146235

รายงานการวิจัย

เรื่อง

องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ทางชีวภาพของบุนนาค

Chemical Constituents, Antioxidant and Biological Activities of *Mesua ferrea* Linn.

โดย

ศุกัญญา เขียวสะอาด

PAYAP UNIVERSITY

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยพายัพ
สัจจะ-บริการ

รายงานวิจัยฉบับที่ 290

พ.ศ. 2556

มหาวิทยาลัยพายัพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่ององค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพจากบุนนาค ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยพายัพ งานวิจัยนี้สำเร็จได้เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูล ข้อเสนอแนะ ให้คำปรึกษาแนะนำ แสดงความคิดเห็นและกำลังใจ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ รศ. ดร. บุญสม เหลี่ยวเรืองรัตน์ ผู้วิจารณ์งานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. อภิวัฒน์ ธีรวุฒิกุลรักษ์, ดร. สรชัย คำแสน และอาจารย์อนงค์ จีระโสถิกุล ที่กรุณาเป็นผู้ประเมินงานวิจัย (ฉบับร่าง)

ขอขอบพระคุณอธิการบดี มหาวิทยาลัยพายัพ ที่อนุมัติทุนวิจัยในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ร.อ. ชัยโย-นางนารี-น.ส. คาริณี เขียวสะอาด นางอรนุช ธรรมศร และคุณบัณฑิตวงศ์ พิทักษ์วงศ์ ที่ช่วยส่งเสริมสนับสนุน และเป็นกำลังใจตลอดมา

สุกัญญา เขียวสะอาด
หัวหน้าโครงการวิจัยฯ
1 มีนาคม 2556

PAYAP UNIVERSITY

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นบุนนาค โดยนำใบและกิ่งของบุนนาคมาทำให้แห้ง บดให้ละเอียด และสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ นอกจากนี้ได้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทรเมตรี ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีสีเหลือง ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 0.064 และพบสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี 35 สาร คิดเป็นร้อยละ 81.4 ของสารทั้งหมด สารที่เป็นองค์ประกอบหลัก 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%) เมื่อนำสารสกัดต่างๆ มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteau reagent พบว่า สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด (199.27 $\pm$ 6.55 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาคมีปริมาณฟีนอลิกต่ำสุด (6.82 $\pm$ 0.73 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี DPPH วิธี ABTS และวิธี reducing power พบว่า สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS สูงสุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.15 $\pm$ 0.01 และ 0.284 $\pm$ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS ต่ำสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 31.67 $\pm$ 0.18 และ 7.712 $\pm$ 0.077 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power สูงสุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่ง สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากใบ สารสกัดเฮกเซนจากกิ่ง และน้ำมันหอมระเหย ตามลำดับ การวิจัยครั้งนี้ได้นำสารสกัดต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยไปศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ดี และฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราใช้วิธี agar diffusion พบว่าสารสกัดเมทานอลจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *Escherichia coli* สูงสุด มีบริเวณยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 16.0 $\pm$ 1.0 มิลลิเมตร สารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* สูงสุดมีบริเวณยับยั้งเชื้อเท่ากับ 23.0 $\pm$ 0.5 มิลลิเมตร และสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* สูงสุด มีบริเวณยับยั้งเชื้อเท่ากับ 12.2 $\pm$ 0.3 มิลลิเมตร สารสกัดเมทานอลจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านราต่อเชื้อ *Candida albican* สูงสุด และสารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านราต่อเชื้อ *Trichophyton mentagrophyte* สูงสุด มีบริเวณยับยั้งเชื้อเท่ากับ 11.8 $\pm$ 0.6 และ 18.0 $\pm$ 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยไม่มีฤทธิ์

