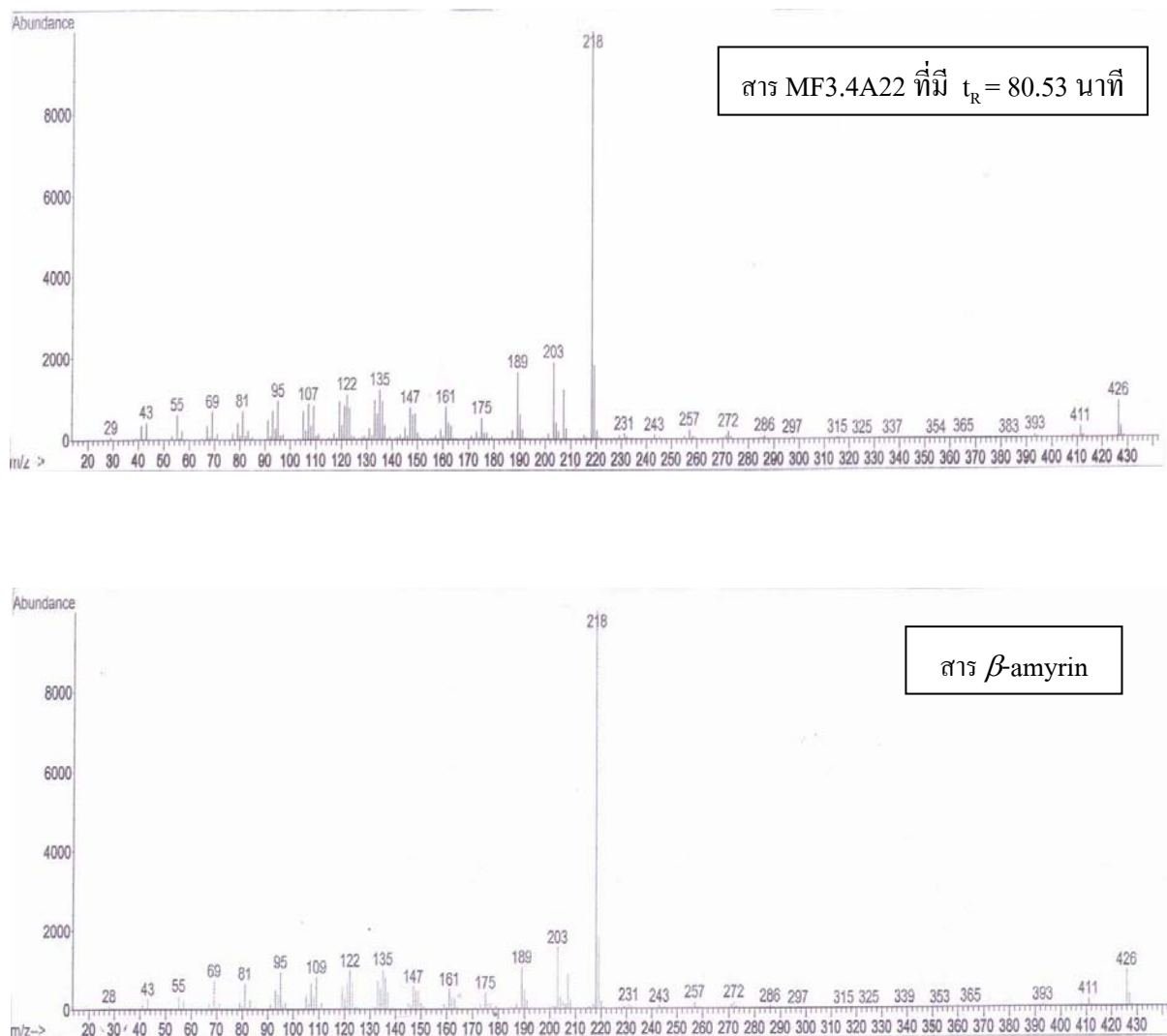
สาร MF3.2A22 มีค่า molecular ion peak ที่ m/z เท่ากับ 426 ซึ่งสอดคล้องกับมวลโมเลกุลของสาร friedelin และจากผล IR สเปกตรัม แสดงหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิลที่ตำแหน่ง 1739 cm^{-1} นอกจากนี้ผล ^1H NMR สเปกตรัม แสดงสัญญาณของ secondary methyl ซึ่งมีค่า chemical shift แบบ doublet ที่ตำแหน่ง 0.87 ($J = 6.82\text{ Hz}$, Me-23) และแสดงสัญญาณของ tertiary methyls แบบ singlet ที่ชัดเจน 7 กลุ่ม ซึ่งแสดงค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 0.72 (H-24), 0.87 (H-25), 1.00 (H-26), 1.05 (H-27), 1.17 (H-28), 0.95 (H-29) และ 0.99 (H-30) เมื่อพิจารณา ^{13}C -NMR สเปกตรัม พบสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 29 สัญญาณ จากคาร์บอนทั้งหมด 30 คาร์บอน แต่ไม่พบสัญญาณของคาร์บอนที่ 3 ที่เป็นหมู่คาร์บอนิล ซึ่งปกติควรมีค่า chemical shift ประมาณ 213 ppm อาจจะเป็นผลเนื่องมาจากการรบกวนของตัวทำละลายที่ใช้ และสารที่นำมาวิเคราะห์อาจมีปริมาณน้อย ทำให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยเกินไป

จากผลการวิเคราะห์สาร MF3.2A22 ด้วยเทคนิค GC-MS, IR, ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR รวมถึงค่าจุดหลอมเหลว และเมื่อนำผลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้รายงานไว้ (104) แสดงให้เห็นถึงข้อมูลที่ใกล้เคียงกันมาก จึงสามารถสรุปได้ว่า สาร MF3.2A22 ที่แยกได้ คือสาร friedelin

