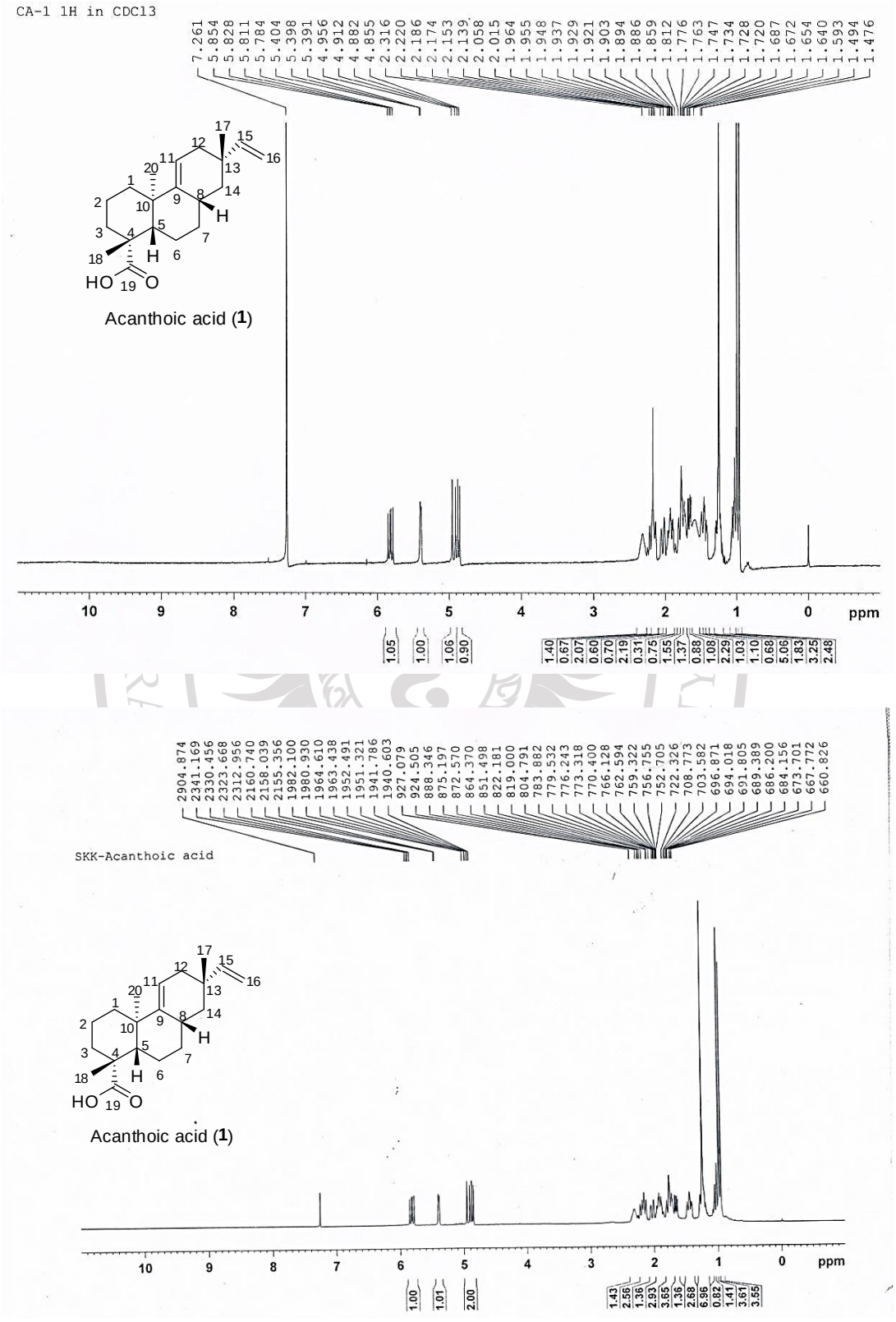
บทที่ 4
ผลการวิจัย/การวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัด acanthoic acid (**1**) จากต้นเปล้าใหญ่ ในเขตอำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี และนำ acanthoic acid ที่สกัดได้มาปรับเปลี่ยนโครงสร้าง acanthoic acid **1** บริเวณหมู่ฟังก์ชัน carboxylic acid ที่ตำแหน่ง C- 19 และหมู่ฟังก์ชัน alkene ที่ตำแหน่ง C- 9, 11 (endo alkene) และ C-15, 16 (exo alkene) ด้วยปฏิกิริยาทางเคมีโดยมีผลการทดลองดังนี้

4.1 การสกัดสาร acanthoic acid จากเปล้าใหญ่

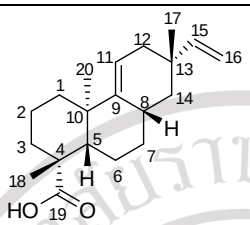
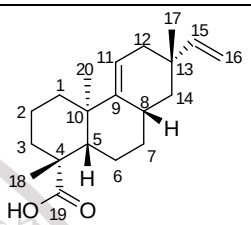
การสกัดแยกสาร acanthoic acid จากเปลือกต้นเปล้าใหญ่ในเขตอำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เมื่อวันอาทิตย์ที่ 12 กรกฎาคม 2558 ปริมาณ 896.88 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ครั้งละ 3 ลิตร โดยสกัดซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง และนำมาแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีบนซิลิกาเจล โดยใช้ระบบตัวทำละลายผสม เฮกเซน : เอทิลแอซิเตท อัตราส่วน 100 : 0 ถึง 0 : 100 และล้างผลึกด้วยระบบตัวทำละลายผสม เอทิลแอซิเตท : เฮกเซน อัตราส่วน 2 : 98 สามารถสกัดสาร acanthoic acid มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้ปริมาณ 1.59 กรัม คิดเป็นร้อยละผลิตภัณฑ์ 0.178 (R_f = 0.21 ในระบบ ตัวทำละลายผสม เอทิลแอซิเตท : เฮกเซน อัตราส่วน 10 : 90) ขณะที่ Suwancharoen และคณะ (2010) รายงานสกัดสาร acanthoic acid จากเปลือกต้นเปล้าใหญ่ คิดเป็นร้อยละผลิตภัณฑ์ 5.5 จะเห็นว่าร้อยละผลิตภัณฑ์ที่ได้แตกต่างกัน เนื่องจากเปลือกต้นเปล้าใหญ่ที่นำมาสกัดมีลักษณะไม่เหมือนกันคือ กลุ่มผู้วิจัยได้นำเปลือกต้นเปล้าใหญ่ที่มีความชื้นและขนาดของเปลือกต้นเปล้าใหญ่ ซึ่งแตกต่างจากรายงานก่อนหน้านี้ที่ใช้เปลือกต้นเปล้าใหญ่ที่แห้งและบดละเอียด จึงเป็นเหตุผลทำให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ที่ได้แตกต่างกัน ผลการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวพบว่า acanthoic acid จากการสกัดมีจุดหลอมเหลวที่ 140-141 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับ acanthoic acid มาตรฐาน (Suwancharoen et al., 2010) ที่มีจุดหลอมเหลวที่ 141-142 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์โครงสร้างของ acanthoic acid บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ได้ผลดังนี้

