

Thesis Title Biological Activities and Chemical Constituents of Five Thai Medicinal Plants

Author Mr. Sorachai Khamsan

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Boonsom Liawruangrath	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Surapol Natakankitkul	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Saisunee Liawruangrath	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Aphiwat Teerawutgulrag	Co-advisor
Prof. Mary J. Garson	Co-advisor
Prof. Stephen G. Pyne	Co-advisor

ABSTRACT

The goal of this research is to conduct the isolation and structural elucidation of the secondary metabolites of some Thai medicinal plants and evaluate their anti-malarial, anticancer, and other biological activities including anti-TB as well as antimicrobial activities. The five Thai medicinal plants species that were studied were; *Jacaranda obtusifolia* H.B.K. ssp. *rhombofolia* (G.F.W. Meijer) Gentry, *Cyperus kyllingia* Endl., *Spermacoce remota* Lamk., *Schoutenia glomerata* King subsp. *peregrin* (Craib) Roem. & Hartona and *Lindenbergia philippensis* (Cham.) Benth. The structures of the isolated compounds were elucidated based on 1D, 2D nuclear magnetic resonance (NMR), mass spectrometry (MS) analyses and comparison with previously reported spectral data. The twig parts of *J. obtusifolia*, the aerial parts and roots of *C. kyllingia*, the aerial parts and roots of *S. remota*, the leaves and twigs of *S. glomerata* and the leaves and roots of *L. philippensis* were dried, ground and sequentially extracted with hexane, chloroform and methanol. The essential oils of the leaves of *J. obtusifolia*, the aerial parts of *C. kyllingia*, the aerial parts of *S. remota*,

the leaves of *S. glomerata* and the leaves of *L. philippensis* were isolated by hydrodistillation. The chemical constituents of the essential oils were analyzed using capillary GC and GC-MS. The extracts and essential oils from the selected plants were subjected to bioassay screening for anti-malarial activity against the drug resistant K1 strain of *Plasmodium falciparum*, cytotoxic activity against KB (oral cavity cancer), MCF-7 (breast cancer) and NCI-H187 (small cell lung cancer) human cancer cell lines and Vero cell, anti-TB activities against *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra and antimicrobial activities. The biological activities were used as a guide for the isolation, purification, and structure elucidation of secondary metabolites.

The methanolic extract of *J. obtusifolia* twigs was found to be active against the NCI-H187 (small cell lung cancer) with a half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of 23.2 µg/mL. The active extract was fractionated and purified by reverse phase flash column chromatography and C₁₈-HPLC. One new isoflavone 7-hydroxy-3'-methoxy-4'-O-β-D-glucoside isoflavone along with (-)-liquiritigenin, (-)-neoliquiritin, isoliquiritin, genistin, daidzein, isoliquiritigenin, and formononetin were also isolated. A new compound 7-hydroxy-3'-methoxy-4'-O-β-D-glucoside isoflavone, (-)-liquiritigenin, isoliquiritigenin, genistin and daidzein were demonstrated as active constituents. 7-Hydroxy-3'-methoxy-4'-O-β-D-glucoside isoflavone possessed strong cytotoxicity against KB and NCI-H187 with the IC₅₀ values of 2.5 and 7.5 µg/mL. (-)-Liquiritigenin and isoliquiritigenin showed some activities against NCI-H187 cell line with IC₅₀ values of 30.1 and 16.6 µg/mL, respectively. Daidzein exhibited significant cytotoxicity against KB, MCF-7 and NCI-H187 cell lines with the IC₅₀ values of 5.7, 28.2 and 8.1 µg/mL, and genistin exhibited strong cytotoxicity against KB cell line with the IC₅₀ value of 2.8 µg/mL and showed moderate cytotoxicity against NCI-H187 cell line with the IC₅₀ value of 27.3 µg/mL, respectively. In addition, isolated compounds showed no cytotoxicity against Vero cells. The *J. obtusifolia* essential oil showed significantly strong activities against NCI-H187, MCF-7 and KB cell lines with IC₅₀ values of 6.8, 5.8 and 5.6 µg/mL, respectively, but was non-cytotoxic against Vero cells. The essential oil showed some activity against *M. tuberculosis* H₃₇Ra strain with an MIC value of 25.0 µg/mL. The essential oil showed activity against both Gram-positive bacterial (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27553) and

Gram-negative bacterial (*Escherichia coli* ATCC25922) and showed strong antifungal activity against *Aspergillus flavus* and *Trichophyton mentagrophytes*, but did not inhibit the growth of *Candida albicans*. The MIC values of the active essential oil was investigated using the disc diffusion method. The essential oil exhibited the highest antibacterial efficacy against *S. aureus* with an MIC value of 1.3 mg/mL followed by *E. coli* and *P. aeruginosa* at 5.0 mg/mL. The major components of the leaf essential oil were hexadecanoic acid (28.1%), linoleic acid (15.9%) (*E*)-phytol (10.7%), nonacosane (3.9%) and octadecanoic acid (3.7%).

