

บทที่ 3

ผลและบทวิจารณ์

จากการตรวจค้นรายงานที่ได้ทำมาแล้วกับพืชสกุล *Aglaia* พบว่า แอลคาลอยด์บางชนิดจากพืชสกุลนี้มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และในการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านมะเร็ง¹⁹ โดยใช้ KB Cell Culture System พบว่า ส่วนสกัดหยาบของโคคลอโรมีเทนของ *A. argentea* Bl. ซึ่งผ่านการสกัดด้วยเฮกเซน ก่อนให้ค่า ED_{50} 3 ไมโครกรัม/ชม.³ ทำให้คาดว่า *A. argentea* Bl. น่าจะมีสารต้านมะเร็งอยู่ จึงได้นำพืชต้นนี้มาทำการสกัดตามแผนภาพที่ 1 ได้ crude Extract, Phenolic Extract และ Nonphenolic Extract นำส่วนสกัดหยาบทั้งสามไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง ได้ค่า ED_{50} 3, 1.75 และ 7.5 ไมโครกรัม/ชม.³ ตามลำดับ แม้ว่า Phenolic Extract ให้ค่า ED_{50} ต่ำอยู่ในระดับที่น่าจะทำการแยกสารแสดงฤทธิ์จากส่วนนี้ต่อ แต่ส่วนสกัดนี้มีปริมาณน้อยมาก (% Yield=0.49 %) และจากการสังเกตด้วยโครมาโตกราฟีแผ่นบาง พบว่าส่วนสกัดนี้มีสารต่าง ๆ ซ้อนกันอยู่มากจนยากแก่การแยกให้บริสุทธิ์ สำหรับ Nonphenolic Extract ให้ค่า ED_{50} ต่ำอยู่ในระดับที่น่าสนใจเช่นกัน โดยมีปริมาณมากกว่า (% Yield=4.15 %) และจากการสังเกตด้วยโครมาโตกราฟีแผ่นบาง พบว่า ส่วนสกัดนี้มีสารต่าง ๆ ที่แยกจากกันได้ตั้งง่ายต่อการแยกให้บริสุทธิ์ ดังนั้นผู้ดำเนินการวิจัยจึงได้มุ่งมาทำการแยกส่วนสกัดนี้ตามแผนภาพที่ 2 ได้สาร 5 ชนิด คือ สาร ก, สาร ข, สาร ค, สาร ง, และสาร จ ตามลำดับ

จากการตรวจสอบด้วยโครมาโตกราฟีแผ่นบาง สาร ค. ให้ค่า R_f ใกล้เคียงกับ Odorine แม้จะเป็นสารที่มีกลิ่นแล้ว⁶ แต่ยังไม่มียางานการทดสอบฤทธิ์ของสารตัวนี้ว่ามีฤทธิ์ต้านมะเร็ง จึงได้นำสารนี้มาศึกษาสูตร โครงสร้างและฤทธิ์ต้านมะเร็ง

การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร ค.

UV spectra (ภาพที่ 1)

สาร ค. ให้ $\lambda_{\text{Max}}^{\text{Ethanol}} = 283 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4.26$) ซึ่งเกิดจาก Cinnamic Aldehyde Part^{6.18}

IR Spectra (ภาพที่ 2)

สาร ค. ประกอบด้วย Peaks ต่าง ๆ ดังนี้

N-H Stretching ที่ $\nu_{\text{Max}} 3250 \text{ cm}^{-1}$

C-H Stretching ของ Aromatic Hydrocarbon ที่ $\nu_{\text{Max}} 3030 \text{ cm}^{-1}$

2° Amide ที่ $\nu_{\text{Max}} 1675, 1525, 1320 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็น $\checkmark$ ของ Band I, Band II และ Band III ตามลำดับ

3° Amide ที่ $\nu_{\text{Max}} 1645 \text{ cm}^{-1}$

Monosubstituted Benzene ที่ $\nu_{\text{Max}} 1600, 1520, 1500, 765$ และ 680 cm^{-1}

C-N Stretching ที่ $\nu_{\text{Max}} 1265 \text{ cm}^{-1}$

NMR Spectra (ภาพที่ 3, 3.1 และ 3.2)