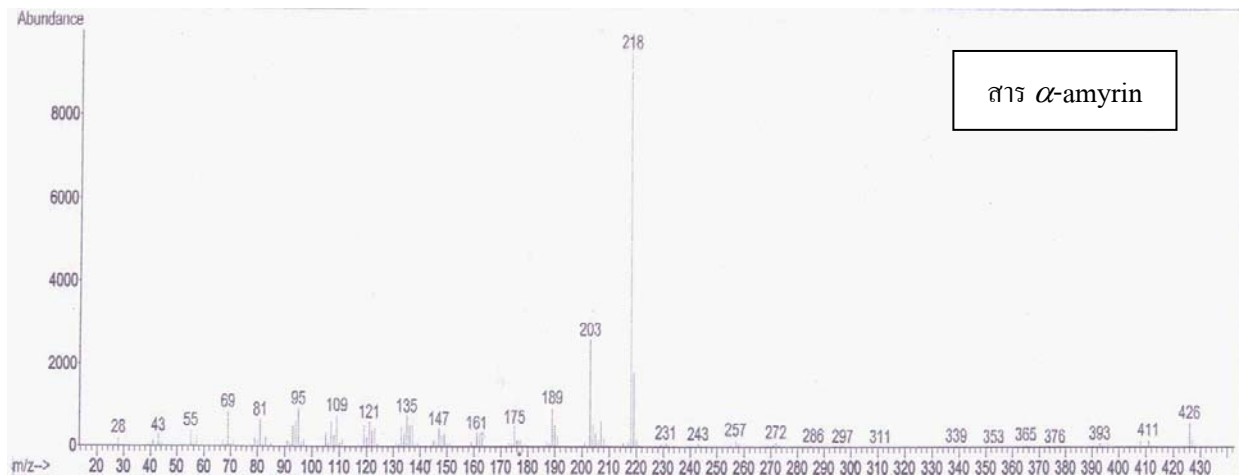
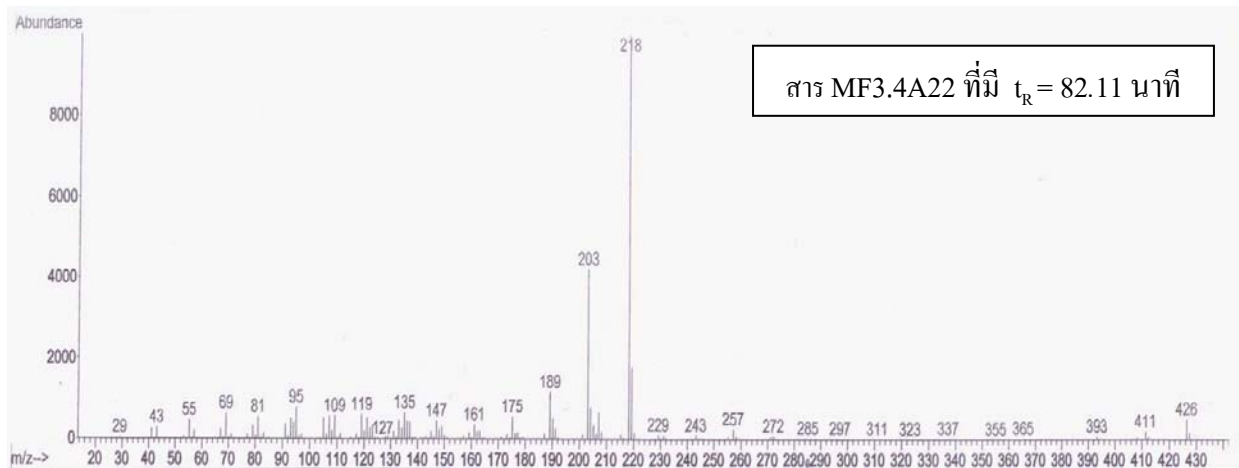
4.8.2 ผลการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร MF3.4A22

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสาร MF3.4A22 ($R_f = 0.75$, CH_2Cl_2 :hexane; 7:3) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ $188.0\text{--}193.0$ องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์สาร MF3.4A22 ด้วยเทคนิค GC-MS จาก GC โครมาโทแกรม พบพีคที่มีขนาดใหญ่ 2 พีค ที่มี $t_R = 80.53$ และ $t_R = 82.11$ นาที เมื่อนำ mass spectrum ของสารที่ $t_R = 80.53$ นาที ไปเทียบกับ mass spectrum ของสารมาตรฐานจาก GC-MS library พบว่ามี mass spectrum เหมือนกับ mass spectrum ของสาร β -amyrin โดยมีค่าร้อยละความเหมือนถึง 96% และมี molecular ion peak ที่ m/z 426(M^+ ,5), 218(100), 203(45), 189(13), 175(5) และ 109(6) และเมื่อนำ mass spectrum ของสารที่มี $t_R = 82.11$ นาที ไปเทียบกับ mass spectrum ของสารมาตรฐานจาก GC-MS library พบว่าเหมือนกับ mass spectrum เหมือนกับ mass

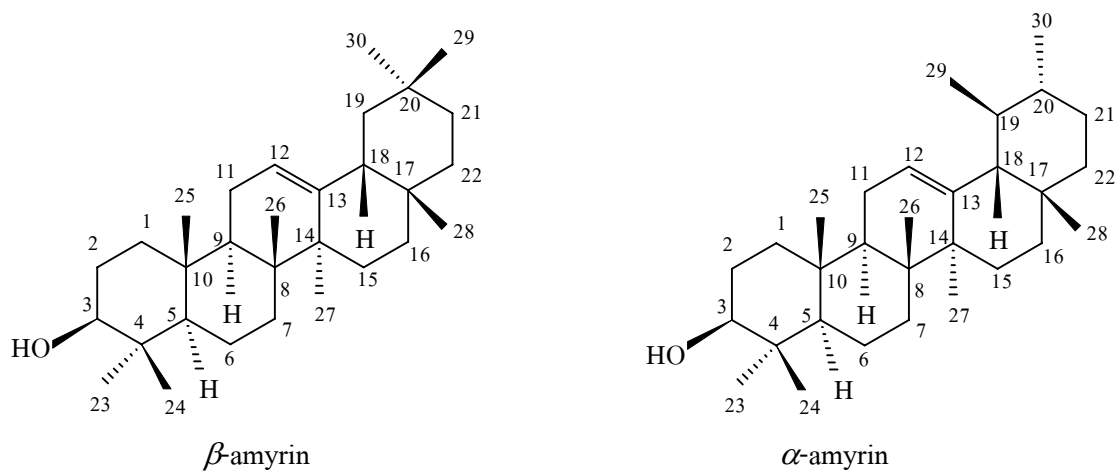
spectrum ของสาร α -amyrin โดยมีค่าร้อยละความเหมือนถึง 97% และมี molecular ion peak ที่ m/z 426(M^+ ,8), 218(100), 203(15), 189(7), 175(3) และ 109(7) ดังรูป 4.14-4.15 และพบอัตราส่วนพื้นที่พีคของสาร β -amyrin ต่อ α -amyrin เป็น 2:1 จากช่วงการหลอมเหลวของสาร MF3.4A22 ค่อนข้างกว้าง (5 องศาเซลเซียส) และผลจากเทคนิค GC-MS พบพีคใหญ่ 2 พีค ดังนั้นในเบื้องต้นคาดว่าสาร MF3.4A22 น่าจะเป็นสารผสมระหว่าง β -amyrin และ α -amyrin มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{30}H_{50}O$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 426 สูตรโครงสร้างของ β -amyrin และ α -amyrin เป็นดังรูป 4.16



รูป 4.14 Mass Spectrum ของสาร MF3.4A22 พีคที่ $t_R = 80.53$ นาที และสาร β -amyrin

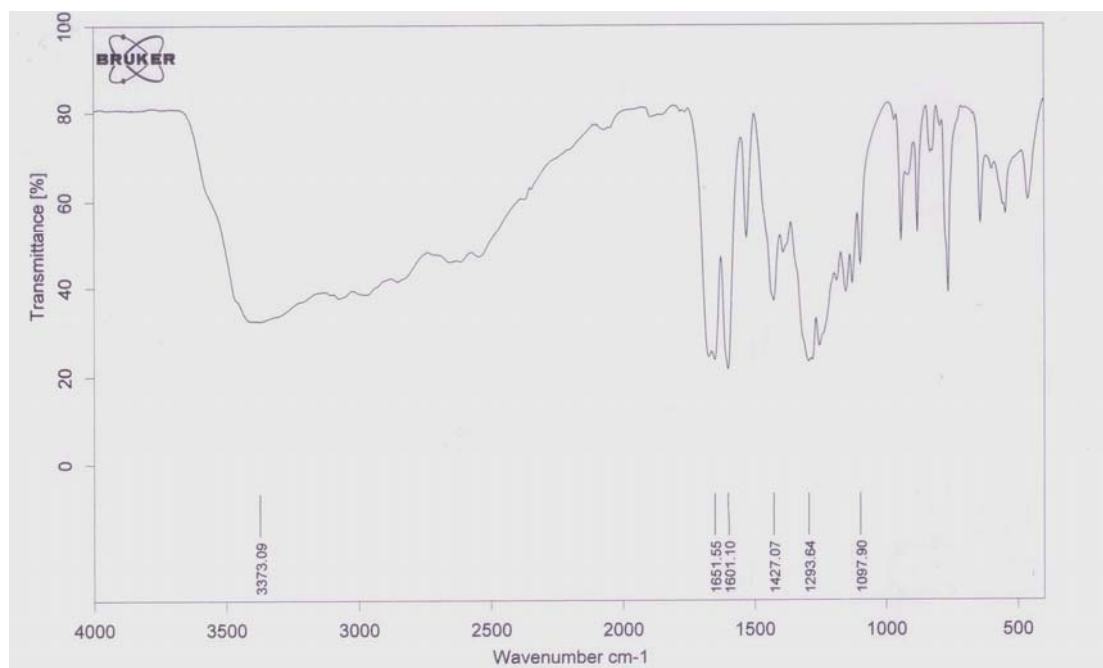


รูป 4.15 Mass Spectrum ของสาร MF3.4A22 พิคที่ $t_R = 82.11$ นาที และสาร α -amyrin



รูป 4.16 โครงสร้างของสาร β -amyrin และ α -amyrin

ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี พบว่า จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.4A22 แสดงให้เห็นพีคต่างๆ ที่สำคัญใน โมเลกุล ซึ่งสามารถระบุหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้อง แสดงดังรูป 4.17 และตาราง 4.41 ตามลำดับ



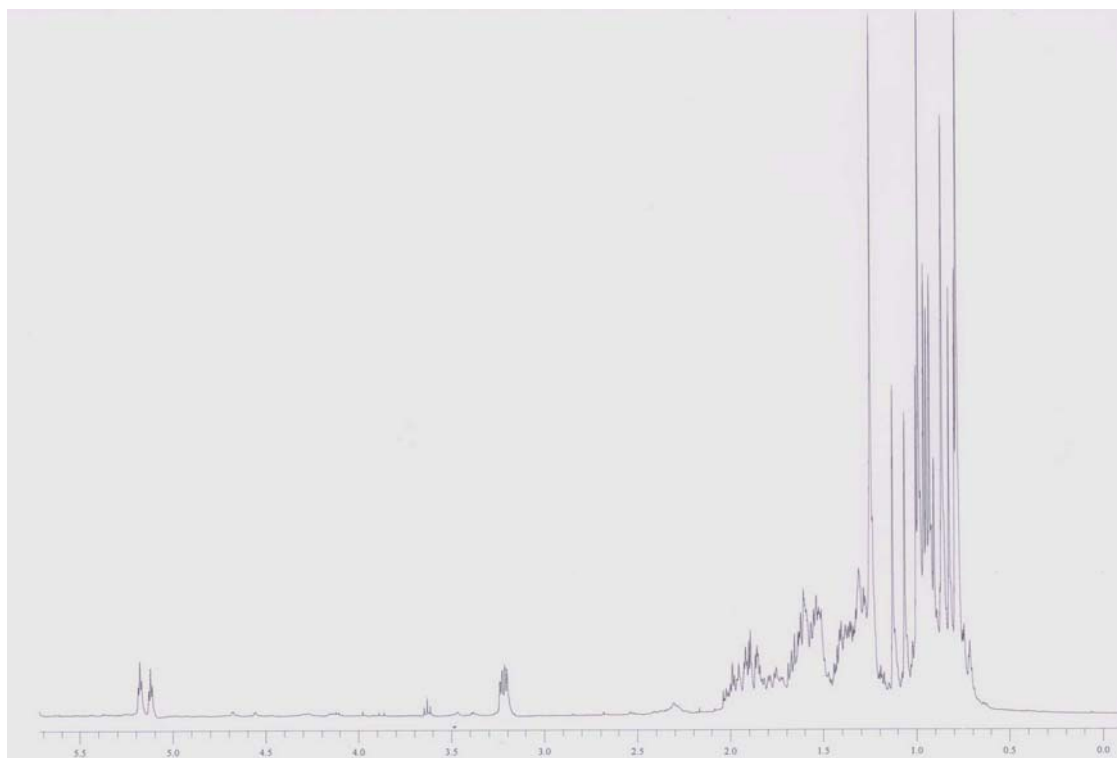
รูป 4.17 IR สเปกตรัมของสาร MF3.4A22 (KBr pellet)

ตาราง 4.41 การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.4A22

Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
3373	O-H stretching
1651-1601	C=C stretching
1427	CH ₂ bending
1097	C-O stretching

พิจารณาข้อมูลจาก IR สเปกตรัม ของสาร MF3.4A22 ดังรูป 4.17 และตาราง 4.41 จะเห็นว่า สาร MF3.4A22 มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ คือหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งมีการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H ที่ 3373 cm⁻¹ มีการสั่นแบบงอของพันธะ C-H ของหมู่ -CH₂ ที่ 1427 cm⁻¹ มีการสั่นแบบยืดของพันธะ C=C ที่ 1651-1601 cm⁻¹ และมีการสั่นแบบยืดของพันธะ C-O ที่ 1097 cm⁻¹

ผลการวิเคราะห์สาร MF3.4A22 ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ได้ผลแสดงดังรูป 4.18 และตาราง 4.42



รูป 4.18 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) ของสาร MF3.4A22

ตาราง 4.42 ผลการวิเคราะห์สาร MF3.4A22 ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

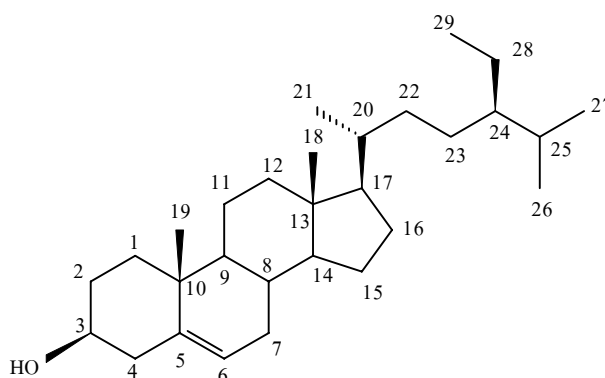
Carbon No.	δ_{H} ของ α -amyrin (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ของ α -amyrin (lit. ¹⁰⁵) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ของ β -amyrin (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ของ β -amyrin (lit. ¹⁰⁵) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	3.21 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 5.05, 11.12)	3.16 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 5.1, 11.2)	3.20 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 4.55, 10.86)	3.15 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 4.4, 10.86)
4	-	-	-	-
5	0.71 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.62)	0.67 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.6)	0.72 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.60)	0.68 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.0)
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-