Guided by cytotoxicity on human cancer cell lines, fractionation of the active chloroform extract from the root of *C. kyllingia* led to the isolation of stigmasterol and alkyl *trans*-furoate. Fractionation of the active hexane extract from the aerial part resulted in the isolation of the long chain hydrocarbons (hexacosane, heptacosane, octacosane, nonacosane and tricosane). α -cadinol (19.3%), caryophyllene oxide (12.2%), α -muurolol (11.6%), α -humulene (9.9%) and α -atlantone (6.1%) were identified as the major components of the *C. kyllingia* essential oil. The essential oil showed significant activities against *P. falciparum* (K1), multidrug resistant strain with an IC₅₀ value of 7.5 μ g/mL. The essential oil showed significantly cytotoxicity against NCI-H187, MCF-7 and KB cell lines with the IC₅₀ values of 7.7, 17.3 and 15.1 μ g/mL, but was non-cytotoxic against Vero cells. Furthermore, the essential oil also showed activity against *M. tuberculosis* H₃₇Ra strain with a MIC value of 25.0 μ g/mL. The essential oil exhibited antibacterial activity against *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. *S. aureus* and also showed antifungal activity against *C. albicans*, *A. flavus* and *T. mentagrophytes*. The essential oil exhibited the highest antibacterial efficacy against *E. coli* with a MIC value 1.3 mg/mL and *P. aeruginosa* with the MIC value of 2.5 mg/mL.

Activity guided fractionation of the active chloroform extract of the roots of *S. remota* has led to the isolation of stigmasterol, *trans* and *cis-p*-coumaroyl derivatives. The major components of the essential oil were (*E*)-phytol (25.5%), 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone, (24.3%), methyl hexadecanoate (11.6%), ethyl hexadecanoate (9.3%) and pentadecanoic acid (9.1%). The *S. remota* essential oil showed some cytotoxicity against KB cell lines with an IC₅₀ value of 29.0 μ g/mL, but was non-cytotoxic against Vero cells. The essential oil exhibited antibacterial activity

against *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. *S. aureus* and also showed antifungal activity against *C. albicans*, *A. flavas* and *T. mentagophytes*. The essential oil exhibited the highest antibacterial efficacy against *S. aureus* with the MIC value of 1.3 mg/mL, *E. coli* and *P. aeruginosa* with the MIC value of 2.5 mg/mL.

The isolation and purification of the active chloroform extract of the *S. glomerata* twigs, lupeol was isolated as the active constituent against KB and NCI-H187 with the IC₅₀ values of 20.5 and 24.4 µg/mL, but was non-cytotoxic to Vero cells. The major components of the leaf essential oil were hexadecanoic acid (39.6%), 9,12,15-octadecatrien-1-ol (*Z,Z,Z*) (14.5%), nonacosane (10.8%), (*E*)-phytol (8.0%) and neophytadiene (3.3%). The essential showed significantly cytotoxicity against NCI-H187 cell line with an IC₅₀ value of 8.6 µg/mL, but was non-cytotoxic against Vero cells. The essential oil exhibited antibacterial activity against *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. *S. aureus* and also showed antifungal activity against *C. albicans*, *A. flavas* and *T. mentagophytes*. The essential oil exhibited the highest antibacterial efficacy against all microorganism used with the MIC value of 1.3 mg/ mL for *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