PAYAP UNIVERSITY

ต้านราต่อเชื้อ *Aspergillus flavus* นอกจากนี้ได้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ทำโดยวิธี microtiter broth พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งบุนนาคมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* สูงสุด มีค่า MIC เท่ากับ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเมทานอลจากใบ สารสกัดเมทานอลและสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาค มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* สูงสุด มีค่า MIC เท่ากับ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 250 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยใช้เซลล์มะเร็งของคน ได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H 187 และทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ปกติโดยใช้เซลล์ของไตลิง ด้วยวิธี Resazurin microplate assay (REMA) พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB มีค่า IC_{50} เท่ากับ 23.70, 25.14, 18.01 และ 29.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดเฮกเซนจากใบและสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.12 และ 28.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดไดคลอโรมีเทนและสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่ง มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.68, 30.80, 18.42 และ 33.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ KB, MCF-7 และ NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.02, 16.19 และ 20.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ เมื่อนำสารสกัดไดคลอโรมีเทนของกิ่งบุนนาคมาแยกบริสุทธิ์ได้สาร คือ สาร friedelin, สารผสมระหว่าง α-amyrin กับ β-amyrin, สาร lupeol และสาร β-sitosterol ซึ่งวิเคราะห์หาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคสเปคโทสโคปี นำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สาร friedelin, สารผสมระหว่าง α-amyrin และ β-amyrin และสาร lupeol มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *E. coli* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสาร β-sitosterol มีค่า MIC เท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สาร friedelin, สารผสมระหว่าง α-amyrin และ β-amyrin, สาร lupeol และสาร β-sitosterol มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 250, 250, 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารผสมระหว่าง α-amyrin และ β-amyrin มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 28.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสาร lupeol มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปากชนิด KB เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอดชนิด NCI-H187 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 30.12, 34.25 และ 21.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารที่แยกได้ทั้งหมดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

PAYAP UNIVERSITY

Abstract

In this research work, the chemical constituents, antioxidant and biological activities of *Mesua ferrea* Linn. were studied. The leaves and stems of *M. ferrea* were dried, ground and extracted with hexane, dichloromethane and methanol, respectively. The essential oil from the leaves of *M. ferrea* was isolated by hydrodistillation and analyzed by means of GC-MS. The yield of obtained essential oil was at 0.064% and its characterize was as yellow liquid. Thirty-five constituents were identified, constituting 81.4% of the total volatile components. The major constituents were *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%) and β-bisabolene (1.6%). The total phenolic contents of the crude extracts were estimated by Folin Ciocalteau method. The methanol extract of the stems exhibited the highest total phenol contents (199.27 $\pm$ 6.55 mg GAE, g extract), but the hexane extract of the stems exhibited the lowest total phenol contents (6.82 $\pm$ 0.73 mg GAE, g extract). The antioxidant activities of the extracts and the essential oil of this plant were determined by the DPPH, ABTS and reducing power methods. The methanol extract of stems exhibited the highest antioxidant activities by DPPH and ABTS methods with the IC_{50} values of 0.15 $\pm$ 0.01 and 0.284 $\pm$ 0.005 mg/mL, respectively. The leaf essential oil showed the lowest antioxidant activity by DPPH and ABTS methods with the IC_{50} values of 31.67 $\pm$ 0.18 and 7.712 $\pm$ 0.077 mg/mL, respectively. The extracts and the essential oil also showed antioxidant activity by reducing power method. The methanol extract of *M. ferrea* stems showed the highest reducing power, followed by the methanol extract of the leaves, the dichloroform extract of the stems, the dichloroform extract of the leaves, the hexane extracts of the leaves, the hexane extracts of the stems, and the leaf essential oil, respectively. The antibacterial, antifungal, cytotoxic and anticancer activities of the extracts and the leaf essential oil were investigated. The antibacterial and antifungal activities of the extracts and the leaf essential oil were determined using the agar diffusion method. The methanol extract of the stems showed the highest antibacterial activity against *Escherichia coli* (diameter of inhibition zone of 16.0 $\pm$ 1.0 mm), the methanol extract of the leaves showed the highest antibacterial activitiy against *Staphylococcus aureus* (diameter of inhibition zone of 23.0 $\pm$ 0.5 mm), and the dichloromethane extract of the stems showed the highest antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* (diameter of inhibition zone of 12.2 $\pm$ 0.3 mm). The methanol extract of the stems showed the highest antifungal activity against *Candida albican* and the methanol extract of the leaves showed the highest antifungal activity against *Trichophyton mentagrophyte* with the inhibition zones of 11.8 $\pm$ 0.6 and

PAYAP UNIVERSITY

18.0 ± 0.5 mm, respectively. All extracts and this leaf oil did not inhibit *Aspergillus flavus*. The MIC of the extracts and the leaf essential oil were evaluated against *E. coli* and *S. aureus* using the microtiter broth method. The methanol extract of the leaves and the stems showed the highest antibacterial activity against *E. coli* with the MIC values of 31.25 μg/mL. The methanol extract of the leaves, dichloromethane extract and the methanol extract of the stems showed the highest antibacterial activity against *S. aureus* with the MIC values of 31.25 μg/mL. In addition, the essential oil exhibited significant antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* with the MIC values of 250 and 125 μg/mL, respectively. The anticancer activities of the extracts and the essential oil were determined by the Resazurin Microplate Assay using three human cancer cell lines; KB, MCF-7 and NCI-H187. Their cytotoxicities against *Vero* cell line (African green monkey kidney) were also carried out. The dichloromethane extracts of the stems and the essential oil exhibited anticancer activities against three cell lines. The dichloromethane extracts, the methanol extracts of the leaves and the stems exhibited anticancer activities against KB cell line with the IC_{50} values of 23.70, 25.14, 18.01, and 29.91 μg/mL, respectively. The hexane extract of the leaves, the dichloromethane extract of the stems exhibited anticancer activities against MCF-7 cell line with the IC_{50} values of 38.12 and 28.83 μg/mL, respectively. The dichloromethane extracts, the methanol extracts of the leaves and the stems exhibited anticancer activities against NCI-H187 cell line with the IC_{50} values of 38.68, 30.80, 18.42, and 33.54 μg/mL, respectively. The leaf oil also exhibited anticancer activities against KB, MCF-7 and NCI-H187 cell lines with the IC_{50} values of 24.02, 16.19, and 20.32 μg/mL, respectively. All the extracts and the essential oil were non cytotoxic to *Vero* cells. Friedelin, the mixture of α-amyrin and β-amyrin, lupeol and β-sitosterol were isolated from the active dichloromethane extract of the stems. All identified compounds were elucidated by spectroscopic techniques and compared with the physicochemical and spectroscopic data in the literature. The isolated compounds were tested for their biological activities. Friedelin, the mixture of α-amyrin and β-amyrin, and lupeol showed the antibacterial activity against *E. coli* with the MIC values of 250 μg/mL, but β-sitosterol showed the activity with the MIC value of 1000 μg/mL. Friedelin, the mixture of α-amyrin and β-amyrin, lupeol and β-sitosterol showed the antibacterial activity against *S. aureus* with the MIC values of 250, 250, 500 and 1000 μg/mL. The mixture of α-amyrin and β-amyrin exhibited anticancer activity against MCF-7 cell line with the IC_{50} value 28.45 μg/mL. Lupeol exhibited anticancer activities against KB, MCF-7 and NCI-H187 cell lines with the IC_{50} values of 30.12, 34.25 and 21.56 μg/mL, respectively. All isolated compounds were non-cytotoxic to *Vero* cells.

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฎ
ศัพท์และสัญลักษณ์ต่างๆ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	2
1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 บุนนาค	4
2.2 อนุมูลอิสระ	12
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	15
2.4 การวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	18
2.5 เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	24
3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และพืชที่ใช้ในการทดลอง	24
3.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค	25
3.3 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC/MS	26
3.4 การสกัดสารจากใบและกิ่งบุนนาค	27
3.5 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด	28
3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	29
3.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา	34

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.8 การทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ 35
3.9 การแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดไดคลอโรมีเทนของกิ่งบุนนาค 36
3.10 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ 40
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 41
4.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ 41
4.2 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเทคนิค GC/MS 41
4.3 ผลการสกัดสารจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ 45
4.4 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 45
4.5 ผลการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 49
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา 67
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ 70
4.8 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดไดคลอโรมีเทนของกิ่งบุนนาค 71
4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ 92
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 95
เอกสารอ้างอิง 97
ประวัตินักวิจัย 107

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

ตาราง 2.1	องค์ประกอบทางเคมีของบุนนาค	6
ตาราง 4.1	แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค	43
ตาราง 4.3	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน gallic acid	46
ตาราง 4.4	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ	47
ตาราง 4.5	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ	48
ตาราง 4.6	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	49
ตาราง 4.7	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	49
ตาราง 4.8	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	51
ตาราง 4.9	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	52
ตาราง 4.10	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	52
ตาราง 4.11	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	53
ตาราง 4.12	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	53
ตาราง 4.13	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	53
ตาราง 4.14	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	54
ตาราง 4.15	ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค ด้วยวิธี DPPH	55

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

ตาราง 4.16	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	56
ตาราง 4.17	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	56
ตาราง 4.18	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	58
ตาราง 4.19	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	59
ตาราง 4.20	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	59
ตาราง 4.21	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	60
ตาราง 4.22	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	60
ตาราง 4.23	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	61
ตาราง 4.24	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	61
ตาราง 4.25	ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ และน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค ด้วยวิธี ABTS	62
ตาราง 4.26	Reducing power ของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
ตาราง 4.27	Reducing power ของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
ตาราง 4.28	Reducing power ของสารสกัดเฮกเซนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
ตาราง 4.29	Reducing power ของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	64
ตาราง 4.30	Reducing power ของสารสกัดเมทานอลจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	64
ตาราง 4.31	Reducing power ของสารสกัดเฮกเซนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	64

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
ตาราง 4.32	Reducing power ของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
ตาราง 4.33	Reducing power ของสารสกัดเมทานอลจากกิ่งบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
ตาราง 4.34	Reducing power ของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาคที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
ตาราง 4.35	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี agar-well diffusion	67
ตาราง 4.36	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี agar-well diffusion	68
ตาราง 4.37	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี microtiter broth method	69
ตาราง 4.38	ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด และน้ำมันหอมระเหย	70
ตาราง 4.39	การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.2A22	74
ตาราง 4.40	ผลการวิเคราะห์สาร MF3.2A22 ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy	76
ตาราง 4.41	การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.4A22	80
ตาราง 4.42	ผลการวิเคราะห์สาร MF3.4A22 ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR	81
ตาราง 4.43	การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2	84
ตาราง 4.44	ผลการวิเคราะห์สาร MF3.6A2 ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy	86
ตาราง 4.45	การระบุหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งต่างๆ จาก IR สเปกตรัมของสาร MF4.3A3	89
ตาราง 4.46	ผลการวิเคราะห์สาร FM4.3A3 ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy	90
ตาราง 4.47	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารที่แยกได้โดย วิธี microtiter broth method	92
ตาราง 4.48	ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งและการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่แยกได้	93

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูป		หน้า
รูป 2.1	ต้นบุนนาค	5
รูป 2.2	โครงสร้างวิตามินอี (α-tocopherol)	16
รูป 2.3	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด	18
รูป 3.1	แผนภาพแสดงการสกัดของใบบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ	27
รูป 3.2	แผนภาพแสดงการสกัดของกิ่งบุนนาคด้วยตัวทำละลายต่างๆ	28
รูป 3.3	แผนภาพการแยกสารจากสารสกัดไดคลอโรมีเทนของกิ่งบุนนาค	36
รูป 3.4	แผนภาพการแยกสาร MF3.2A22, MF3.4A22 และ MF3.6A2	38
รูป 3.5	แผนภาพการแยกสาร MF4.3A3	39
รูป 4.1	แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยจากใบบุนนาค	42
รูป 4.2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง	46
รูป 4.3	กราฟแท่งเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบและกิ่งบุนนาค	48
รูป 4.4	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	50
รูป 4.5	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DPPH	50
รูป 4. 6	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	57
รูป 4.7	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลาย vitamin C ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี ABTS	57
รูป 4.8	Reducing power ของสารละลายมาตรฐาน น้ำมันหอมระเหย สารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเมทานอลจากใบและกิ่งบุนนาค	66
รูป 4.9	Mass Spectrum ของสาร MF3.2A22 และสาร friedelin	73
รูป 4.10	โครงสร้างของสาร friedelin	73
รูป 4.11	IR สเปกตรัมของสาร MF3.2A22 (KBr pellet)	74
รูป 4.12	^{1}H-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 400 MHz) ของสาร MF3.2A22	75

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
รูป 4.13	^{13}C-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 100 MHz) ของสาร MF3.2A22	73
รูป 4.14	Mass Spectrum ของสาร MF3.4A22 พีคที่ t_R = 80.53 นาที และสาร β-amyrin	78
รูป 4.15	Mass Spectrum ของสาร MF3.4A22 พีคที่ t_R = 82.11 นาที และสาร α-amyrin	79
รูป 4.16	โครงสร้างของสาร β-amyrin และ α-amyrin	79
รูป 4.17	IR สเปกตรัมของสาร MF3.4A22 (KBr pellet)	80
รูป 4.18	^{1}H-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 400 MHz) ของสาร MF3.4A22	81
รูป 4.19	โครงสร้างของสาร stigmasterol	83
รูป 4.20	IR สเปกตรัมของสาร MF3.6A2 (KBr pellet)	84
รูป 4.21	^{1}H-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 400 MHz) ของสาร MF3.6A2	85
รูป 4.22	^{13}C-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 100 MHz) ของสาร MF3.6A2	85
รูป 4.23	โครงสร้างของสาร lupeol	88
รูป 4.24	IR สเปกตรัมของสาร MF4.3A3 (KBr pellet)	88
รูป 4.25	^{1}H-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 400 MHz) ของสาร MF4.3A3	89
รูป 4.26	^{13}C-NMR Spectrum ($CDCl_3$, 100 MHz) ของสาร MF4.3A3	90

PAYAP UNIVERSITY

ศัพท์และสัญลักษณ์ต่างๆ

brs	Broad singlet
^{o}C	Degree Celsius
CC	Column chromatography
$CDCl_3$	Deuterated chloroform
cm	Centimeter
cm^{-1}	Wave number
^{13}C-NMR	Carbon 13 nuclear magnetic resonance
d	Doublet
dd	Doublet of doublet
dt	Doublet of triplet
EIMS	Electron impact mass spectrum
EtOAc	Ethyl acetate
FID	Flame ionization detector
FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy
^{1}H-NMR	Proton nuclear magnetic resonance
Hz	Hertz
IC_{50}	50% Inhibition concentration
IR	Infrared
J	Coupling constant
m	Multiplet
mL	Milliliter
mg	Milligram
MHz	Megahertz
MIC	Minimum inhibition concentration
min	Minutes
mm	Millimeter
mM	Millimolar
MS	Mass spectrum

PAYAP UNIVERSITY

ศัพท์และสัญลักษณ์ต่างๆ

m/z	A value of mass divided by charge
NMR	Nuclear magnetic resonance
No.	Number
ppm	Part per million
PTLC	Peperative thin-layer chromatography
RI	Retention index
RT	Retention time
s	Singlet
TLC	Thin-layer chromatography
UV	Ultraviolet
μg	Microgram
μL	Microliter
δ	Chemical shift
λ	Wavelength
ν_{max}	Wavenumber at maximum absorption

PAYAP UNIVERSITY