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.1 ^{1}H-NMR ของสาร Acanthoic acid จากการสกัด และ ^{1}H-NMR ของสาร Acanthoic acid มาตรฐาน Suwancharoen และคณะ (2010)

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบ ^{1}H-NMR (400 MHz) ของ acanthoic acid จากการสกัดกับ acanthoic acid มาตรฐาน

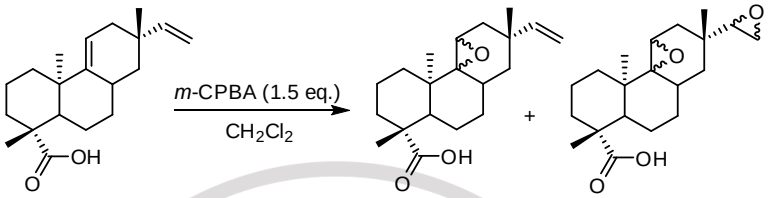
ตำแหน่ง	δ_H (mult, *J* in Hz ของ acanthoic acid)	
	 โครงสร้าง Acanthoic acid จากการสกัด	 โครงสร้าง Acanthoic acid จาก Suwancharoen และคณะ (2010)
1	1.81 (m, a), 1.29 (m, b)	1.81 (m, a), 1.28 (m, b)
2	1.93 (m, a), 2.22 (m, b)	1.93 (m, a), 2.21 (m, b)
3	2.14 (m, a), 1.06 (m, b)	2.15 (m, a), 1.05 (m, b)
5	1.66 (dd, *J*=6, 13.0 Hz)	1.66 (dd, *J*=6.2, 13.0 Hz)
6	1.49 (m, a), 1.89 (m, b)	1.48 (m, a), 1.89 (m, b)
7	1.73 (m, a), 1.21 (m, b)	1.73 (m, a), 1.21 (m, b)
8	2.32 (m)	2.31 (m)
11	5.40 (m)	5.39 (m)
12	2.02 (m, a), 1.77 (m, b)	2.01 (m, a), 1.77 (m, b)
14	1.46 (m, a), 1.03 (m, b)	1.45 (m, a), 1.03 (m, b)
15	5.82 (dd, *J*=10.7, 17.5 Hz)	5.81 (dd, *J*=10.6, 17.4 Hz)
16	4.93 (dd, *J*=1.2, 17.5 Hz, *trans*) 4.87 (dd, *J*=1.2, 10.6 Hz, *cis*)	4.93 (dd, *J*=1.2, 17.4 Hz, *trans*) 4.86 (dd, *J*=1.2, 10.6 Hz, *cis*)
17	0.96 (s)	0.96 (s)
18	1.25 (s)	1.25 (s)
20	0.99 (s)	0.99 (s)

จากการวิเคราะห์เอกลักษณ์โครงสร้าง acanthoic acid ที่ได้จากการสกัด ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ดังภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าสารที่สกัดได้คือ acanthoic acid เนื่องจากผลการวิเคราะห์ ค่าตำแหน่งของสัญญาณ (chemical shift) ของสารที่แยกได้กับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ขึ้นที่สัญญาณใกล้เคียงกัน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

จากผลการวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค TLC จุดหลอมเหลว และ ^{1}H-NMR ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้เปรียบเทียบกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Suwancharoen et al., 2010) พบว่าค่า R_f ค่าจุดหลอมเหลว และค่าสัญญาณโปรตอนมีค่าใกล้เคียงกัน จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารที่แยกได้ คือ acanthoic acid

4.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ epoxy acanthoic acid ด้วยปฏิกิริยา epoxidation



1 **47a** **47b**

การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ acanthoic acid ด้วยปฏิกิริยา epoxidation โดยนำ acanthoic acid **1** ทำปฏิกิริยากับ 3-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA) ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) เวลา 1.30 ชั่วโมง ได้ผลิตภัณฑ์ **47a** และ **47b** ร้อยละผลิตภัณฑ์เท่ากับ 11 และ 29 ตามลำดับ อนุพันธ์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค IR และ NMR spectroscopy ดังตารางที่ 4.2 และ 4.3 โดย IR spectrum อนุพันธ์ **47a** พบพีค 3083 cm^{-1} ซึ่งเป็น sp^2 C-H (s) ของพันธะคู่ และ 1147 cm^{-1} เป็น C-O (s) ของวง Epoxide โดยอนุพันธ์ **47b** ไม่พบพีคของพันธะคู่ สำหรับ ^{1}H-NMR spectrum อนุพันธ์ **47a** พบว่ามีพีคเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของสัญญาณค่าการเลื่อนทางเคมี (chemical shift) 5.7 ppm ซึ่งเป็นโปรตรอนของตำแหน่ง 15 และสัญญาณค่าการเลื่อนทางเคมี 4.9 ppm ซึ่งเป็นโปรตรอนของตำแหน่ง 16 และ **47b** พบว่าไม่มีพีคเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของสัญญาณดังกล่าว ซึ่งจากผลดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับ Acanthoic acid **1** สามารถยืนยันได้ว่าเกิดผลิตภัณฑ์ **47a** และ **47b**

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ IR ของ acanthoic acid **1** และ **47a-b**

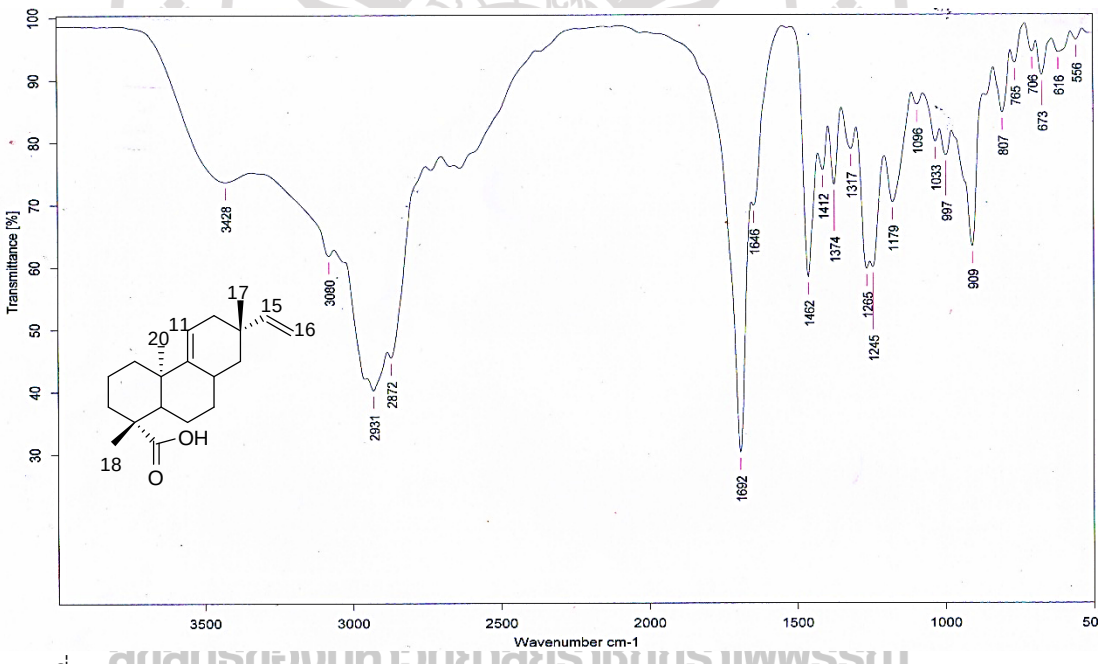
(wave number; cm^{-1})		
Acanthoic acid **1**	**47a**	**47b**
3080 sp^2 C-H (s)	3083 sp^2 C-H (s)	2962 sp^3 C-H (s)
2931 sp^3 C-H (s)	2926 sp^3 C-H (s)	1724 C=O (s)
1692 C=O (s)	1694 C=O (s)	1463 CH_2 (b)
1462 CH_2 (b)	1459 CH_2 (b)	1385 CH_3 (b)
1374 CH_3 (b)	1376 CH_3 (b)	1158 C-O (s)
1147 C-O (s)	1147 C-O (s)	3425 O-H (s)
3428 O-H (s)		

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

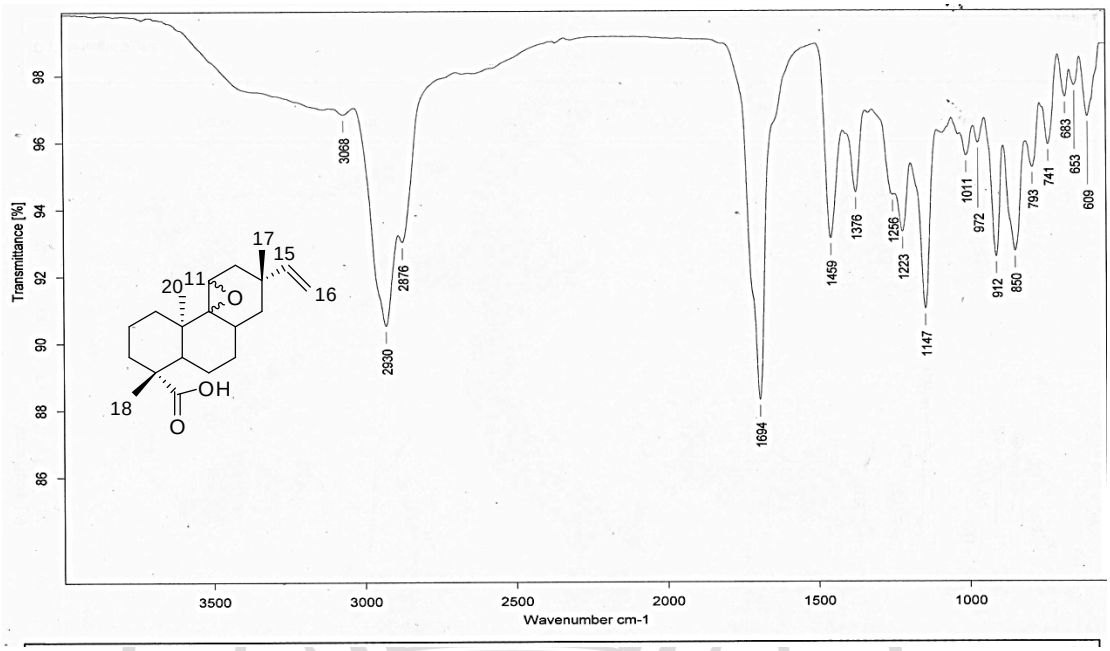
ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR ของ acanthoic acid **1** และ **47a-b**

การเลื่อนทางเคมี (chemical shift; ppm)		
Acanthoic acid **1**	**47a**	**47b**
C-11 (5.4)	C-15 (5.7)	C-17 (0.6)
C-15 (5.8)	C-16 (4.9)	C-18 (1.2)
C-16 (4.9)	C-17 (0.6)	C-20 (0.8)
C-17 (0.9)	C-18 (1.2)	
C-18 (1.2)	C-20 (1)	
C-20 (1)		

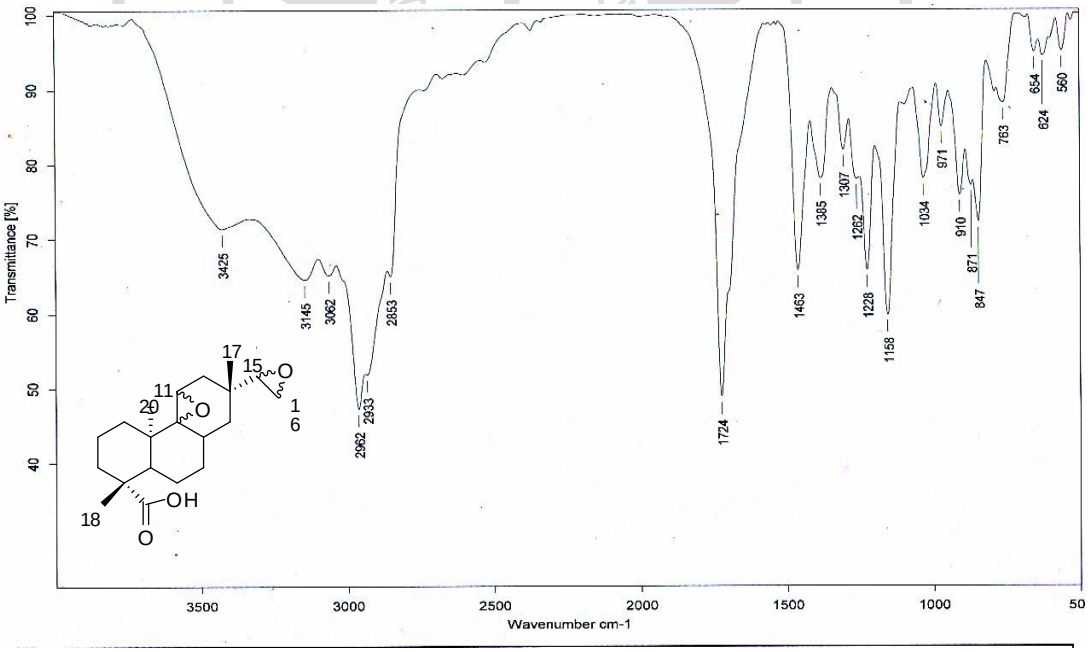
ผลการเปรียบเทียบ IR spectrum ของสาร acanthoic acid **1** และ **47a-b**



ภาพที่ 4.2 IR spectrum ของสาร acanthoic acid **1**

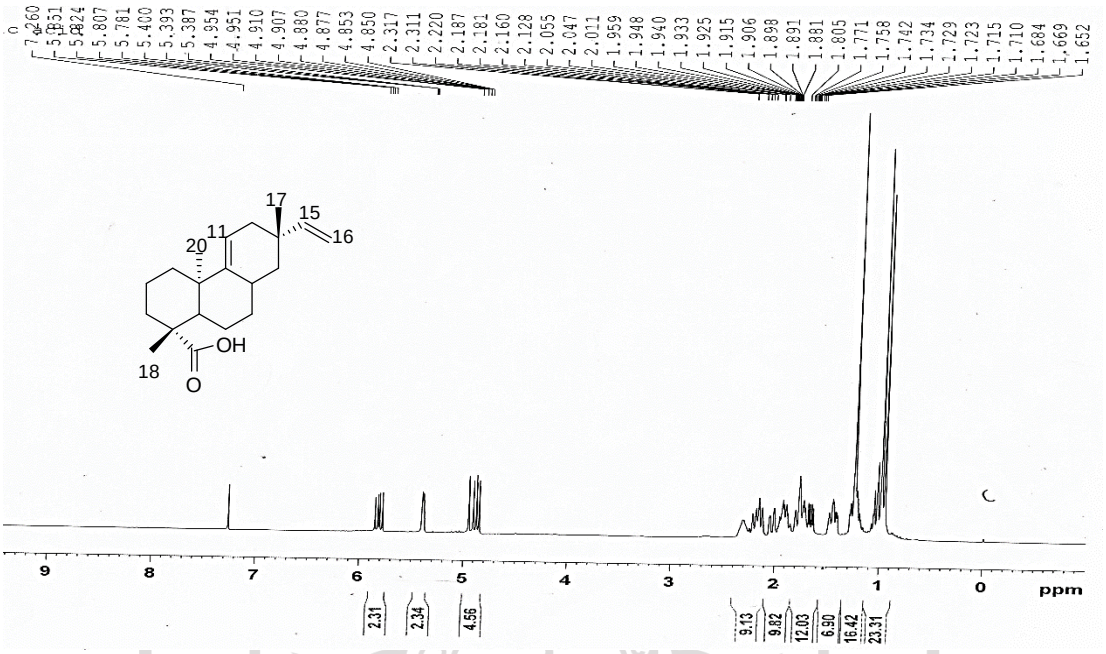


ภาพที่ 4.3 IR อนุพันธ์ **47a**

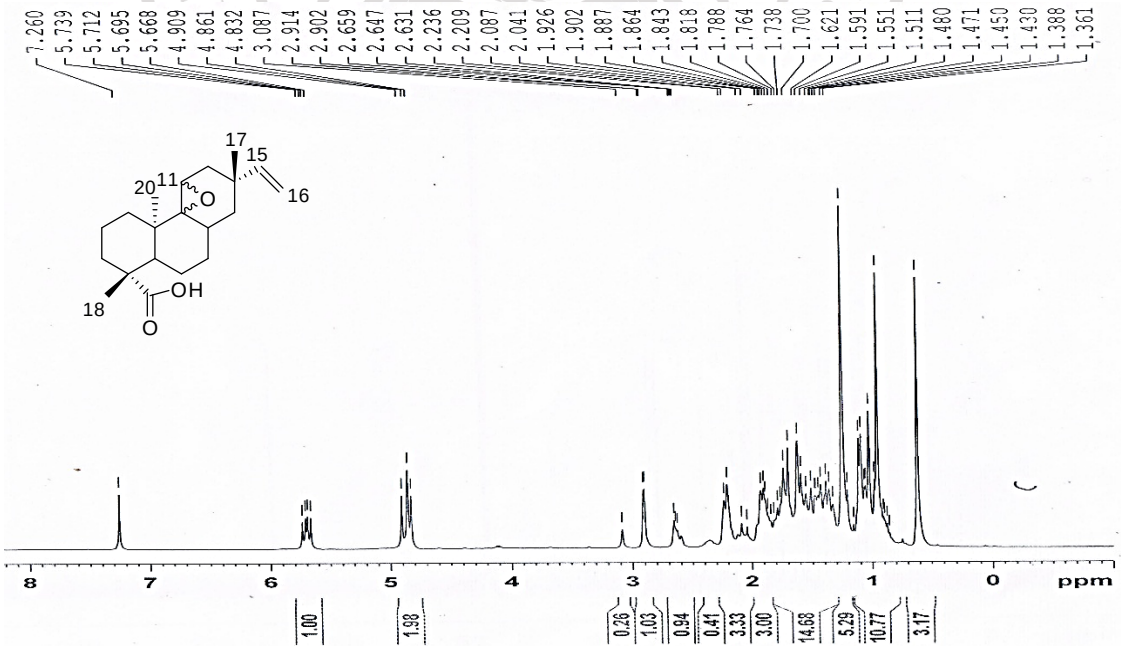


ภาพที่ 4.4 IR อนุพันธ์ **47b**

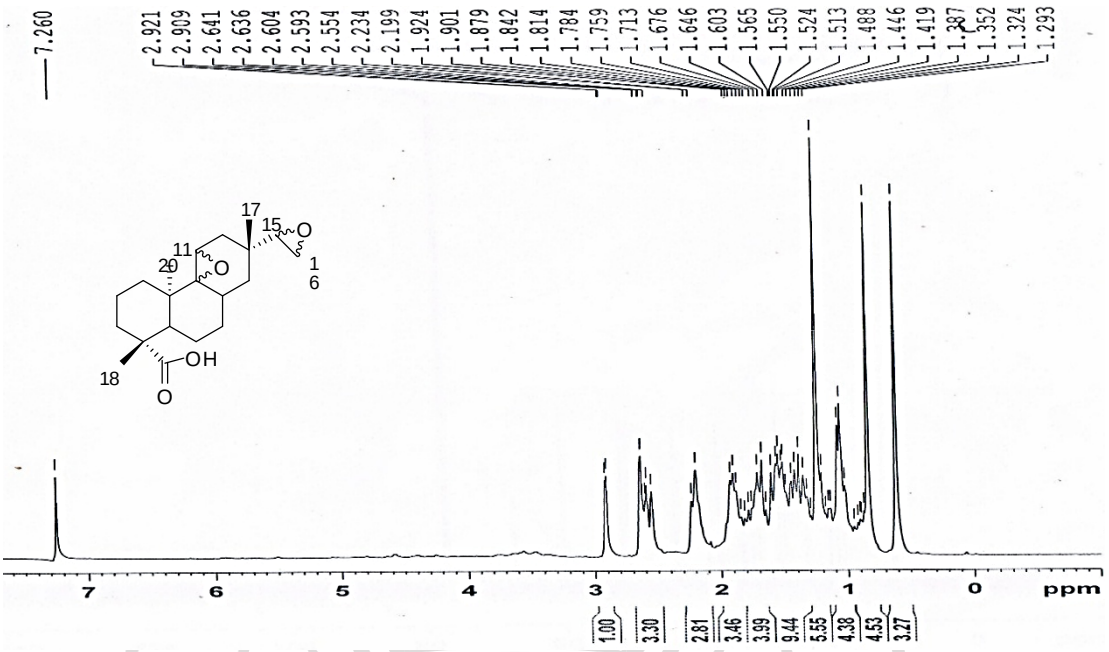
ผลการเปรียบเทียบ ^{1}H-NMR ของสาร acanthoic acid **1** และ **47a-b**



ภาพที่ 4.5 ^{1}H-NMR ของสาร acanthoic acid **1**

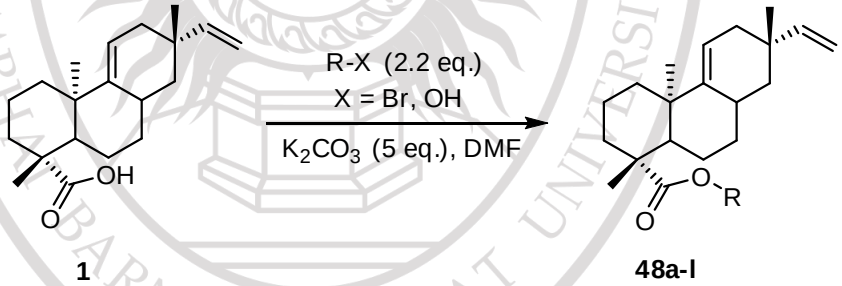


ภาพที่ 4.6 ^{1}H-NMR อนุพันธ์ **47a**



ภาพที่ 4.7 ^{1}H-NMR ของอนุพันธ์ **47b**

4.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ alkyl acanthoate 48a-l



1 **48a-l**

การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ acanthoic acid **1** ด้วยปฏิกิริยา Esterification โดยนำ acanthoic acid **1** ทำปฏิกิริยากับ alkyl bromide ดังตาราง 4.4 พบว่าได้ผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วงร้อยละ 24-98 ผลิตภัณฑ์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค NMR และ IR spectroscopy ซึ่งขณะนี้ได้ผลการวิเคราะห์โครงสร้างที่แน่นอนเป็นบางส่วนดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 ได้แก่ IR spectrum อนุพันธ์ **48a** พบพีค 3282 cm^{-1} ซึ่งเป็น sp C-H (s) ของพันธะสาม (Alkyne) อนุพันธ์ **48b** พบพีค 772 cm^{-1} ซึ่งเป็น CH_2 long chain band อนุพันธ์ **48c** พบพีค 722 cm^{-1} ซึ่งเป็น CH_2 long chain band เมื่อศึกษา acanthoic acid **1** พบว่า acanthoic acid **1** พบพีค 3428 cm^{-1} ซึ่งเป็น O-H (s) ของหมู่ carboxylic acid แต่อนุพันธ์ **48a-c** ไม่พบพีค O-H (s) ดังกล่าว สำหรับผล ^{1}H-NMR spectrum อนุพันธ์ **48a** พบว่ามีพีคเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของสัญญาณการเลื่อนทางเคมี 2.4 และ 4.7 ppm ซึ่งเป็นโปรตรอนตำแหน่ง 22 และ 23 ของพันธะสาม (alkyne) **48b**

RAMBHAI BARNI RAJABHAT UNIVERSITY
อนุสรณ์สถานมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

พบว่ามีพีคเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของสัญญาณการเลื่อนทางเคมี 0.9 และ 4.1 ppm ซึ่งเป็นโปรตรอนตำแหน่ง 24 และ 21 จากผลดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับ acanthoic acid **1** สามารถยืนยันได้ว่าเกิดผลิตภัณฑ์ **48a** และ **48b**

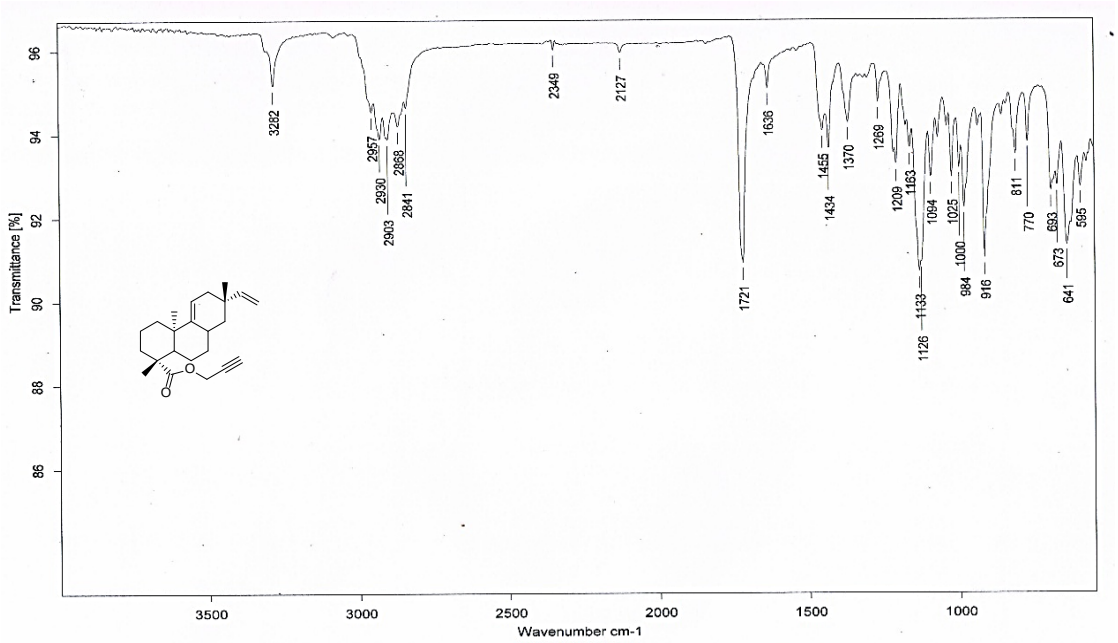
ตารางที่ 4.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์ชนิดใหม่ของ Acanthoic acid ด้วยปฏิกิริยา Esterification

ลำดับ (Entry)	หมู่แทนที่ (R)	ผลิตภัณฑ์ (Product)	เวลา (Time, h)	ร้อยละผลิตภัณฑ์ (%Yield)
1	Propargyl	**48a**	1.30	79
2	Butyl	**48b**	2.00	61
3	Octyl	**48c**	1.00	77
4	Benzyl	**48d**	1.00	70
5	4-Nitrobenzyl	**48e**	1.00	24
6	4-Methylbenzyl	**48f**	0.50	98
7	4-Methoxylbenzyl	**48g**	1.50	76
8	2-Fluorobenzyl	**48h**	0.50	75
9	3-Fluorobenzyl	**48i**	15 min	78
10	4-Fluorobenzyl	**48j**	15 min	72
11	4-Chlorobenzyl	**48k**	1.00	82
12	4-Bromobenzyl	**48l**	0.50	98
13	allyl	**48m**	1.00	61

ตารางที่ 4.5 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ IR ของ **48a** เปรียบเทียบกับ acanthoic acid **1**

Acanthoic acid **1**	**48a**
3080 sp^2 C-H (s)	3282 sp C-H (s) of alkyne
2931 sp^3 C-H (s)	2903 sp^3 C-H (s)
1692 C=O (s)	1721 C=O (s)
1462 CH_2 (b)	1434 CH_2 (b)
1374 CH_3 (b)	1370 CH_3 (b)
1147 C-O (s)	1000 C-O (s)
3428 O-H (s)	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

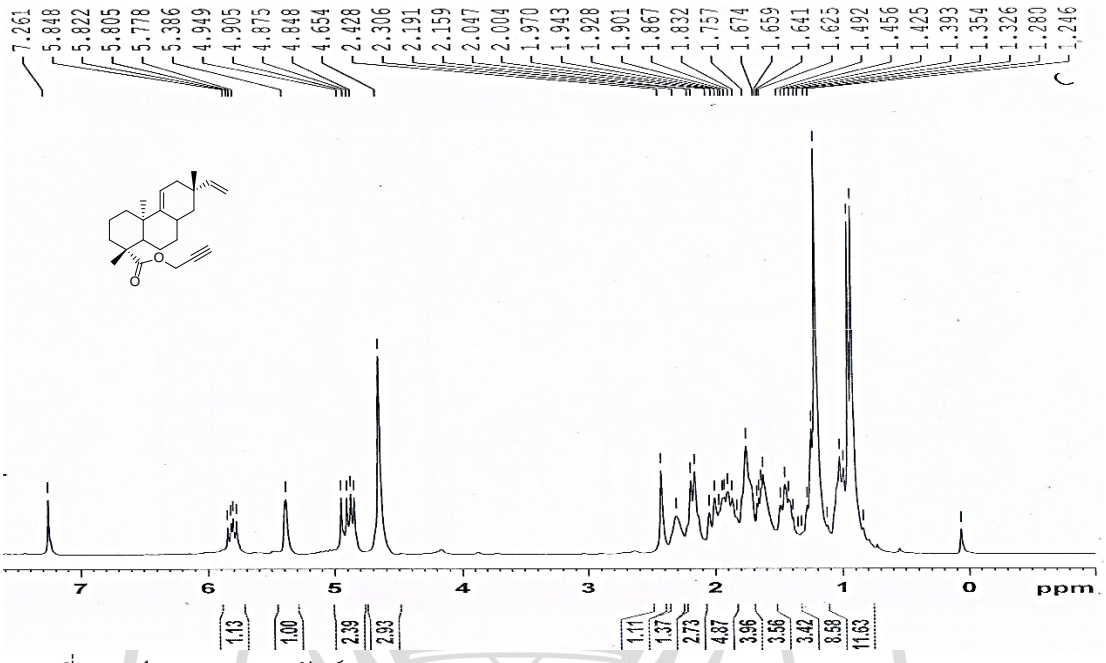


ภาพที่ 4.8 IR อนุพันธ์ **48a**

ตารางที่ 4.6 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR ของ **48a** เปรียบเทียบกับ acanthoic acid **1**

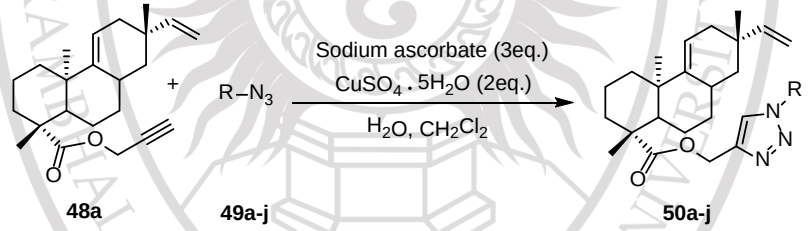
Acanthoic acid **1**	**48a**
H-11 (5.4)	H-11 (5.4)
H-15 (5.8)	H-15 (5.8)
H-16 (4.9)	H-16 (4.9)
H-17 (0.9)	H-17 (0.9)
H-18 (1.2)	H-18 (1.2)
H-20 (1.0)	H-20 (1.0)
	H-21 (4.6)
	H-23 (2.4)

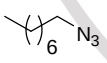
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

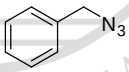


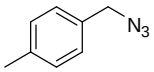
ภาพที่ 4.9 ^{1}H-NMR อนุพันธ์ **48a**

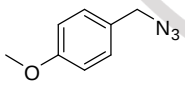
4.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Triazolyl acanthoic esters

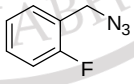


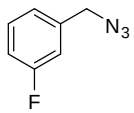
49a R = 

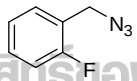
49b R = 

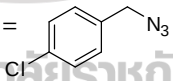
49c R = 

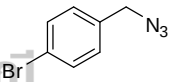
49d R = 

49e R = 

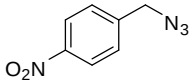
49f R = 

49g R = 

49h R = 

49i R = 

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

49j R = 

การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ triazolyl acanthoic esters **50a-j** (ตารางที่ 4.7) โดยใช้ปฏิกิริยา Copper Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC) ระหว่าง 2-propynyl acanthoate **48a** กับ alkyl azide **50a-j** อนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ถูกนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค NMR spectroscopy และ IR- spectroscopy ซึ่งจะเห็นได้ว่า ปฏิกิริยา Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC) สามารถเปลี่ยนหมู่ alkyne ของอนุพันธ์ **48a** เกิดเป็นผลิตภัณฑ์

triazolyl acanthoic ester ได้จากผลการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR spectroscopy และ IR-spectroscopy ดังตารางที่ 4.7 ถึง 4.8

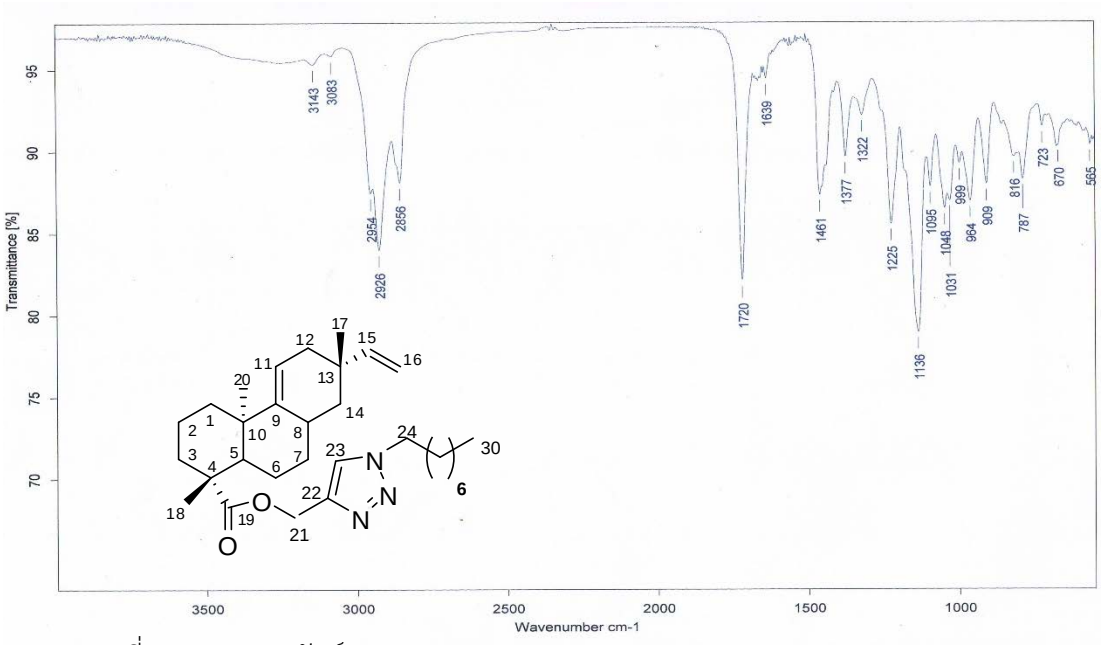
ตารางที่ 4.7 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ triazolyl acanthoic esters **50a-j**

ลำดับ (Entry)	ตัวทำปฏิกิริยาที่ใช้ (Reagent)	ผลิตภัณฑ์ (Product)	เวลา (Time, h)	ร้อยละผลิตภัณฑ์ (%Yield)
1	**49a**	**50a**	0.30	80
2	**49b**	**50b**	1.00	88
3	**49c**	**50c**	0.40	62
4	**49d**	**50d**	0.30	83
5	**49e**	**50e**	0.30	89
6	**49f**	**50f**	15.00	83
7	**49g**	**50g**	1.00	77
8	**49h**	**50h**	18.00	82
9	**49i**	**50i**	0.30	68
10	**49j**	**50j**	0.30	84

ตารางที่ 4.8 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ IR ของ **50a** เปรียบเทียบกับอนุพันธ์ **48a**

48a	**50a**
3282 sp C-H (s) of alkyne	3083 sp^2 C-H (s)
2903 sp^3 C-H (s)	2926 sp^3 C-H (s)
1721 C=O (s)	1720 C=O (s)
1434 CH_2 (b)	1461 CH_2 (b)
1370 CH_3 (b)	1377 CH_3 (b)
1000 C-O (s)	1225 C-N (m)
	1031C-O (s)
	723 Long chain

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

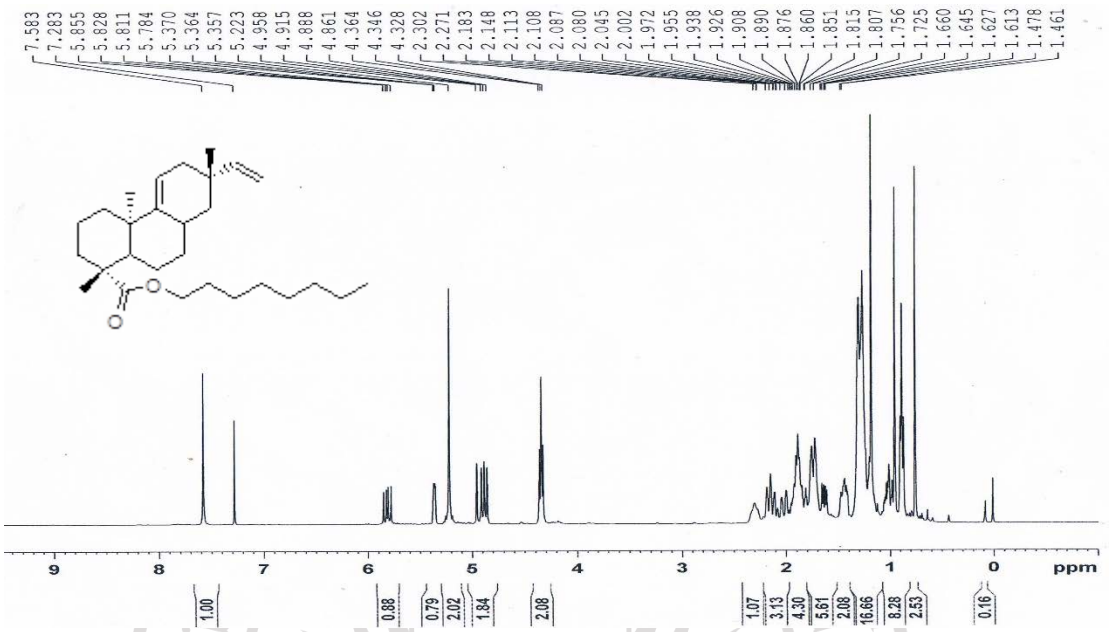


ภาพที่ 4.10 IR อนุพันธ์ **50a**

ตารางที่ 4.9 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR ของ **50a** เปรียบเทียบกับอนุพันธ์ **48a**

48a	50a
H-11 (5.4)	H-11 (5.4)
H-15 (5.8)	H-15 (5.8)
H-16 (4.9)	H-16 (4.9)
H-17 (0.9)	H-17 (0.8)
H-18 (1.2)	H-18 (1.2)
H-20 (1.0)	H-20 (1)
H-21 (4.6)	H-21 (5.3)
H-23 (2.4)	H-23 (4.4)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

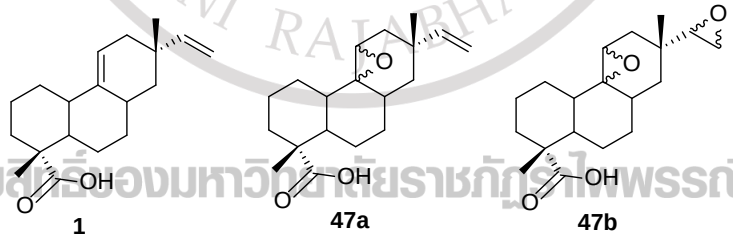


ภาพที่ 4.11 ^{1}H-NMR อนุพันธ์ **50a**

4.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ได้รับความอนุเคราะห์ในการทดสอบจาก Prof. Dr. Seiji Okada มหาวิทยาลัย Kumamoto ประเทศญี่ปุ่น สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทดสอบกับมะเร็งท่อน้ำดี ชนิด KKU-213 KKU-055 KKU-214 และ KKU-100 และใช้เซลล์ปกติ เป็นเซลล์ตับชนิด MMNK-1 กับสาร acanthoic acid และอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นทั้ง 25 ชนิด โดยใช้วิธี MTT assay ปรากฏผลการทดสอบดังตารางที่ 4.10-4.12 ดังนี้

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์ **47a-b** ในกลุ่ม epoxide

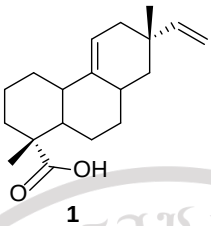


1 **47a** **47b**

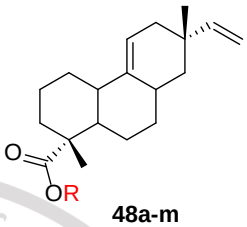
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

Compound	IC_{50} (μM)				
	KKU-055	KKU-213	KKU-214	KKU-100	MMNK-1
1	120	149	168	174	196
47a	>50	>50	>50	>50	>50
47b	>50	>50	>50	>50	>50

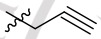
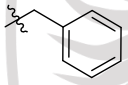
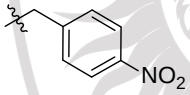
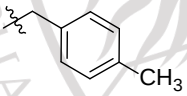
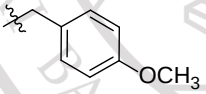
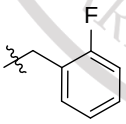
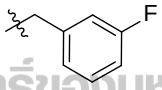
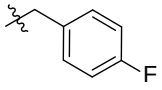
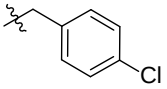
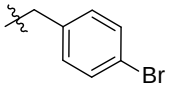
ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของอนุพันธ์ **48a-m**



1

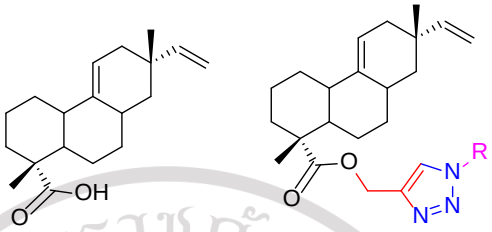


48a-m

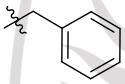
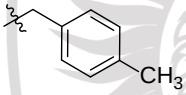
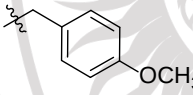
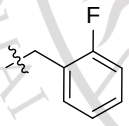
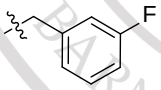
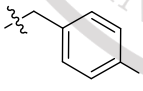
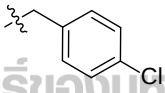
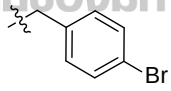
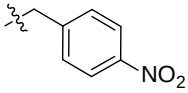
Compound	R	IC_{50} (μM)				
		KKU-055	KKU-213	KKU-214	KKU-100	MMNK-1
1		120	149	168	174	196
48a		37	31	34	>50	38
48b		49	37	>50	>50	>50
48c		>50	>50	>50	>50	>50
48d		>50	>50	>50	>50	>50
48e		>50	>50	>50	>50	>50
48f		>50	>50	>50	>50	>50
48g		>50	>50	>50	>50	>50
48h		47	35	46	>50	>50
48i		41	28	>50	>50	>50
48j		>50	38	>50	>50	49
48k		>50	>50	>50	>50	>50
48l		>50	41	44	>50	>50
48m		>50	>50	>50	>50	>50

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของอนุพันธ์ **50a-j**



1 **50a-j**

Compound	R	IC_{50} (μM)				
		KKU-055	KKU-213	KKU-214	KKU-100	MMNK-1
1		120	149	168	174	196
50a		48	37	38	>50	35
50b		47	40	41	>50	39
50c		>50	47	39	>50	>50
50d		>50	>50	>50	>50	>50
50e		>50	>50	>50	>50	>50
50f		>50	>50	>50	>50	>50
50g		>50	>50	>50	>50	>50
50h		>50	>50	39	>50	>50
50i		>50	>50	53	>50	>50
50j		33	18	21	>50	21

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ชนิด KKU-213 KKU-055 KKU-214 และ KKU-100 และใช้เซลล์ปกติ เป็นเซลล์ตับชนิด MMNK-1 ของสาร acanthoic acid **1** พบว่าสารชนิดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งท่อน้ำดีไม่สูงมากนักโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 120, 149, 168 และ 174 μM ในมะเร็งชนิด KKU-055, KKU-213, KKU-214 และ KKU-100 ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 196 μM ในเซลล์ตับปกติ แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงกว่าในเซลล์ปกติ เมื่อพิจารณาผลจากตารางที่ 4.9 พบว่าหากทำการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันจาก alkene เป็น epoxide (อนุพันธ์ **47a-b**) ผลที่ได้สารทั้ง 2 ชนิด สามารถแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากมีค่า IC_{50} มากกว่า 50 μM ทั้งในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและเซลล์ตับปกติ แสดงว่าการปรับเปลี่ยนบริเวณหมู่ alkene เป็นหมู่ epoxide ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

เมื่อพิจารณาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของอนุพันธ์ **48a-m** ตารางที่ 4.10 ซึ่งเป็นอนุพันธ์กลุ่ม ester โดยอนุพันธ์กลุ่มนี้ทั้ง 13 ชนิด ที่สังเคราะห์ขึ้น ได้ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบริเวณหมู่ carboxylic acid ของ acanthoic acid เป็น ester ที่มีส่วน alkyl group เป็น alphatic โซ่ตรง (อนุพันธ์ **48a-c** และ **48m**) รวมถึงกลุ่มอนุพันธ์ของ benzyl group (อนุพันธ์ **48d-l**) พบว่าอนุพันธ์ **48a 48b 48h 48i 48j** และ **48l** สามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-213 ได้ดี มีค่า IC_{50} อยู่ระว่าง 28-41 μM สำหรับเซลล์มะเร็ง KKU-055 พบว่าอนุพันธ์ **48a 48b 48h และ 48i** แสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ (IC_{50} อยู่ระว่าง 37-49 μM) ขณะที่เซลล์มะเร็ง KKU-214 พบว่าอนุพันธ์ **48a 48h** และ **48l** แสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ (IC_{50} อยู่ระว่าง 34-46 μM) ส่วนเซลล์มะเร็ง KKU-100 พบว่าอนุพันธ์ทั้งหมดที่สังเคราะห์ขึ้นฤทธิ์ยับยั้งได้ที่ค่า IC_{50} มากกว่า 50 μM เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงโครงสร้างกับฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์กลุ่ม ester นี้ พบว่า **48h 48i** และ **48j** ซึ่งมีหมู่แทนที่ (R) เป็น fluoro benzyl เกาะที่ตำแหน่ง 2, 3 และ 4 ของวง benzene แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด KKU-213 ได้ดีที่สุด และหากเปรียบเทียบถึงความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้ง 4 ชนิดแล้วจะพบว่าอนุพันธ์ **48a** และ **48h** มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้สูงถึง 3 ชนิด คือ KKU-055 KKU-213 และ KKU-214 ซึ่งให้ผลดีกว่า acanthoic acid สูงกว่า 3-5 เท่า

เมื่อพิจารณาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของอนุพันธ์ **50a-j** ตารางที่ 4.11 ซึ่งเป็นอนุพันธ์กลุ่ม triazole โดยอนุพันธ์กลุ่มนี้ทั้ง 10 ชนิด ที่สังเคราะห์ขึ้น ได้ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบริเวณหมู่ carboxylic acid ของ acanthoic acid เป็นอนุพันธ์ triazolyl ester พบว่าความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์สังเคราะห์กลุ่มนี้ส่วนมากสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด KKU-214 ได้ถึง 6 อนุพันธ์ (อนุพันธ์ **50a-c**, **50h-j**) โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 21-53 μM ขณะที่มีอนุพันธ์ 4 ชนิด (อนุพันธ์ **50a-c** และ **50j**) สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด KKU-213 ได้ และยังพบว่าอนุพันธ์ **50a 50b** และ **50j** มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้สูงถึง 3 ชนิด คือ KKU-055 KKU-213 และ KKU-214 โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 18-48 μM ซึ่งให้ผลดีกว่า acanthoic acid สูงกว่า 3-8 เท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุพันธ์ **50j** ที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด KKU-213 (IC_{50} เท่ากับ 18 μM) ได้สูงกว่า acanthoic acid ถึง 8 เท่า ซึ่งอนุพันธ์ดังกล่าวจึงน่าสนใจที่จะนำไปศึกษากลไกการยับยั้งเซลล์มะเร็งเพื่อพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งท่อน้ำดีได้ในอนาคต