Another plant *L. philippensis* a medicinal plant used for treatment of fever and skin diseases was studied. Cytotoxic activity guided fractionation of the active hexane leaves extract resulted in the isolation of the fatty acids which were converted to the fatty acid methyl ester derivatives (FAMEs). Methyl palmitate (23.2%), methyl linoleate (8.9%), methyl oleate (56.4%), and methyl stearate (11.7%) were identified as the major components. The major components of the essential oil were (*E*)-phytol (26.8%), *L*-linalool (19.0%), α -terpineol (9.3%), octen-3-ol (7.1%) and geraniol (6.9%). The *L. philippensis* essential oil possessed good cytotoxicity against KB cell line with an IC₅₀ value of 7.1 µg/mL and showed some activity against NCI-H187 cell line with an IC₅₀ value of 17.4 µg/mL, but was non-cytotoxic to Vero cells. The essential oil possessed the highest antibacterial efficacy against *P. aeruginosa* at the MIC value of 1.3 mg/mL followed by *S. aureus* at the MIC value of 2.5 mg/mL.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรไทย 5 ชนิด
ผู้เขียน	นายสรชัย คำแสน
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เหลี้ยวเรืองรัตน์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล นธการกิจกุล	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รองศาสตราจารย์ ดร. สายสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิวัฒน์ ชีรุฒิกุลรักษ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ศาสตราจารย์ แมรี เจ. การ์สัน	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ศาสตราจารย์ สตีเฟน จี. ไลน์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการแยก ศึกษาการหาโครงสร้างสารทุติยภูมิ และศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรีย มะเร็ง รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นได้แก่ ฤทธิ์ต้านวัณโรคและจุลชีพจากสมุนไพรไทย 5 ชนิดคือ ศรีตรัง หน้าตุ้มหู หน้าลูกข้าว รวงผึ้ง และหน้าน้ำดับไฟ พิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค 1D 2D นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ แมสสเปกโตรเมตรี และเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยรายงาน นำกิ่งของต้นศรีตรัง ส่วนเหนือดินและรากของหน้าตุ้มหู ส่วนเหนือดินและรากของหน้าลูกข้าว ใบและกิ่งของรวงผึ้ง และส่วนใบและรากของหน้าน้ำดับไฟมาทำแห้ง บด และทำการสกัดใช้ตัวทำละลาย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย โดยนำส่วนใบสดของต้นศรีตรัง ส่วนเหนือดินสดของหน้าตุ้มหู ส่วนเหนือดินสดของหน้าลูกข้าว ส่วนใบสดของรวงผึ้ง และใบสดของหน้าน้ำดับไฟมาสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) นำสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย มาทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียต่อเชื้อชนิดพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (*Plasmodium falciparum*) สายพันธุ์ K1 ที่คือต่อยาหลายชนิด ฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปาก มะเร็งทรวงอก และมะเร็งปอด ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cell) ฤทธิ์ต้านวัณโรคต่อเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* สายพันธุ์ H₃₇Ra และ ฤทธิ์

ด้านจุลชีพ ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ของสารสำคัญโดยใช้ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเป็นตัวนำ

จากผลการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มจากกิ่งของต้นศรีตรังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 23.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีแบบ reverse phase และ C₁₈-HPLC สามารถแยกสารสำคัญตัวใหม่ได้ หนึ่งชนิดคือ 7-hydroxy-3'-methoxy-4'-O-β-D-glucoside isoflavone พร้อมกับ (-)-liquiritigenin (-)-neoliquiritin isoliquiritin genistin, daidzein isoliquiritigenin และ formononetin เมื่อนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารตัวใหม่ 7-hydroxy-3'-methoxy-4'-O-β-D-glucoside isoflavone (-)-liquiritigenin isoliquiritigenin genistin และ daidzein เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารตัวใหม่ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในระดับดีต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก และมะเร็งปอด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.5 และ 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (-)-liquiritigenin และ isoliquiritigenin ออกฤทธิ์ในระดับปานกลางต่อเซลล์มะเร็งปอด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 30.1 และ 16.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ daidzein ออกฤทธิ์อย่างมีนัยสำคัญต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก มะเร็งทรวงอก และมะเร็งปอด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.7 28.2 และ 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และสาร genistin ออกฤทธิ์ในระดับดีต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และออกฤทธิ์ในระดับปานกลางต่อเซลล์มะเร็งปอด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 27.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ศึกษาความเป็นพิษของสารสำคัญที่แยกได้ พบว่าไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ น้ำมันหอมระเหยของศรีตรังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในระดับดีต่อเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งทรวงอก และมะเร็งช่องปาก โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.8 6.8 และ 5.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ทดสอบฤทธิ์การต้านวัณโรคของน้ำมันหอมระเหย พบว่าออกฤทธิ์ยับยั้งวัณโรคต่อเชื้อ *M. tuberculosis* สายพันธุ์ H₃₇Ra ที่ค่า MIC เท่ากับ 25.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยมาทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพ พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (*Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ ATCC25923 *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ ATCC27553) และแบคทีเรียชนิดแกรมลบ (*Escherichia coli* สายพันธุ์ ATCC25922) และมีฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Aspergillus flavus* และ *Trichophyton mentagophytes* แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อราชนิด *Candida albicans* ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย (MIC) ทั้งสามชนิด พบว่า มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 5.0