สาร ค. ให้สัญญาณของ Trans Olefinic Proton ที่ $\delta 7.68$ (1H,d) และ 6.92 (1H,d) สัญญาณของ Aromatic Proton 5 ตัวที่ $\delta 7.52$ (2H,m) และ 7.34 (3H,m) สัญญาณของ 2° Amide ที่ $\delta 6.53$ (1H,d) สัญญาณของ Proton ใน pyrrolidine Ring ที่ $\delta 6.15$ (1H,t), 3.60 (2H, ABq), 2.00 (2H, ABq) และ 1.95 (2H,m) สัญญาณของ Methine Proton ที่ $\delta 2.25$ (1H,m) สัญญาณของ methylene Proton ที่ $\delta 1.55$ (2H, ABq) สัญญาณของ Methyl 2 กลุ่มที่ $\delta 1.06$ (3H,d) และ 0.9 (3H,t) นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ Trans Olefinic Proton ที่ $\delta 7.71$ (1H,d) และ 6.97 (1H,d) สัญญาณคู่นี้ซ้อนทับกับสัญญาณของ Trans Olefinic Proton คู่แรก และพบสัญญาณของ Methyl Proton อีก 2 สัญญาณ คือ ที่ 1.18 (3H,d) และ 0.8 (3H,t)

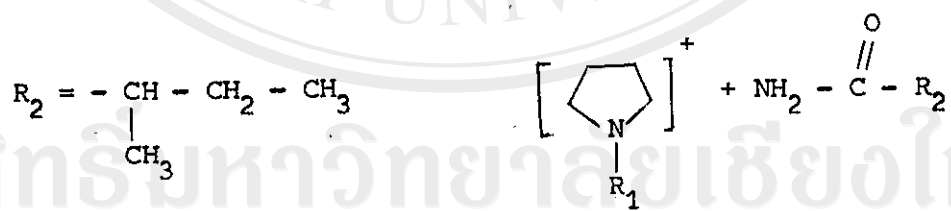
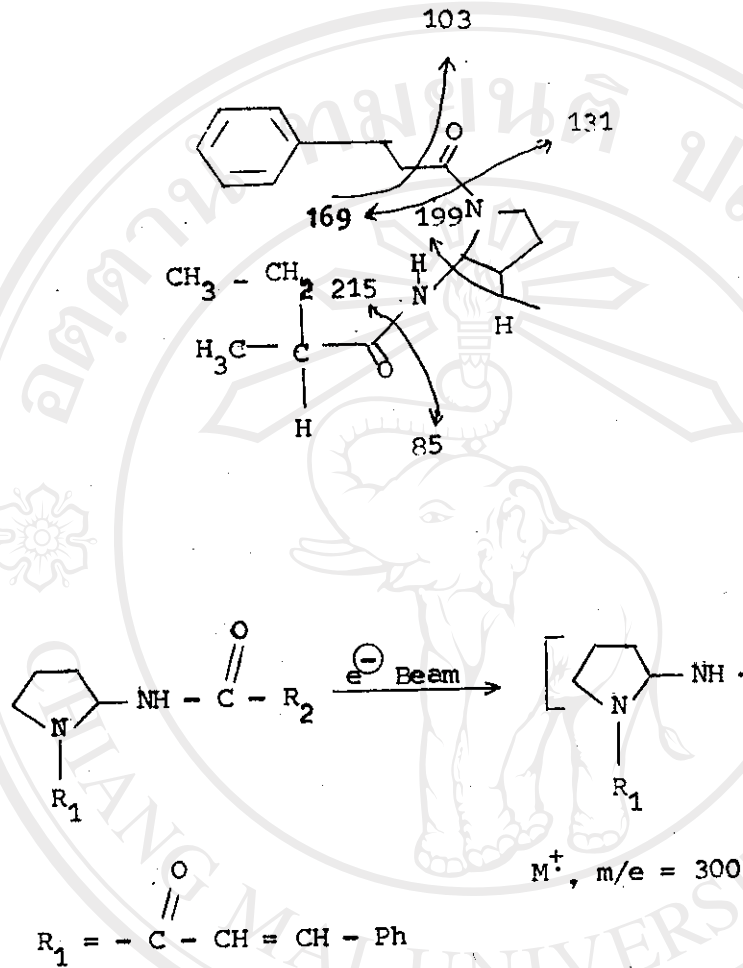
จากการเปรียบเทียบสัญญาณเหล่านี้กับรายงานที่ได้มีผู้ทำมาแล้ว¹² สรุปได้ว่า Trans Olefinic Proton คู่แรก และ Methyl Proton 2 กลุ่มแรกเป็นของ Epiroxburghilin

(Epidorine) และสัญญาณของ Trans Olefinic Proton คู่หลัง และ Methyl Proton 2 กลุ่ม หลังเป็นของ Roxburghilin (Odorine) เข้าใจว่าปรากฏการณ์ Epimerization ได้สารทั้งสอง ผสมกันนี้เกิดขึ้นในระหว่างการแยกสารให้บริสุทธิ์

Epimerization นี้สามารถเกิดขึ้นได้ดีในสารละลายคลอโรฟอร์มเมื่อมีกรดเป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา^{1,2} ในกระบวนการแยกสารนี้ ใช้การแยกด้วยซิลิกาเจลโดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวพา เป็นที่ ทราบกันทั่วไปว่า ซิลิกาเจลมีคุณสมบัติเป็นกรด และเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาได้ดี ส่วนไดคลอโรมีเทน นั้นมีคุณสมบัติคล้ายกับคลอโรฟอร์ม ดังนั้นเงื่อนไขที่ใช้ในการแยกนี้จึงควรที่จะเอื้อให้เกิด Epimerization ได้ดีเช่นกัน

จากการเปรียบเทียบขนาดของ Integration ของกลุ่ม Methyl ของทั้งสอง Epimers ทำให้ทราบว่า สาร ค. ประกอบด้วย Epidorine อยู่ 3.57 เท่าของ Odorine MS Spectra (ภาพที่ 4)

สาร ค. มี Molecular Ion ที่ $m/e = 300$ ซึ่งตรงกับ สูตรโมเลกุล $C_{15}H_{24}O_2N_2$ มี Peak ที่ $m/e = 169$ และ 131, 215 และ 85, และ 103 ซึ่งเป็นผลของการสูญเสีย Cinnamoyl, 3-Methylbutanoyl และ Styrene Fragments ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมี Peak ที่ $m/e = 199$ ซึ่งเป็นผลของการสูญเสีย 3-Methylbutanoic Acid Amide ซึ่งเกิดจาก McLafferty Rearrangement



$M^+, m/e = 199$

การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง

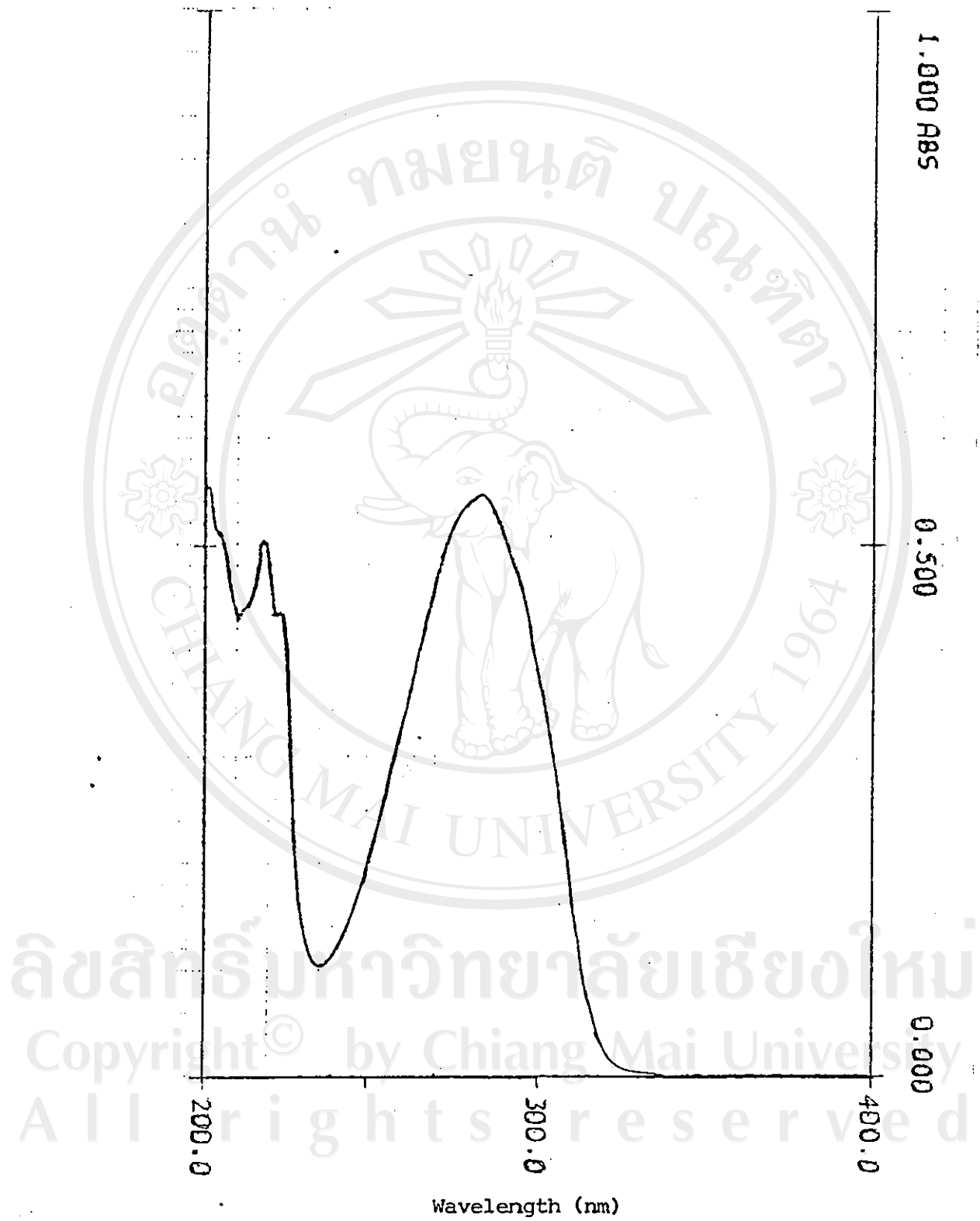
จากการนำสาร ค. ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยใช้ KB Cell Culture System พบว่าไม่มีฤทธิ์ดังกล่าวจึงได้นำสารที่แยกได้ทั้งหมดไปทดสอบได้ผลดังนี้

สาร	ED ₅₀ (ไมโครกรัม/ชม. ³)	Cytotoxic Activity
ก	>> 30	ไม่มีฤทธิ์
ข	>> 20	ไม่มีฤทธิ์
ค	>> 5	ไม่มีฤทธิ์
ง	>> 5	ไม่มีฤทธิ์
จ	>> 5	ไม่มีฤทธิ์

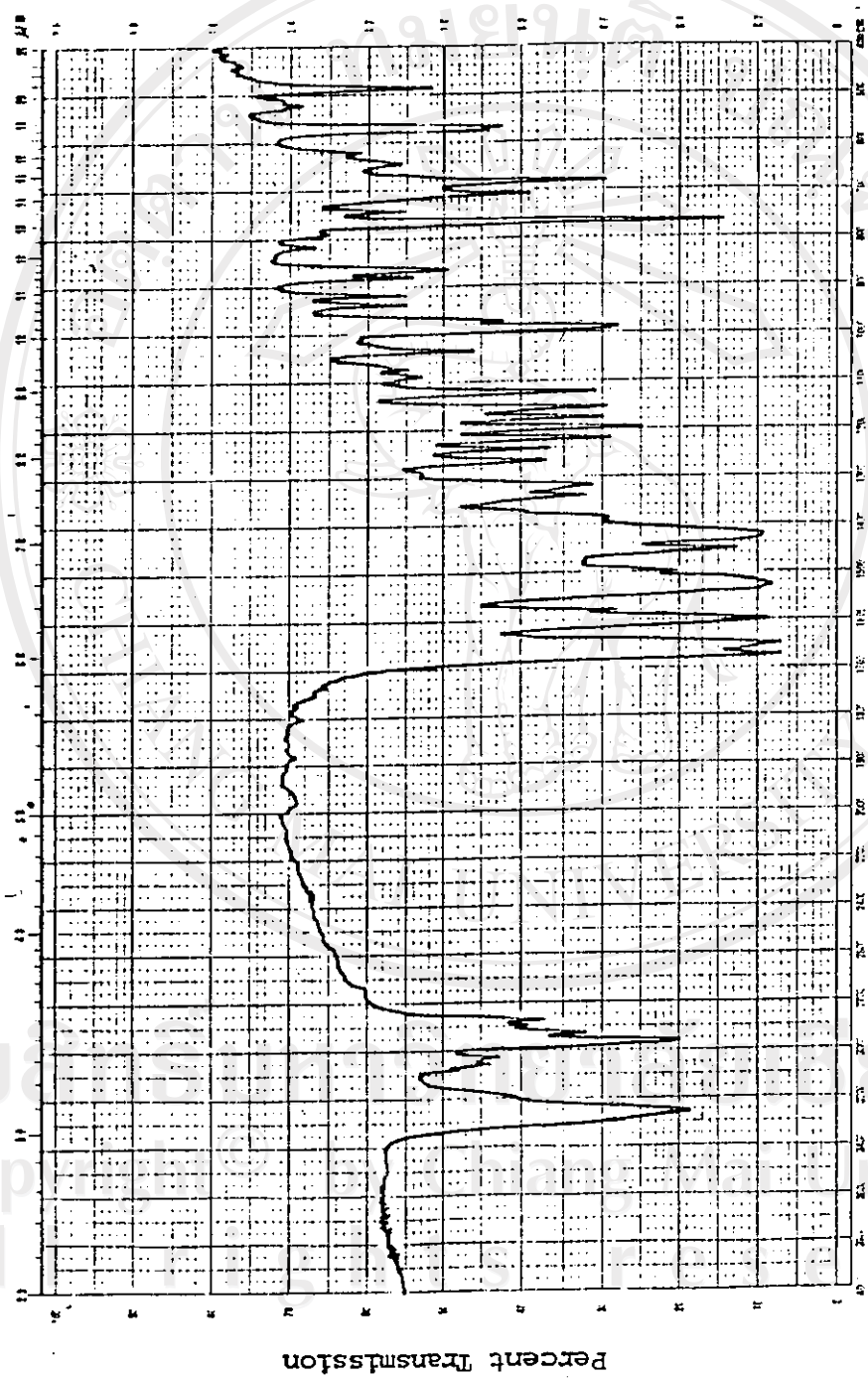
ผลการทดสอบนี้แสดงชัดเจนว่า สารอื่นแต่ละสารที่แยกได้ไม่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งอยู่ในระดับที่น่าสนใจเช่นกัน จึงมิได้ทำการศึกษาหาสูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้

จากการที่ส่วนสกัดหยาบของพืชนี้แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งได้ดี แต่สารที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบกลับไม่แสดงฤทธิ์แต่อย่างใด ทำให้อาจสรุปได้ว่า สารต่าง ๆ เหล่านี้แม้จะไม่มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งโดยตรง แต่เมื่อรวมกันแล้วสามารถแสดงการเสริมฤทธิ์กัน และส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้อย่างดี หรือสารเหล่านั้นอาจมีผลเพียงทำให้เซลล์มะเร็งเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเท่านั้น ซึ่งถ้าศึกษาต่อไปในสัตว์ทดลอง สารเหล่านั้นอาจสามารถยับยั้งการเจริญของก้อนมะเร็งมีผลช่วยยืดอายุและเพิ่มอัตราการอยู่รอดของสัตว์ทดลองได้^{๓๐,๓๑} หรือ สารแสดงฤทธิ์ในส่วนสกัดหยาบมีปริมาณน้อยเกินกว่าที่จะแยกออกมาศึกษาได้

ผลการทดลองนี้ทำให้ทราบแนวทางการพัฒนาการใช้พืชนี้ในการต้านมะเร็งว่า ควรเน้นการใช้สารสกัดหยาบโดยตรงซึ่งทำให้การใช้ประโยชน์จากพืชนี้มีความเป็นไปได้สูงขึ้น เพราะการสกัดสารสกัดหยาบสามารถที่จะกระทำได้ง่ายและได้ปริมาณมากพอที่จะทำการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไปได้ หากได้ผลเป็นที่น่าพอใจแล้วจะสามารถพัฒนาเป็นยาราคาถูกต่อไปได้ในอนาคต

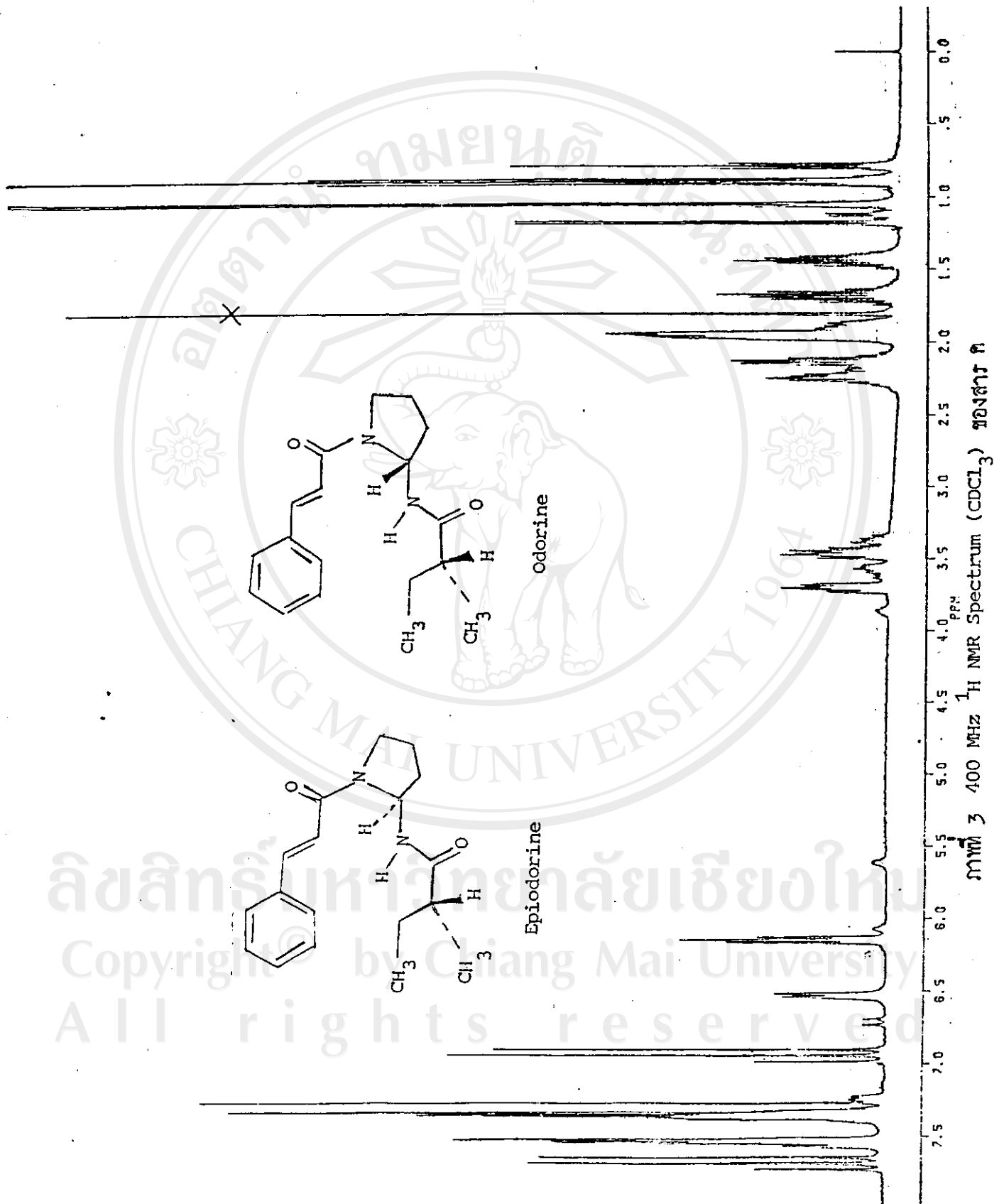


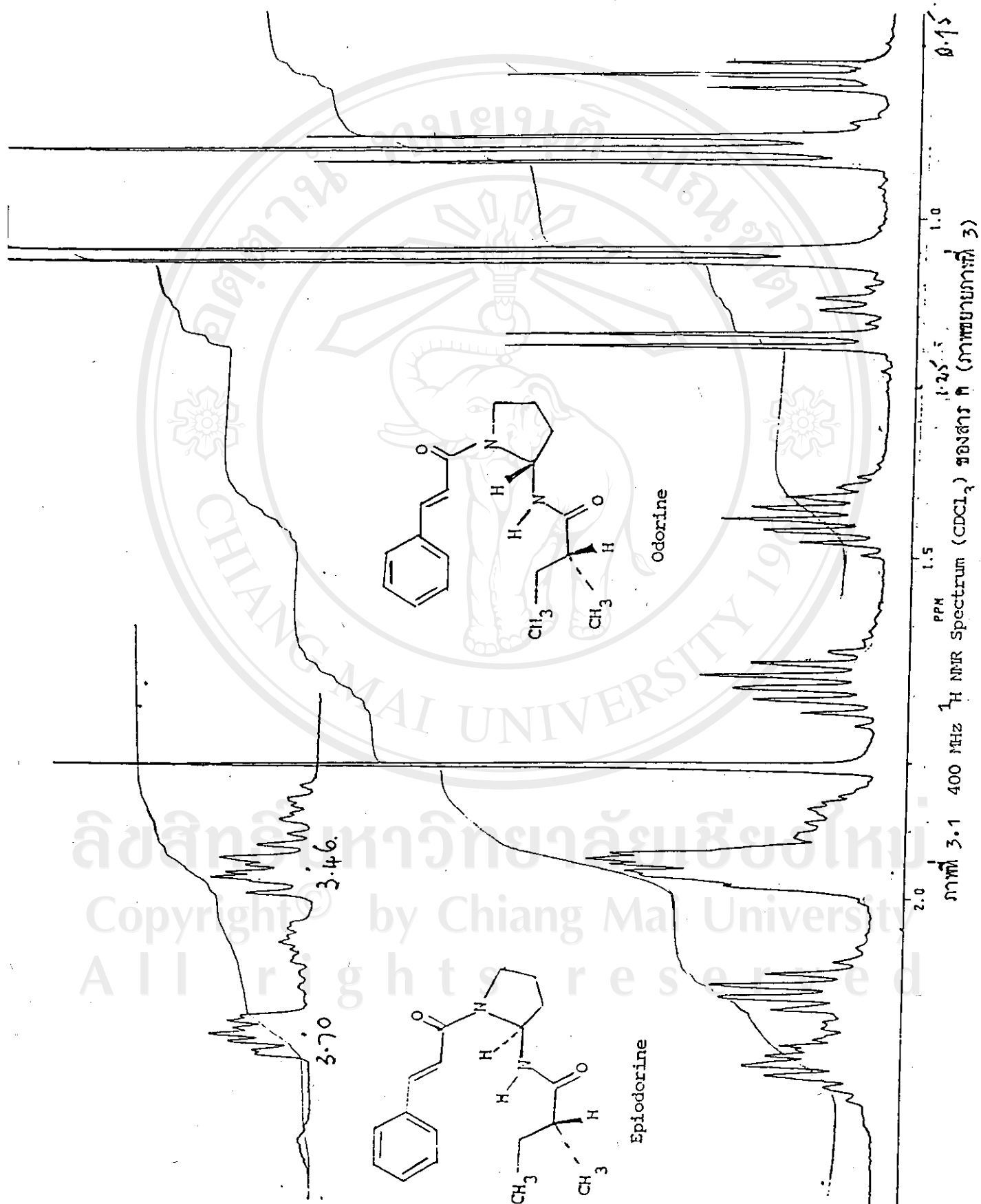
ภาพที่ 1 UV Spectrum ของสาร ก

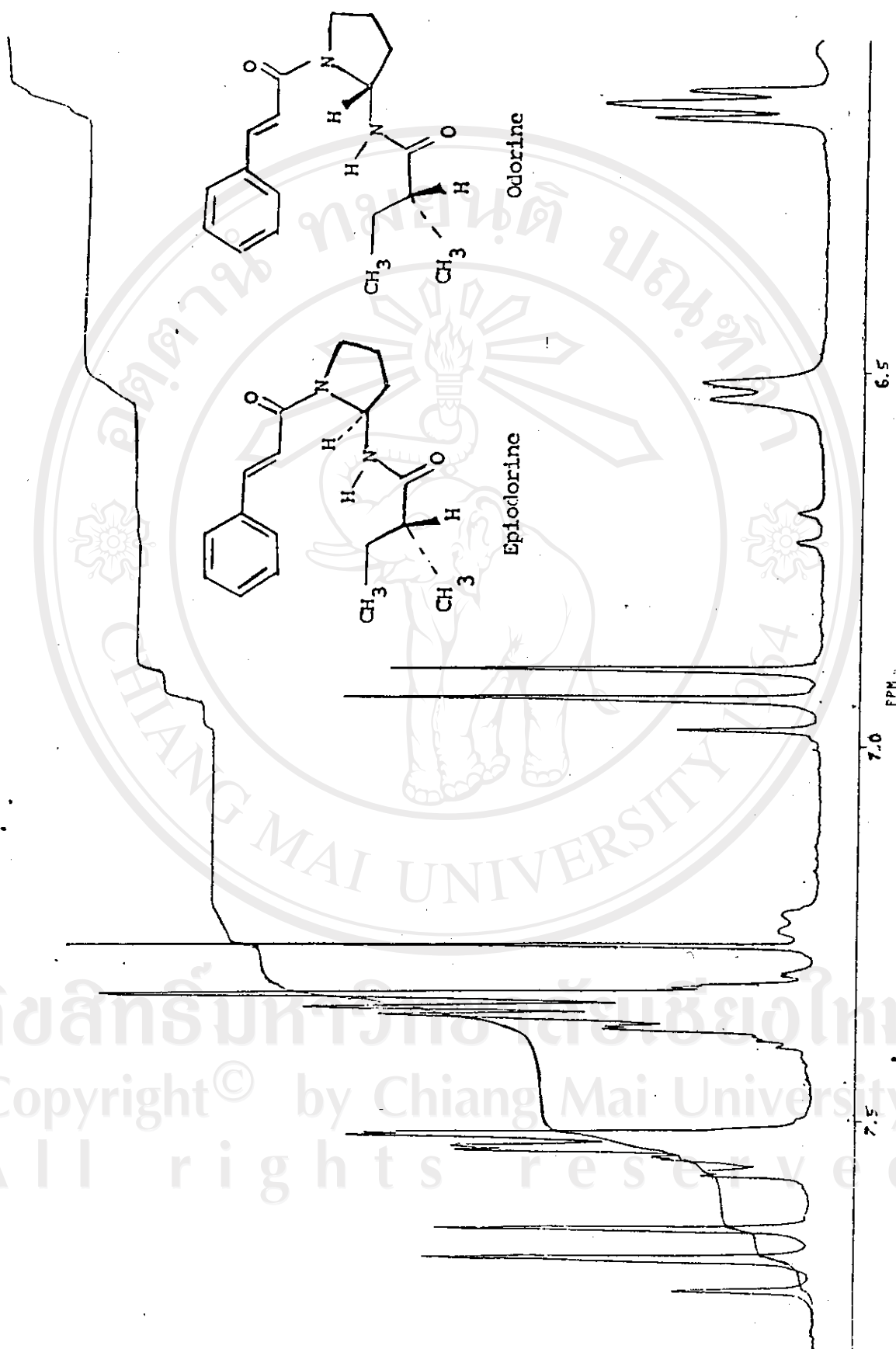


Wavenumber (cm^{-1})

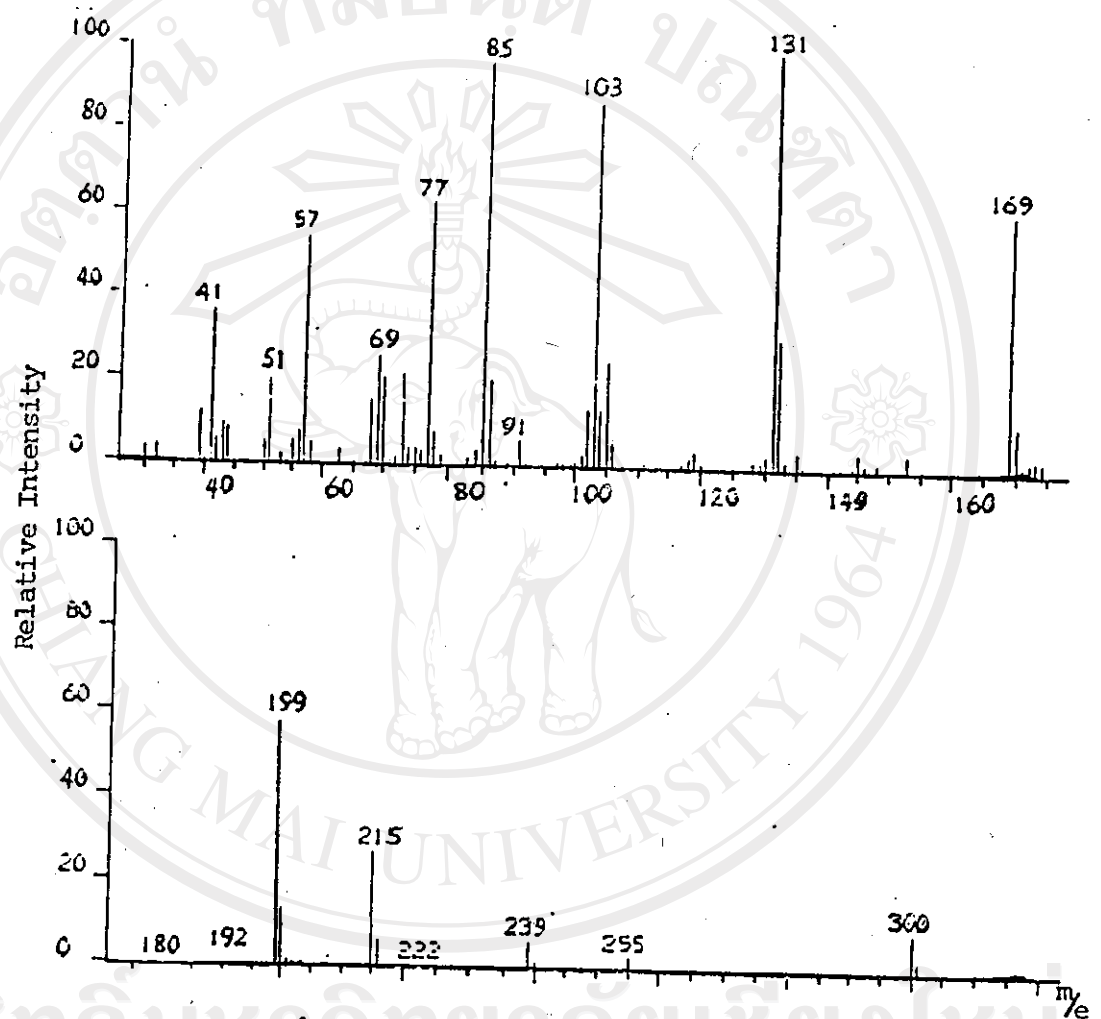
ภาพที่ 2 IR Spectrum (KBr) ของสาร ค







ภาพที่ 3.2 400 MHz ^1H NMR Spectrum (CDCl_3) ของสาร ค (ภาพขยายภาพที่ 3)



ภาพที่ 4 MS Spectrum ของสาร ค

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved