

## บทคัดย่อ

โครงการการสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยของพืชพื้นเมืองบางชนิดของไทย เป็นโครงการย่อยที่ 1 ของศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าพืชพื้นเมืองซึ่งได้ทำการศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็น 2 ส่วนคือ

### 1. น้ำมันหอมระเหย

ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชพื้นเมืองไทย คือ น้ำมันขมิ้น ไพล กะเพรา โหระพา ส้มโอ กระชาย ข่า ใบมะกรูด ผิวมะกรูด ตะไคร้ พริกไทยดำ ใบฝรั่ง และพลู โดยทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และแบคทีเรียที่สังเคราะห์ฮีستามีน ฤทธิ์ต้านอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ พบว่า

1.1 ฤทธิ์ต้านเชื้อที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร พบว่ามีฤทธิ์ดี คือ น้ำมันตะไคร้ ใบมะกรูด พลู กะเพรา และโหระพา จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS และ TLC bioautography และ preparative TLC พบว่าสารออกฤทธิ์ คือ citral, citronellal, eugenol และ methyl eugenol, methyl chavicol ตามลำดับ

1.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่สังเคราะห์ฮีستามีน น้ำมันที่มีฤทธิ์ดี คือ น้ำมันกานพลู ตะไคร้ และโหระพา ซึ่งสารออกฤทธิ์ คือ eugenol, citral (Z-citral และ E-citral) และ methyl chavicol ตามลำดับ

1.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ น้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีน้ำมันพลูมีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือ กะเพรา โดยน้ำมันทั้ง 2 มีสารออกฤทธิ์ คือ eugenol

1.4 ฤทธิ์ต้านอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์แรงคือน้ำมันพริกไทยดำ ข่า ขมิ้น และกระชาย ซึ่งสารออกฤทธิ์คือ 3-carene, cineole และ caryophyllene, cineole และ caryophyllene, camphor และ cineole ตามลำดับ

1.5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ จากการนำน้ำมันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้ไปทดสอบ พบว่า น้ำมันส่วนใหญ่มีฤทธิ์ โดยน้ำมันพลูยับยั้ง NO ได้ 89.27% รองลงมาคือ ตะไคร้ กะเพรา และน้ำมันใบมะกรูด ส่วนการยับยั้งการหลั่ง IL-6 พบว่าน้ำมันพลูมีฤทธิ์ที่ดีที่สุดโดยยับยั้งได้ 68.05% น้ำมันที่มีฤทธิ์รองลงมา คือ น้ำมันใบมะกรูด กะเพรา และ ข่า นอกจากนี้ น้ำมันกะเพรามีฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้ง TNF- $\alpha$  ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่พบในน้ำมันคือ eugenol trans-caryophyllene, 1-8-cineole, citronellal, citral, methyl chavicol และ methyl eugenol

1.6 ฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของ  $\beta$ -amyloid น้ำมันที่ยับยั้งได้มากกว่า 50% คือ น้ำมันพลู ข่า และ กระชาย โดยยับยั้งได้  $63.30 \pm 2.23$ ,  $59.44 \pm 0.76$  และ  $57.95 \pm 0.60\%$  ตามลำดับ ส่วนสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหย ที่มีฤทธิ์ดีที่สุด คือ camphene ( $87.50 \pm 5.51\%$ ) ตามด้วย eugenol ( $60.83 \pm 2.22\%$ ), trans-caryophyllene ( $59.82 \pm 1.26\%$ ), linalool ( $59.50 \pm 0.61\%$ ), limonene ( $54.13 \pm 1.76\%$ ),  $\delta$ -3-carene ( $53.00 \pm 6.28\%$ ) และ (+)-camphor ( $51.91 \pm 1.02\%$ )

### 2. พืชพื้นเมือง

ได้มีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชพื้นเมือง 19 ชนิด ด้วยฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดียวกัน และคัดเลือกมาศึกษาหาสารออกฤทธิ์ 3 ชนิด คือ

2.1 แคนา จากการศึกษาพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดี จึงมาแยกได้สารซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สารออกฤทธิ์ 6 ชนิด คือ hallerone, protocatechuic acid, rengnolone, cleroidicin B, ixoside และ laminaribiose ส่วนฤทธิ์ต้านอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส พบว่าสารที่มีฤทธิ์แรงที่สุด คือ ursolic acid และแยกได้ tetracosane และส่วนผสมของ  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol ซึ่งมีฤทธิ์อ่อน

2.2 ชะอม เนื่องจากชะอมมีฤทธิ์ต้านอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจึงนำไปแยกสารออกฤทธิ์โดยใช้การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสควบคู่กับแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัด hexane ได้ 4 ชนิดคือ methyl

tridecanoate, arborinone, tetracosane และ 4,8-dimethylnonacosane โดยทุกตัวมีฤทธิ์ต้านอะเซติลโคลีนเอสเทอเรสที่อ่อน และแยกสารออกฤทธิ์ส่วนสกัด methanol คือ 4-methoxytetrahydrofuran-2-carboxylic acid ซึ่งเป็นสารใหม่ที่ยังไม่มีรายงานพบในพืช

นอกจากนี้ได้นำชะอมมากลั่นได้น้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงนำไปตรวจสอบด้วย GC-MS พบว่าได้สารออกฤทธิ์คือ 3-hexyl hydroperoxide, 1,3,5-trithiane, 3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane และ 5,6-dihydro-2,4,6-trimethyl-4H-1,3,5-dithiazine ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้าน AChE จากการแยกสารออกฤทธิ์พบว่าได้ 5,6-dihydro-2,4,6-trimethyl-4H-1,3,5-dithiazine

2.3 ดอกกันภัยมหิดล การตรวจสอบเบื้องต้นพบว่าดอกกันภัยมหิดลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด จึงนำมาแยกสารออกฤทธิ์โดยใช้ antioxidant test ร่วมกับ เนื่องจาก ethyl acetate ออกฤทธิ์ดีที่สุดจึงนำมาแยกผลการแยกได้สารออกฤทธิ์ 5 ชนิดคือ kaempferol, kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside,  $\beta$ -D-glycopyranosyl-4-hydroxybenzoate, kaempferol-3-O-X-L-arabinoside และ  $\beta$ -arbutin และแยกสารที่ไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอีก 2 ชนิดคือ 3-O-methyl inositol และ daucosterol และได้แยกสาร kaempferol-3-O- $\alpha$ -arabinoside และ  $\beta$ -arbutin เพิ่มเติมจากส่วนสกัด methanol

## ABSTRACT

The project "Isolation of biological active components from essential oils and medicinal plants indigenous to Thailand" is the project under the Center of research and development for value increase of folkloric plants. The studies are divided into two sections as follows.

### 1. Essential oils

Thirteen Thai essential oils, turmeric, phlai, holy basil, sweet basil, pomelo, fingerroot, galanga, kaffir lime leaf, kaffir lime peel, citronella, black pepper, guava leaf, betel leaf vine oils, were submitted to antimicrobial (enteric bacteria and histamine producing bacteria), antioxidant, antiacetylcholinesterase, anti-inflammatory,  $\beta$ -amyloid aggregation inhibition activities. The results are as follows.

1.1. Lemongrass, kaffir lime leaf, betel leaf vine, holy basil and sweet basil oils exhibited antibacterial activity against enteric bacteria. GC-MS and TLC bioautography indicated that the active components of the oils were citral, citronellal, eugenol and methyl eugenol, methyl chavicol, respectively.

1.2. Clove, lemongrass and sweet basil oils showed antibacterial activity against histamine producing bacteria with eugenol, citral, and methyl chavicol as active components, respectively.

1.3. All essential oils tested showed antioxidant activity. Betel leaf vine oil exhibited strongest activity followed by holy basil oil. The active components of both oils were eugenol.

1.4. Black pepper, galanga, turmeric and fingerroot oils showed strong antiacetylcholinesterase activity with 3- $\delta$ -carene, cineole and caryophyllene, cineole and caryophyllene, camphor and cineole, respectively.

1.5. The essential oils with strong antioxidant activity were subjected to anti-inflammatory testing and found betel leaf vine oil exerted strongest NO production inhibition (89.27%) followed by lemongrass, holy basil and kaffir lime leaf oils. Betel leaf vine oil exhibited strongest IL-6 production inhibition (68.05%) followed by kaffir lime leaf, holy basil and galanga oils. Holy basil oil also showed strongest activity on inhibition of TNF- $\alpha$  production. The active constituents of the essential oils were eugenol, trans-caryophyllene, 1,8-cineole, citronellal, citral, methyl chavicol and methyl eugenol.

1.6. The essential oils which inhibited  $\beta$ -amyloid aggregation more than 50% were betel leaf vine (63.30%), galangal (59.44%) and fingerroot (57.95%) oils. Among the compounds tested camphene exhibited strongest activity (87.50%) followed by eugenol (60.83%), trans-caryophyllene (59.82%), linalool (59.50%), limonene (54.13%), 3- $\delta$ -carene (53.00%) and (+)-camphor (51.91%).

### 2. Folkloric Plants

Three plants, Khae-na, Cha-om and Kan phai Mahidol were selected for the isolation of bioactive compounds.

### 2.1. Khae-na

Bioguided separation of Khae-na found 6 antioxidant compounds, hallerone, protocatechuic acid, rengynolone, cleroidicin B, ixoside and laminaribiose. Ursolic acid showed strong antiacetylcholinesterase activity while tetracosane and the mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol exhibited weak activity.

### 2.2 Cha-om

Cha-om exhibited antiacetylcholinesterase and antioxidant activities. Four antiacetylcholinesterase, methyl tridecanoate, arborinone, tetracosane and 4,8-dimethylnonacosane were isolated from hexane extract with weak activity. New antiacetylcholinesterase, 4-methoxytetrahydrofuran-2-carboxylic acid was isolated from methanol extract. Volatile oil obtained from steam distillation of Cha-om showed antioxidant activity. Chromatographic separation and identification by GC-MS revealed four antioxidant and antiacetylcholinesterase compounds, 3-hexyl hydroperoxide, 1,3,5-trithiane, 3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane and 5,6-dihydro-2,4,6-trimethyl-4H-1,3,5-dithiazine.

### 2.3 Kan phai Mahidol

Kan phai flower exhibited antioxidant activity stronger than other biological activities tested and ethyl acetate fraction showed strongest activity. Five active compounds, kaempferol, kaempferol-3-O- $\beta$ -L-arabinoside and  $\beta$ -arbutin along with two inactive compounds, 3-O-methylinositol and daucosterol were isolated from ethyl acetate extract. And the last two compounds were also isolated from methanol.