Carbon No.	δ_{H} ທີ່ α -amyrin (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ທີ່ α -amyrin (lit. ¹⁰⁵) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ທີ່ β -amyrin (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} ທີ່ β -amyrin (lit. ¹⁰⁵) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	5.12 (<i>t</i> , <i>J</i> = 3.54)	5.06 (<i>t</i> , <i>J</i> = 3.2)	5.16 (<i>t</i> , <i>J</i> = 3.54)	5.12 (<i>t</i> , <i>J</i> = 3.2)
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	1.96 (<i>m</i>)	1.94 (<i>td</i> , <i>J</i> = 4.5, 13.5)	1.92 (<i>m</i>)	1.89 (<i>td</i> , <i>J</i> = 4.0, 14.0)
16	1.77 (<i>m</i>)	1.76 (<i>td</i> , <i>J</i> = 5.0, 13.5)	1.69 (<i>m</i>)	1.70(<i>td</i> , <i>J</i> = 4.3, 13.5)
17	-	-	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	1.92 (<i>m</i>)	1.93 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 4.0, 13.7)
20	-	-	-	-
21	-	-	-	-
22	1.86 (<i>dt</i> , <i>J</i> = 3.28, 6.57)	1.85 (<i>dt</i> , <i>J</i> = 3.0, 7.0)	1.82 (<i>m</i>)	1.80 (<i>m</i>)
23	0.93 (<i>s</i>)	0.93 (<i>s</i>)	0.78 (<i>s</i>)	0.77 (<i>s</i>)
24	0.78 (<i>s</i>)	0.74 (<i>s</i>)	0.92 (<i>s</i>)	0.90 (<i>s</i>)
25	0.74 (<i>s</i>)	0.73 (<i>s</i>)	0.74 (<i>s</i>)	0.73 (<i>s</i>)
26	0.90 (<i>s</i>)	0.89 (<i>s</i>)	0.95 (<i>s</i>)	0.93 (<i>s</i>)
27	1.03 (<i>s</i>)	1.01 (<i>s</i>)	1.22 (<i>s</i>)	1.19 (<i>s</i>)
28	0.95 (<i>s</i>)	0.94 (<i>s</i>)	1.06 (<i>s</i>)	1.07 (<i>s</i>)
29	0.86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.21)	0.85 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.0)	0.89 (<i>s</i>)	0.87 (<i>s</i>)
30	0.72 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.84)	0.73 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7.0)	0.82 (<i>s</i>)	0.80 (<i>s</i>)

จากผล $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสาร MF3.4A22 แสดงสัญญาณโปรตอนตรงตำแหน่งพันธะคู่ของ α -amyrin และ β -amyrin เป็นแบบ triplet มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 5.12 ppm ($J = 3.54$ Hz) และ 5.16 ppm ($J = 3.54$ Hz) ตามลำดับ นอกจากนี้โปรตอนตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลของ α -amyrin และ β -amyrin เป็นแบบ doublet of doublet มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 3.22 ppm ($J = 5.05, 11.12$ Hz) และ 3.21 ppm ($J = 4.55, 10.86$ Hz) ตามลำดับ ส่วนโปรตอนอื่นๆ α -amyrin และ β -amyrin มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 0.6-2.0 ppm จากผล $^1\text{H-NMR}$ พบว่าสัญญาณโปรตอนบางค่าซ้อนทับกัน ทำให้บอกตำแหน่งของสารระหว่างสาร α -amyrin และสาร β -amyrin ก่อนข้างยาก ซึ่งโดยทั่วไปการแยกสาร α -amyrin และ β -amyrin ออกจากกันด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีธรรมดาทำได้ยากมาก แต่จากการวิเคราะห์สาร MF3.4A22 ด้วยเทคนิค GC-MS, IR และ $^1\text{H-NMR}$ รวมถึงการหาค่าจุดหลอมเหลว และเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้รายงานไว้ (105) แสดงให้เห็นถึงข้อมูลที่ใกล้เคียงกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าสาร MF3.4A22 ที่แยกได้ คือ สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin

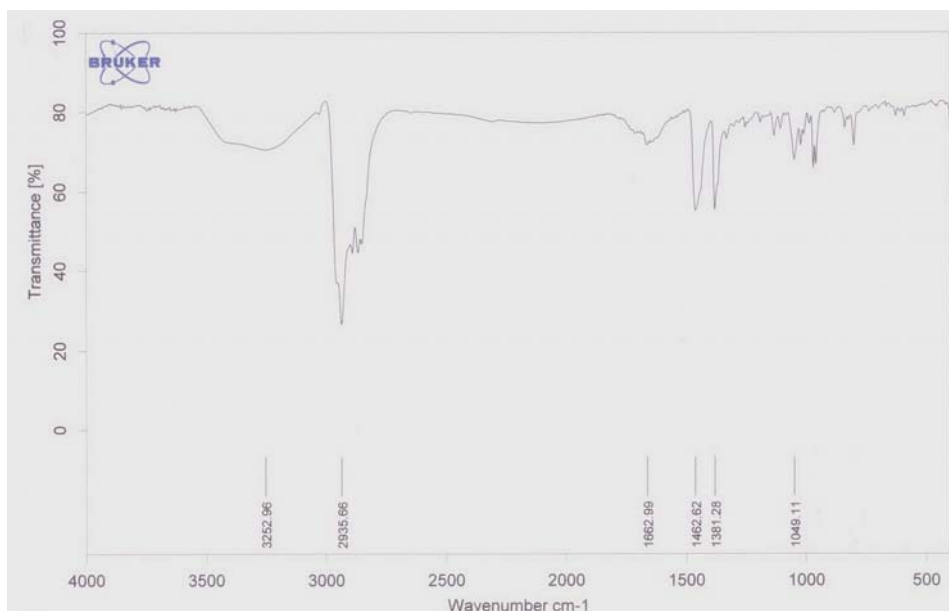
4.8.3 ผลการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร MF3.6A2

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสาร MF3.6A2 ($R_f = 0.50$, EtOAc:hexane; 2:8) ค่าจุดหลอมเหลว เท่ากับ 138.0-140.0 องศาเซลเซียส (จุดหลอมเหลวที่ Kolak และคณะ ได้รายงานไว้ เท่ากับ 138-139 องศาเซลเซียส) (106) ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เมื่อนำ mass spectrum ของ สาร FM3.6A2 ไปเทียบกับ mass spectrum สารมาตรฐานจาก GC-MS library พบว่า mass spectrum เหมือนกับ mass spectrum ของสาร β -sitosterol โดยมีค่าร้อยละความเหมือนถึง 95 % และมี molecular ion peak ที่ 414(M^+ , 100), 396(85), 381(45), 329(64), 303(65) และ 213(70) ดังนั้น ในเบื้องต้นคาดว่าสาร MF3.6A2 น่าจะเป็นสาร β -sitosterol มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 414 ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง β -sitosterol เป็นดังรูป 4.19



รูป 4.19 โครงสร้างของสาร β -sitosterol

จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แสดงให้เห็นพีคต่างๆ ที่สำคัญในโมเลกุล ซึ่งสามารถระบุหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้อง แสดงดังรูป 4.20 และตาราง 4.43 ตามลำดับ



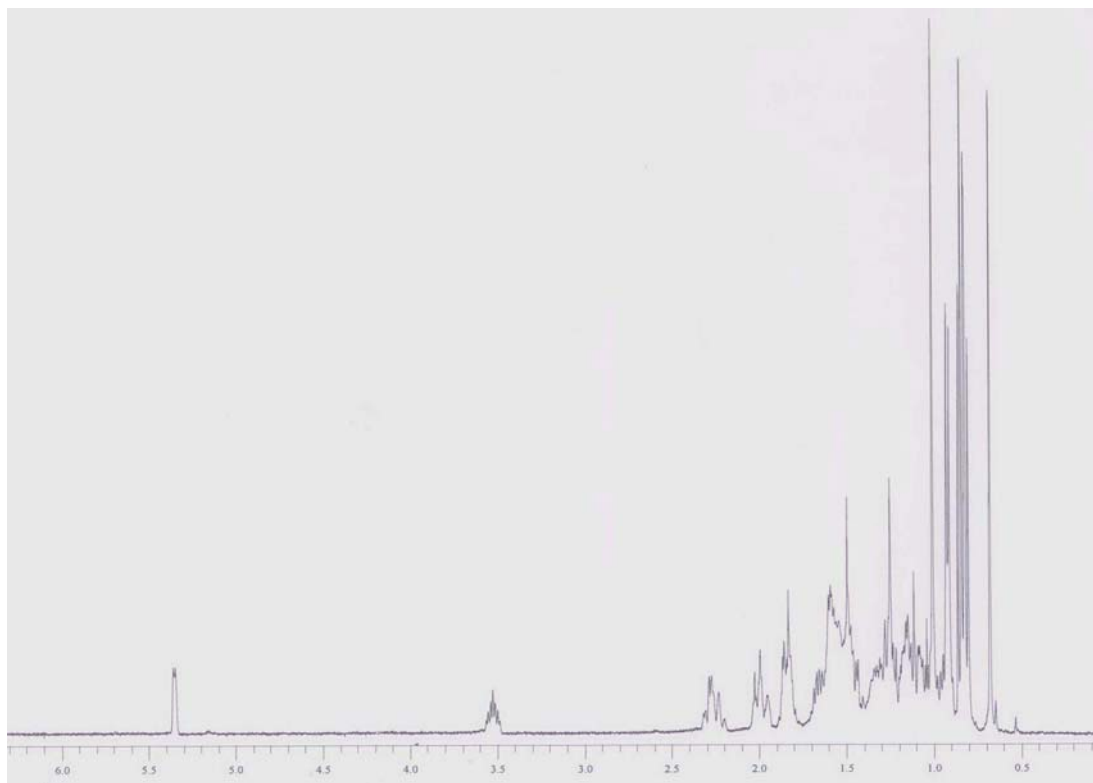
รูป 4.20 IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 (KBr pellet)

ตาราง 4.43 การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2

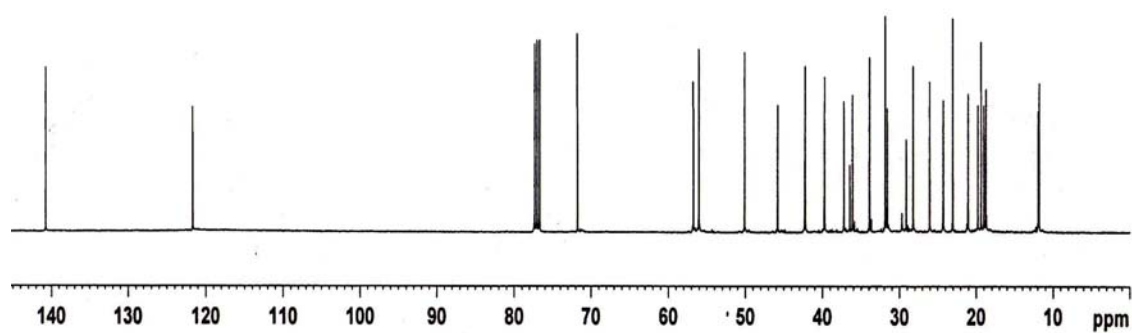
Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
3253	O-H stretching
2936 และ 2850	CH ₃ stretching
1662	C=C stretching
1462	CH ₂ bending
1381	CH ₃ bending
1049	C-O stretching

พิจารณาข้อมูลจาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 ดังรูป 4.20 และตาราง 4.43 จะเห็นว่าสาร MF3.6A2 มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ คือหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งมีการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H ที่ 3253 cm⁻¹ มีการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H ของหมู่ CH₃ ที่ 2936 และ 2850 cm⁻¹ มีการสั่นแบบงอของพันธะ C-H ของหมู่ -CH₂- และ -CH₃ ที่ 1462 และ 1381 cm⁻¹ นอกจากนี้มีการสั่นแบบยืดของพันธะ C=C ที่ 1662 cm⁻¹ และการสั่นแบบยืดของพันธะ C-O ที่ 1049 cm⁻¹

ผลการวิเคราะห์สาร MF3.6A2 ด้วยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ได้ผลแสดงดังรูป 4.21-4.22 และตาราง 4.44 ตามลำดับ



รูป 4.21 ^1H -NMR Spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) ของสาร MF3.6A2



รูป 4.22 ^{13}C -NMR Spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ของสาร MF3.6A2

ตาราง 4.44 ผลการวิเคราะห์สาร MF3.6A2 ด้วยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR spectroscopy

Carbon No.	δ_{H} (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} (lit. ¹⁰⁶) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (lit. ¹⁰⁶) (ppm)
1	-	-	37.25	37.33
2	-	-	31.65	31.63
3	3.52 (<i>m</i>)	3.52 (<i>m</i>)	71.80	71.73
4	-	-	42.18	42.20
5	-	-	140.75	140.71
6	5.35 (<i>d</i> , <i>J</i> = 5.24)	5.35 (<i>m</i>)	121.70	121.63
7	-	-	31.89	31.96
8	-	-	31.81	31.81
9	-	-	51.10	51.13
10	-	-	36.45	36.43
11	-	-	21.10	21.09
12	-	-	39.72	39.79
13	-	-	42.40	42.37
14	-	-	56.76	56.75
15	-	-	24.27	24.15
16	-	-	28.21	28.25
17	-	-	56.05	56.02
18	0.68 (<i>s</i>)	0.69 (<i>s</i>)	11.84	11.84
19	1.01 (<i>s</i>)	1.01 (<i>s</i>)	19.40	19.46
20	-	-	36.13	36.07
21	0.93 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.57)	0.92 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6.4)	18.77	18.68
22	-	-	33.81	33.95
23	-	-	25.95	26.10
24	-	-	45.82	45.82
25	-	-	29.19	29.15

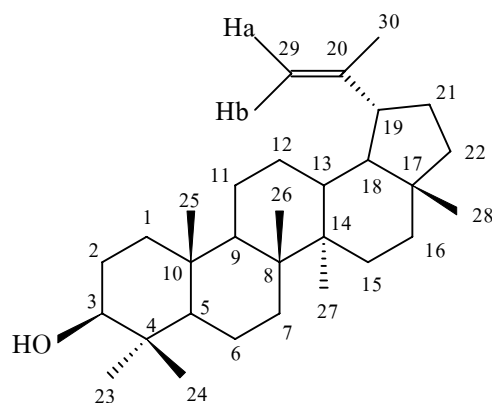
Carbon No.	δ_{H} (mult., J (Hz))	δ_{H} (lit. ¹⁰⁶) (mult., J (Hz))	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (lit. ¹⁰⁶) (ppm)
26	0.83 (d, J = 7.32)	0.83 (d, J = 6.8)	19.80	19.77
27	0.82 (d, J = 7.07)	0.81 (d, J = 6.9)	19.08	19.21
28	-	-	23.10	23.13
29	0.86 (t, J = 7.58)	0.85 (t, J = 7.8)	11.96	11.04

จากผล $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 แสดงสัญญาณโปรตอนของหมู่ methyl 6 หมู่ มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 0.68 (s, H-18), 0.83 (d, J = 7.32 Hz, H-26), 0.82 (d, J = 7.07 Hz, H-27), 0.86 (t, J = 7.58 Hz, H-29), 0.93 (d, J = 6.57 Hz, H-21) และ 1.01 (s, H-19) ppm ส่วนโปรตอนที่เป็นพันธะคู่ตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 แสดงค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 5.36 ppm เป็นแบบ doublet of doublet (J = 5.24) นอกจากนี้โปรตอนตรงตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล แสดงค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 3.52 ppm เมื่อพิจารณา $^{13}\text{C-NMR}$ สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 พบสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 29 สัญญาณ จากคาร์บอน 29 คาร์บอนในโครงสร้าง ดังตาราง 4.44

จากผลการวิเคราะห์สาร MF3.6A2 ด้วยเทคนิค GC-MS, IR, $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ รวมถึงค่าจุดหลอมเหลว และนำผลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้รายงานไว้ (106) แสดงให้เห็นถึงข้อมูลที่ใกล้เคียงกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าสาร MF3.6A2 ที่แยกได้ คือสาร β -sitosterol

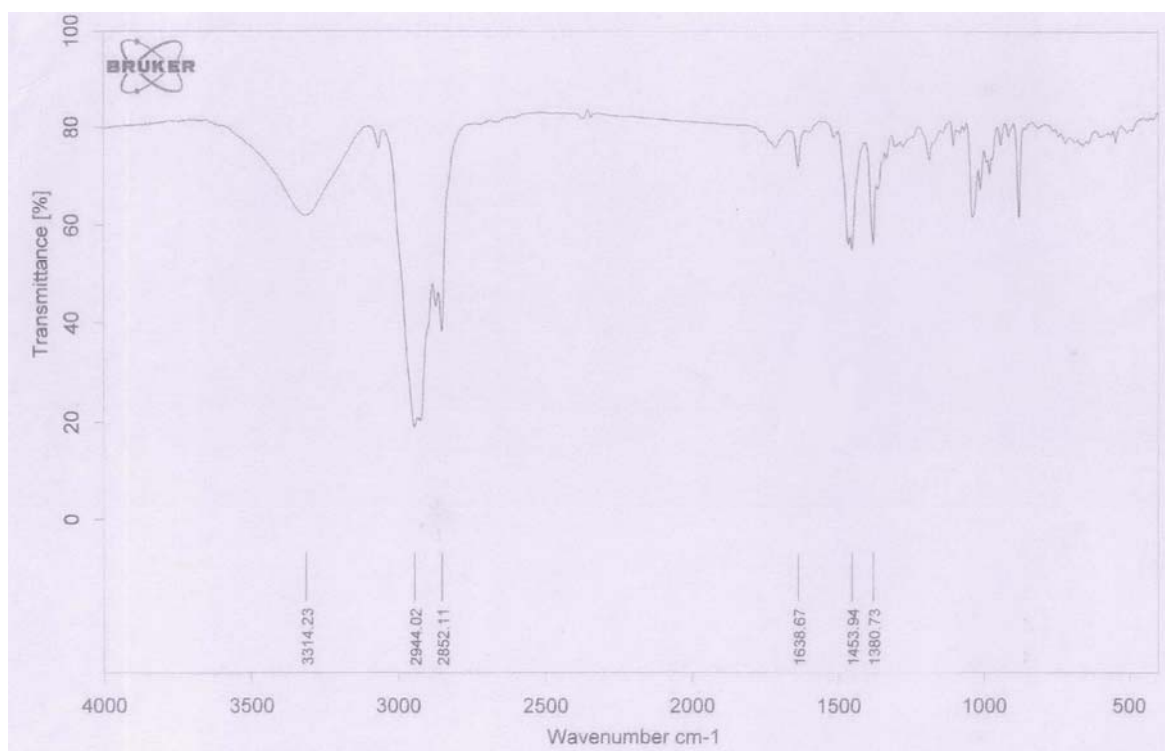
4.8.4 ผลการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร MF4.3A3

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสาร MF4.3A3 ($R_f = 0.33$, EtOAc:hexane; 2:8) ค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ 213.0-214.5 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เมื่อนำ mass spectrum ของสาร MF4.3A3 ไปเทียบกับ mass spectrum สารมาตรฐานจาก GC-MS library พบว่า mass spectrum เหมือนกับ mass spectrum ของสาร lupeol โดยมีค่าร้อยละความเหมือนถึง 97 % และมี molecular ion peak ที่ m/z 426(M^+ , 25), 411(5), 315(5), 257(6), 218(40), 207(62), 189(51), 109(64), 68(98) และ 43(100) ดังนั้น ในเบื้องต้นคาดว่าสาร MF4.3A3 น่าจะเป็นสาร lupeol มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 426 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูป 4.23 นอกจากนี้จุดหลอมเหลวของสาร MF4.3A3 ใกล้เคียงกับสาร lupeol ที่ได้รายงานไว้ (213 องศาเซลเซียส) (107)



รูป 4.23 โครงสร้างของสาร lupeol

จาก IR สเปกตรัม ของสาร MF4.3A3 ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แสดงให้เห็นพีกต่างๆ ที่สำคัญในโมเลกุล ซึ่งสามารถระบุหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้อง แสดงดังรูป 4.24 และตาราง 4.45 ตามลำดับ



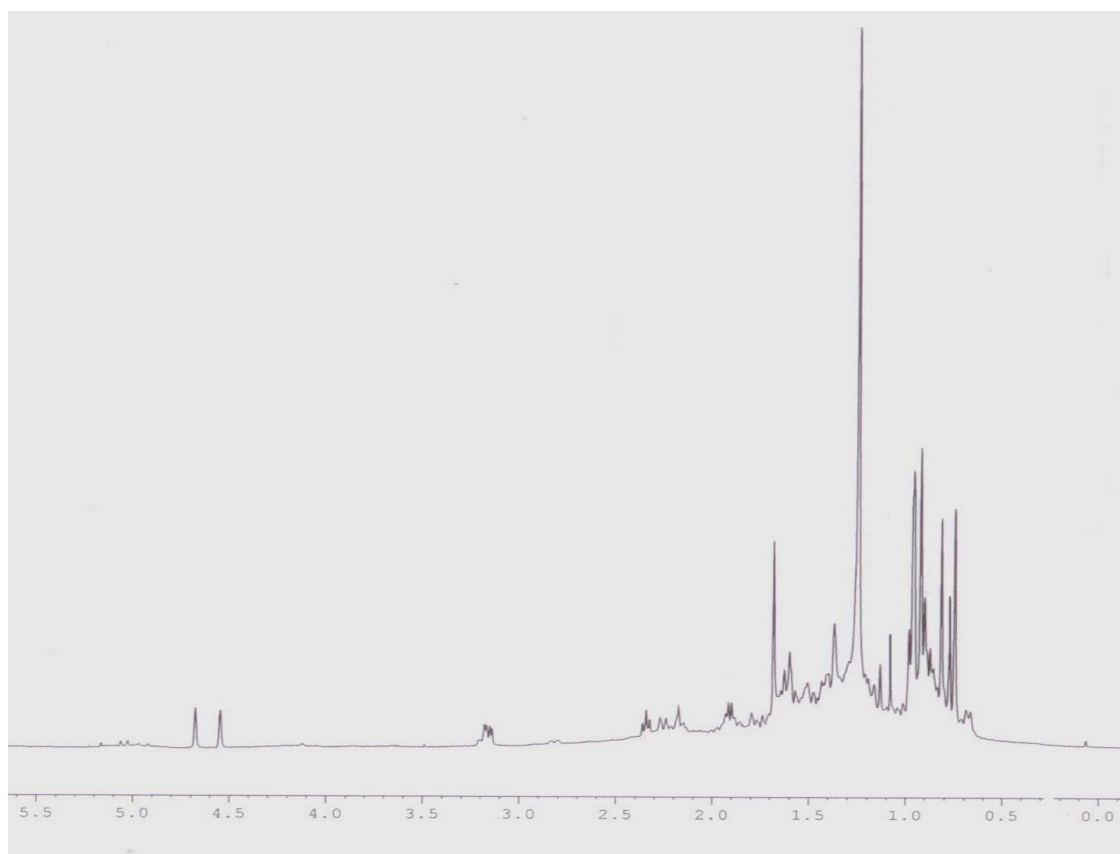
รูป 4.24 IR สเปกตรัมของสาร MF4.3A3 (KBr pellet)

ตาราง 4.45 การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF4.3A3

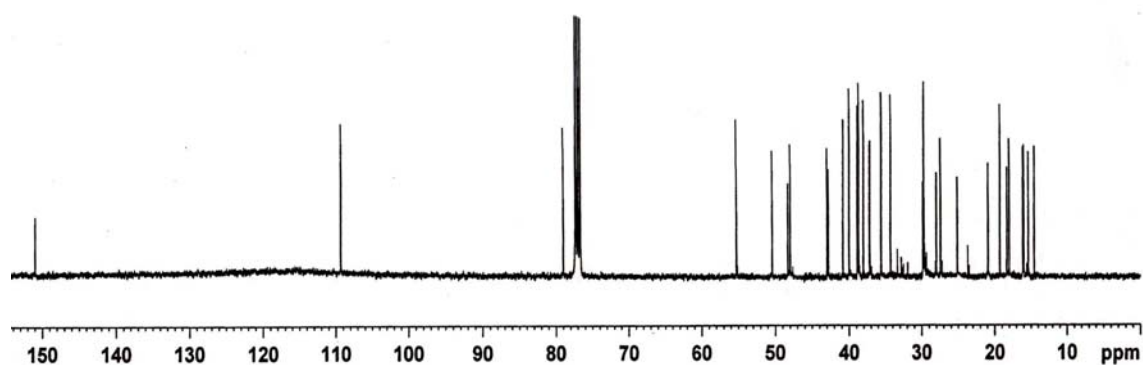
Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional group
3,314	O-H stretching
2,944 and 2852	CH ₃ stretching
1,454	C=C stretching

พิจารณาข้อมูลจาก IR สเปกตรัม ของสาร MF4.3A3 จะเห็นว่าสาร MF4.3A3 มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ คือ หมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งมีการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H ที่ $3,314\text{ cm}^{-1}$ มีการสั่นแบบยืดของพันธะ C=C ที่ $1,454\text{ cm}^{-1}$ และมีการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H ของหมู่ CH_3 ที่ $2,924$ และ $2,852\text{ cm}^{-1}$

ผลการวิเคราะห์สาร MF4.3A3 ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ได้ผลแสดงดังรูป 4.25-4.26 และตาราง 4.46 ตามลำดับ



รูป 4.25 ^1H -NMR Spectrum (CDCl_3 , 400 MHz) ของสาร MF4.3A3



รูป 4.26 ^{13}C -NMR Spectrum (CDCl_3 , 100 MHz) ของสาร MF4.3A3

ตาราง 4.46 ผลการวิเคราะห์สาร MF4.3A3 ด้วยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR spectroscopy

Carbon No.	δ_{H} (mult., J (Hz))	δ_{H} (lit. ¹⁰⁷) (mult., J (Hz))	δ_{C}^* (ppm)	δ_{C} (lit. ¹⁰⁷) (ppm)
1	1.64 (m)	0.94 (m), 1.64 (m)	38.6	38.7
2	1.60 (m)	1.61 (m)	27.4	27.5
3	3.18 (dd, J = 11.12, 5.24)	3.18 (dd, J = 11.0, 5.3)	79.2	79.3
4	-	-	39.7	39.8
5	0.68 (m)	0.69 (m)	55.4	55.5
6	1.3-1.5 (m)	1.39 (m), 1.52 (m)	18.7	19.0
7	1.37 (m)	1.38 (m)	34.2	34.2
8	-	-	40.9	41.1
9	1.2-1.4 (m)	1.30 (m)	50.5	50.9
10	-	-	37.2	37.2
11	1.2-1.5 (m)	1.29 (m), 1.43 (m)	20.9	21.2
12	1.0-1.1(m)	1.10 (m), 1.70 (m)	25.3	25.3
13	1.63 (m)	1.62 (m)	38.2	38.5
14	-	-	42.8	42.8
15	0.97 (m), 1.6-1.7 (m)	0.96 (m), 1.61 (m)	27.4	27.2
16	1.49 (m)	1.48 (m)	35.7	35.9
17	-	-	43.1	43.2

Carbon No.	δ_{H} (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{H} (lit. ¹⁰⁷) (<i>mult.</i> , <i>J</i> (Hz))	δ_{C}^* (ppm)	δ_{C} (lit. ¹⁰⁷) (ppm)
18	1.38 (<i>m</i>)	1.39 (<i>m</i>)	48.4	48.5
19	2.37 (<i>dt</i> , <i>J</i> = 11.10, 5.70)	2.38 (<i>m</i>)	47.9	47.8
20	-	-	151.1	151.2
21	1.26 (<i>m</i>)	1.27 (<i>m</i>)	29.7	30.1
22	1.18 (<i>m</i>)	1.19 (<i>m</i>)	40.4	40.3
23	0.96 (<i>s</i>)	0.97 (<i>s</i>)	28.0	28.4
24	0.76 (<i>s</i>)	0.77 (<i>s</i>)	15.5	15.6
25	0.83 (<i>s</i>)	0.84 (<i>s</i>)	16.2	16.2
26	1.05 (<i>s</i>)	1.04 (<i>s</i>)	16.0	16.1
27	0.93 (<i>s</i>)	0.96 (<i>s</i>)	14.6	14.8
28	0.79 (<i>s</i>)	0.80 (<i>s</i>)	18.0	18.1
29	4.55 (<i>brs</i>), 4.67 (<i>brs</i>)	4.56 (<i>s</i>), 4.68 (<i>s</i>)	109.3	109.5
30	1.68 (<i>s</i>)	1.70 (<i>s</i>)	19.3	19.8

จากผล ^1H NMR สเปกตรัม แสดงสัญญาณของโปรตอนของ methylene ตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 29 เป็นแบบ broad singlet ซึ่งมีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 4.67 (H_{a} -29) และ 4.55 (H_{b} -29) นอกจากนี้โปรตอนตรงหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เป็นแบบ doublet of doublet แสดงค่า chemical shift ที่ 3.18 ($J = 11.12, 5.24$ Hz) โปรตอนของ methine ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 19 เป็นแบบ doublet of triplet แสดงค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 2.37 ($J = 11.10, 5.70$ Hz). นอกจากนี้โปรตอนคาร์บอนที่ 30 ที่เป็นพันธะคู่แสดงค่า chemical shift แบบ singlet ที่ตำแหน่ง 1.68 ppm และโปรตอนของหมู่ tertiary methyl อีก 6 หมู่ แสดงค่า chemical shift แบบ singlet ที่ตำแหน่ง 0.76 (H-24), 0.79 (H-28), 0.83 (H-25), 0.93 (H-27), 0.96 (H-23) และ 1.05 (H-26) ppm เมื่อพิจารณา ^{13}C -NMR สเปกตรัม พบสัญญาณของคาร์บอน 30 คาร์บอน และพบคาร์บอนที่สำคัญ คือ คาร์บอนที่มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 109.3 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของคาร์บอนที่เป็น methylene นอกจากนี้พบคาร์บอนที่มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 151.1 ppm เป็นสัญญาณของคาร์บอนที่เป็น quaternary carbon ที่ต่อกับคาร์บอนที่เป็น methylene นอกจากนี้คาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล มีค่า chemical shift ที่ตำแหน่ง 79.2 ppm.

จากผลการวิเคราะห์สาร MF4.3A3 ด้วยเทคนิค GC-MS, IR, ^1H NMR และ ^{13}C NMR รวมถึงค่าจุดหลอมเหลว เมื่อนำผลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้รายงานไว้ (107) แสดงให้เห็นถึงข้อมูลที่ตรงกัน จึงสามารถสรุปได้ว่า สาร MF4.3A3 ที่แยกได้ คือ lupeol

4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และเชื้อแกรมบวก *S. aureus* ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดโคลโลโรมิเทนของกิ่งบนานาค ได้แก่ สาร friedelin, สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin, สาร lupeol และสาร β -sitosterol ด้วยวิธี microtiter broth method และหาค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ได้ผลดังตาราง 4.47

ตาราง 4.47 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารที่แยกได้โดยวิธี microtiter broth method

สาร	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
friedelin	250	250
สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin	250	250
lupeol	250	500
β -sitosterol	1000	1000
gentamicin	3.13	1.57
amoxicillin	3.13	3.13

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารบริสุทธิ์ พบว่า สาร friedelin, สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin และสาร lupeol มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน β -sitosterol มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สาร friedelin และสารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสาร lupeol และสาร β -sitosterol มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เมื่อนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของเซลล์คน 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 นอกจากนี้ทดสอบความเป็นพิษของสารบริสุทธิ์ต่อเซลล์ปกติโดยใช้เซลล์ของไตลิงได้ผลดังตาราง 4.48

ตาราง 4.48ฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่แยกได้

สาร	IC ₅₀ (µg/mL)			
	KB-oral	MCF-7	NCI-H187	Vero cell
friedelin	IN	IN	IN	NC
สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin	IN	28.45	IN	NC
lupeol	30.12	34.25	21.56	NC
β -sitosterol	IN	IN	IN	NC
ellipticine	0.512	NT	0.875	1.335
doxorubicin	0.319	0.858	0.050	NT

IN = ไม่มีฤทธิ์ด้านมะเร็ง; NC = ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ; NT = ไม่ได้ทดสอบ

จากตาราง 4.48 พบว่า สารผสมระหว่าง α -amyrin และ β -amyrin มีฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 28.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ส่วนสาร lupeol มีฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ได้แก่เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 30.12, 34.25 and 21.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ และสารที่แยกได้ทั้งหมดนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

สาร lupeol เป็นสารที่พบในผัก และผลไม้ รวมถึงพืชสมุนไพรทั่วไป (108-110) จากการวิจัยครั้งนี้พบว่า สาร lupeol มีฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 รวมถึงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (*S. aureus* และ *E. coli*) ได้มีรายงานถึงสาร lupeol ในการต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด ได้แก่ 451Lu, WM35, B16-F10, B16 2F2, B16-F1, SK-MEL-2, G 361, SK-MEL-2, G 361, SK-MEL-28, MCF-7, K262, CEM, U937, HL60, A2780, Calu-1, A549, As-PC1, MIAPaCa 2, DLD-1, Hela, LNCaP, PC-3, CRW22Rv1, RPMI 8226, Saos 2, SH-10-TC, ACHN, T24, HT1080, GOTO, NB-1, Vero และ Raji (111) นอกจากนี้ได้มีรายงานกล่าวถึงฤทธิ์อื่นๆ ของสาร lupeol เช่น มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโปรโตซัว ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียอีกหลายชนิด เป็นต้น (111)

นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้พบว่าสารผสมระหว่างสาร α -amyrin และ β -amyrin มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli* และมีฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ซึ่งสาร α -amyrin และ β -amyrin นี้ ได้มีรายงานถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด รวมถึงฤทธิ์ด้านการอักเสบ และสาร β -amyrin มีรายงานถึงฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งชนิด A549 และ HL-60 (105)

ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดไคคลอโรมีเทนจากกิ่งบอนนาค เนื่องจากสารที่แยกได้มีปริมาณน้อยมาก แต่จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้ทำให้บอนนาคอาจนำไปพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อใช้ในการด้านเชื้ร่า ด้านเชื้แบคทีเรีย และด้านเซลล์มะเร็งต่อไป