

บทที่ 4

วิจารณ์ และ สรุปผลการทดลอง

การศึกษารูปประกอบทางเคมี และแยกสารบริสุทธิ์เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน จากดอกบุนนาค แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 เกสรบุนนาค (*Mesua ferrea*) 235.46 กรัม เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน ได้สารสกัดหยาบ 6.7013 กรัม จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดแยกด้วยกรวยแยกโดยละลายใน 15% เมทานอล ในน้ำ สกัดแยกกับเฮกเซน หลังจากนั้นสกัดต่อด้วย เอทิลเอซีเทต ได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน เท่ากับ 3.1244 กรัม ชั้นเอทิลเอซีเทต เท่ากับ 2.0902 กรัม และ ชั้นเมทานอลในน้ำเท่ากับ 0.4867 กรัม นำสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน + เอทิลเอซีเทต มาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ Silica gel เป็นตัวดูดซับ ต่อด้วยการตกผลึกใหม่ ได้สาร A (0.0302 กรัม) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 203°C λ_{max} เท่ากับ 238 nm และ ค่า $[\alpha]_D^{20}$ เท่ากับ $+26.0^{\circ}$ ($c = 0.02$, MeOH) สำหรับ $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) แสดงโปรตอนที่สำคัญมีค่า δ เท่ากับ 4.56 (dd; 2.4, 1.2 Hz), 4.68 (d, $J = 2$ Hz), 3.18 (dd, $J = 5.2, 11.2$ Hz), 2.37 (ddd, $J = 5.6, 11.0$ Hz) และ 1.93 ppm ส่วน $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) แสดงตำแหน่ง คาร์บอนที่สำคัญ คือ 79.0 (C-3), 150.9 (C-20) และ 109.3 (C-29) โดยจากข้อมูลทั้งหมดที่ได้เทียบกับที่เคยมีรายงาน สรุปได้ว่าสาร A คือ 3 β -hydroxylup-20(29)-ene ส่วนสาร B นั้น จาก $^1\text{H-NMR}$ แสดงว่าเป็นสารไม่บริสุทธิ์ โดยพบว่าเป็นสารผสมชนิดเดียวกับสาร C

การศึกษารูปประกอบทางเคมีในส่วนที่ 2 คือจากกลีบดอก และฐานรองดอกบุนนาค (*Mesua ferrea*) 601.71 กรัม โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน ได้สารสกัดหยาบ 11.74 กรัม จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดแยกด้วยกรวยแยกโดยละลายใน 15% เมทานอล ในน้ำ สกัดแยกกับเฮกเซน หลังจากนั้นสกัดต่อด้วย เอทิลเอซีเทต ได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน เท่ากับ 2.0624 กรัม ชั้นเอทิลเอซีเทต เท่ากับ 6.9217 กรัม และ ชั้นเมทานอลในน้ำเท่ากับ 2.7556 กรัม นำสารสกัดหยาบชั้นเอทิลเอซีเทต มาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ Sephadex LH-20 และ Silica gel ตามลำดับ ตามด้วยการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีผิวบาง (Preparative layer chromatography) และการแยกด้วยเทคนิค Preparative HPLC ได้สาร C 0.050 กรัม ทั้งนี้พบว่าถึงแม้สาร C จะผ่านกระบวนการแยกโดยใช้หลายเทคนิค และมีการปรับสภาวะการทดลองหลายระบบแล้วก็ตาม เมื่อนำมาวิเคราะห์โดย NMR พบว่าสาร C เป็นสารผสม ซึ่งมี

แนวโน้มว่าจะประกอบด้วยสารกลุ่ม Cyclohexadione (Mesuanic acid และ/หรือ Mesuaferrol) และสารในกลุ่ม tetracyclic triterpenoid อีกอย่างน้อย 1 ชนิด

จากการศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบว่าสาร triterpene ในกลุ่ม Lupeol นี้สามารถพบในพืชหลายชนิด โดยมีการรายงานการแยกและการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย อาทิ

1. พบสาร Lupeol ใน *Cnidocolus ritifolius*³⁴ แต่ไม่ได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
2. พบสาร 3 β -Hydroxylup-20(29)-ene ใน *Sapium haematospermum*³⁵ และ Lupeol ใน ดอกของ *Chrysanthemum morifolium*³⁶ มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (Anti-TB) ซึ่งแสดงค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) > 128 $\mu\text{g/ml}$ และ > 64 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ
3. พบสาร Lupeol ในเปลือกของ *Euclea natalensis*³⁷ มีฤทธิ์ต้านฟังกีใจ (antifungal; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *phytophthora sphaeroper-mum*)
4. พบสาร Lupeol ในเปลือกของ *Cratraeva murvala*³⁸ มีฤทธิ์ต้านสาร aflatoxin ที่เกิดจากเชื้อรา (มักพบในถั่ว) ซึ่งสารนี้มีผลต่อดับในหนู
5. พบสาร Lupeol ในเปลือกของ *Betula alleghaniensis* และ *Betula papyrifera*³⁹ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) ซึ่งแสดงค่า IC_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$) ดังนี้

Human lung carci noma	ค่า IC_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$) เท่ากับ	165 $\pm$ 8
Human colorectal adenocarcinoma	ค่า IC_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$) เท่ากับ	125 $\pm$ 6
Mouse melanoma	ค่า IC_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$) เท่ากับ	104 $\pm$ 6
Human normal skin fibroblasts	ค่า IC_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$) เท่ากับ	63 $\pm$ 3

ข้อมูลที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบจากเกสร และดอกบุนนาค³³ ซึ่งมีความสามารถในการต้านเชื้อวัณโรคได้ในระดับหนึ่ง (MIC 50 $\mu\text{g/ml}$) อย่างไรก็ตามพบว่ายังไม่เคยมีรายงานการแยกสารกลุ่ม Lupeol นี้ (รวมทั้ง triterpene อื่นๆ) จากบุนนาค (*Mesua ferrea*) หรือแม้กระทั่งพืชในวงศ์เดียวกัน จึงอาจกล่าวได้ว่างานวิจัยนี้เป็นการรายงานการค้นพบ และการแยก 3 β -hydroxylup-20(29)-ene จากพืชในวงศ์ Guttifera เป็นครั้งแรก