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยพบว่า สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากศรีตรัง ได้แก่ hexadecanoic acid (28.1%) linoleic acid (15.9%) (*E*)-phytol (10.7%) nonacosane (3.9%) และ octadecanoic acid (3.7%)

ทำการแยกบริสุทธิ์สารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มจากรากของหญ้าคู้มหู ได้สาร stigmasterol และ alkyl *trans*-furate เมื่อทำการแยกบริสุทธิ์สารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจากใบของหญ้าคู้มหู ได้สารและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายยาว (hexacosane heptacosane octacosane nonacosane และ tricosane) สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากหญ้าคู้มหู ได้แก่ α -cadinol (19.3%) caryophyllene oxide (12.2%) α -muurolol (11.6%) α -humulene (9.9%) และ α -atlantone (6.1%) น้ำมันหอมระเหยของหญ้าคู้มหู สามารถต้านมาลาเรียในระดับดีต่อเชื้อชนิดพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (*P. falciparum*) สายพันธุ์ K1 ที่คือต่อยาหลายชนิดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญต่อเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งทรวงอก และมะเร็งช่องปาก โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.7 17.3 และ 15.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยของหญ้าคู้มหูยังสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งวัณโรคต่อเชื้อ *M. tuberculosis* สายพันธุ์ H₃₇Ra ที่ค่า MIC เท่ากับ 25.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสามชนิดคือ *S. aureus* *P. aeruginosa* และ *E. coli* และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อราทั้งสามชนิดคือ *A. flavas* *T. mentagophytes* และ *C. albicans* ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *P. aeruginosa* มีความเข้มข้นเท่ากับ 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อทำการแยกสารสำคัญของสารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม จากรากของหญ้าลูกข้าว ได้สาร stigmasterol และสารที่มีโครงสร้างบางส่วนเป็น *trans* และ *cis-p*-coumaroyl สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากหญ้าลูกข้าว ได้แก่ (*E*)-phytol (25.5%) 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (24.3%) methyl hexadecanoate (11.6%) ethyl hexadecanoate (9.3%) และ pentadecanoic acid (9.1%) น้ำมันหอมระเหยจากหญ้าลูกข้าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 29.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสามชนิดคือ *S. aureus* *P. aeruginosa* และ *E. coli* และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อราทั้งสามชนิดคือ *A. flavas* *T. mentagophytes* และ *C. albicans* ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีที่สุดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.3

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* มี MIC เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อทำการแยกบริสุทธิ์สารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มจากกิ่งรวงผึ้ง พบสารสำคัญคือ lupeol ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในระดับปานกลางต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก และมะเร็งปอด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.5 และ 24.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากรวงผึ้งได้แก่ hexadecanoic acid (39.6%) 9,12,15-octadecatrien-1-ol (Z,Z,Z) (14.5%) nonacosane (10.8%) (*E*)-phytol (8.0%) และ neophytadiene (3.3%) น้ำมันหอมระเหยจากหญ้ารวงผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ ต่อเซลล์มะเร็งปอด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสามชนิดคือ *S. aureus* *P. aeruginosa* และ *E. coli* และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อราทั้งสามชนิดคือ *A. flavus* *T. mentagophytes* และ *C. albicans* โดยมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *S. aureus* *P. aeruginosa* และ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สมุนไพรอีกต้นที่ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้คือ หญ้าน้ำดับไฟ สมุนไพรที่ใช้ลดไข้และโรคผิวหนัง เมื่อทำการแยกสารควบคู่กับฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง จากสารสกัดเฮกเซนจากใบ พบกรดไขมันหลายชนิด ทำการศึกษารายละเอียดของกรดไขมันเหล่านี้โดยทำการเปลี่ยนไปเป็นอนุพันธ์ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ พบว่า methyl palmitate (23.2%) methyl linoleate (8.9%) methyl oleate (56.4%) และ methyl stearate (11.7%) เป็นองค์ประกอบหลัก สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากหญ้าน้ำดับไฟคือ (*E*)-phytol (26.8%) *L*-linalool (19.0%) α -terpineol (9.3%) octen-3-ol (7.1%) และ geraniol (6.9%) น้ำมันหอมระเหยจากหญ้าน้ำดับไฟ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในระดับปานกลางต่อเซลล์มะเร็งช่องปอด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *P. aeruginosa* ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร