บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ ได้ดำเนินการแยกองค์ประกอบและพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสเปกโทรสโกปีของสารในใบพลูที่คาดว่าจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเม็ดสีตามรายงานที่เคยมีมา (Liao, et al.,1999; พู่กลิ่น ตรีสุโกศล, 2544) ซึ่งในการทดสอบความเป็นพิษเพื่อยืนยันชนิดของสารดังกล่าว ทางคณะผู้วิจัยเลือกใช้เซลล์ BALB/3T3 โคลน A31 เป็นตัวแทนในการทดสอบเบื้องต้น (Roberta, et al.,2003) โดยเริ่มจากการสกัดสารจากใบพลูสดด้วยวิธีกลั่นแบบไอน้ำ ผงแห้งของสารสกัดขั้นน้ำจากกระบวนการดังกล่าวคิดเป็นผลผลิตร้อยละ 1.12 และเมื่อนำผงแห้งของสารสกัดขั้นน้ำไปทำการทดสอบกับเซลล์ พบว่าแสดงผลด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.034 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดขั้นน้ำจากใบพลูในขั้นแรกเป็นสิ่งที่ช่วยยืนยันได้ว่าภายในสารสกัดดังกล่าวมีสารประกอบทางเคมีที่อาจมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดอาการผิดปกติของเซลล์สร้างเม็ดสีในชั้นผิวหนัง

หลังจากการแยกองค์ประกอบโดยใช้ตัวทำละลายและเทคนิคทางโครมาโตกราฟีสารบริสุทธิ์ที่ทำการแยกได้ เมื่อนำไปทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy และ Mass spectroscopy พบว่าผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้างทางเคมีที่ได้จากการทดลองมีความสอดคล้องกับโครงสร้างของสาร 4-อัลลิล-ไพโรแคทีคอล ที่เคยมีรายงานมา (Rathee, et al., 2006) Infrared spectroscopy (KBr): 3,401.52 cm^{-1} (H-O stretching band), 1,604.67 cm^{-1} (-C=C- stretching band of alkene), 1,515.11 cm^{-1}, 1,443.19 cm^{-1}และ 1,279.39 cm^{-1} (-C-C- stretching of aromatic), 1190.13 cm^{-1}, 1,111.54 cm^{-1}, 963.30 cm^{-1}, 811.32 cm^{-1}และ 786.92 cm^{-1} ^{1}H-NMR (APCE ใน Acetone D^6, 400 MHz) ค่า chemical shift (δ) ในช่วง 3.21 ถึง3.22 ppm แสดงรูปแบบสเปกตรัมแบบ doublet (*J*; 6.68 Hz) ของ 2 โปรตอนจาก ethylene group ที่ต่ออยู่กับ aromatic ring (Ar-CH_2-) ส่วนค่า chemical shift ที่ 4.95 ถึง 5.04 ppm แสดงสเปกตรัมแบบ multiplex จาก 2 โปรตอนที่ olefin (–C=C-) ที่ 5.86 ถึง 5.96 แสดงสเปกตรัมแบบ multiplex จาก 1 โปรตอนที่ของหมู่ olefin (-C=C-) ที่ช่วง 6.50-6.75 แสดงรูปแบบสเปกตรัมแบบ multiplex ของ 3 โปรตอนจาก aromatic ring (Ar-H) และที่ 7.80 ppm แสดงพีค singlet จาก 2 โปรตอนของ hydroxyl group ที่ต่ออยู่กับ aromatic ring (Ar-OH) ^{13}C-NMR (100 MHz, $(CD_3)_2C=O$) แสดงค่า chemical shift (δ) ของคาร์บอน 9 ตำแหน่ง ดังต่อไปนี้: 40.14 ppm,

115.24 ppm, 115.99 ppm, 116.41 ppm, 120.56 ppm, 132.46 ppm, 139.17 ppm, 144.07 ppm, 145.77 ppm

ภายหลังจากการนำสาร 4-อัลลิล-ไพโรแคทีคอล ที่สกัดได้ไปทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ BALB/3T3 โคลน A31 โดยวิธี MTT assay พบว่าสาร 4-อัลลิล-ไพโรแคทีคอล ซึ่งเป็นองค์ประกอบในใบพลูแสดงผลด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ BALB/3T3 โคลน A31 ในหลอดทดลอง โดยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0055 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองนี้สามารถเป็นข้อสนับสนุนได้ว่าต้นเหตุของอาการ leukomelanosis จากการใช้ใบพลูนึ่งประคบบนผิวหน้าส่วนหนึ่งอาจมีสาเหตุมาจากผลด้านความเป็นพิษจากสาร 4-อัลลิล-ไพโรแคทีคอล ซึ่งเป็นองค์ประกอบในใบพลู ดังนั้นเพื่อเป็นการพิสูจน์และสนับสนุนผลการทดลองที่ว่าสาร 4-อัลลิล-ไพโรแคทีคอล จะแสดงผลด้านความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเม็ดสีหรือจะแสดงผลด้านความเป็นพิษกับเซลล์ชนิดอื่นบนชั้นผิวหนังในระดับใด อาจทำได้โดยการใช้เซลล์ชนิดต่างๆ บนชั้นผิวหนังของมนุษย์ อันประกอบด้วยเซลล์สร้างเม็ดสี (melanocyte) เซลล์ keratinocytec และเซลล์ fibroblast มาทำการทดสอบด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ต่อไป