

สารกลุ่มเบนโซฟีโนนและกลุ่มแซนโทนที่แยกได้จากผลชะมวงสุกเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่มีประสิทธิภาพ

Benzophenones and Xanthenes Isolated from *Garcinia cowa* Roxb. ex.DC. Ripe Fruits are Potent α -Glucosidase Inhibitors

ธีรยุทธ์ ศรียาเทพ¹ ทวีสิน นาวารัตน์² และประไพรัตน์ สีพลไกร³

Teerayut Sriyatep¹ Tawesin Navarat² and Prapairot Seephonkai³

^{1,2}สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประเทศไทย

³ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประเทศไทย

^{1,2}Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University, Thailand

*Corresponding author; E-mail: Teerayut.sr@skru.ac.th

Received: 21 June 2021 /Revised: 05 August 2021 /Accepted: 30 September 2021

บทคัดย่อ

การศึกษาพฤกษเคมีจากผลสุกของชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb. ex DC.) สามารถแยกและระบุสารกลุ่มเบนโซฟีโนน 2 ตัว คือ garcicowin B (1) และ oblongifolin C (2) และสารกลุ่มแซนโทน 3 ตัว คือ brasixanthone B (3), 9-hydroxycalabaxanthone (4) และ 3-O-methylmangostenone D (5) โครงสร้างของสารที่เคยมีการรายงานแล้วที่แยกได้ทั้งห้าตัวนี้ถูกหาได้โดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี (UV, IR และ ¹H-NMR) และเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยมีการรายงานมาแล้ว สารทั้งหมดที่แยกได้ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ผลพบว่าสาร 4 และ 5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 63.41 ± 1.26 และ 87.16 ± 0.35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลจากการศึกษานำไปสู่การใช้ประโยชน์สำหรับงานวิจัยด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่อไป

คำสำคัญ: ชะมวง เบนโซฟีโนน แซนโทน แอลฟา-กลูโคซิเดส

Abstract

Phytochemical investigation of Cha-muang (*Garcinia cowa* Roxb. ex DC.) ripe fruits led to the isolation and identification of two benzophenones; garcicowin B (1) and oblongifolin C (2), and three xanthenes; brasixanthone B (3), 9-hydroxycalabaxanthone (4) and 3-O-methylmangostenone D (5). The

structures of these five known isolated compounds were elucidated based on spectroscopic methods (UV, IR, and $^1\text{H-NMR}$) as well as comparison with previous reported data in the literatures. All these isolates were evaluated for their inhibitory effects on α -glucosidase. Results indicated that compounds 4 and 5 showed potent α -glucosidase inhibitory activities with IC_{50} values of 63.41 ± 1.26 and 87.16 ± 0.35 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The result from this study led to further utilization of research on natural products.

Keywords: *Garcinia cowa*, Benzophenones, Xanthones, α -Glucosidase

บทนำ

ในปัจจุบันทั่วโลกให้ความสำคัญกับการจัดการโรคไม่ติดต่อ หรือ non-communicable disease-NCDs โดยเฉพาะ 4 กลุ่มโรคหลัก คือ 1) โรคเบาหวาน 2) โรคหัวใจและหลอดเลือด 3) โรคมะเร็ง และ 4) โรคทางเดินหายใจเรื้อรัง เนื่องจากเป็นปัญหาสุขภาพอันดับหนึ่งทั้งในมิติของการเสียชีวิตและภาระโรคโดยรวม มีอัตราการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลกมากถึงปีละ 38 ล้านคน หรือคิดเป็นร้อยละ 68 ของการเสียชีวิตทั้งหมด สำหรับประเทศไทยมีข้อมูลชี้ชัดแล้วว่าตลอดช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมา กลุ่มโรคไม่ติดต่อนี้เป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตร้อยละ 75 ของการเสียชีวิตทั้งหมด หรือประมาณ 320,000 คนต่อปี โดยในทุก 1 ชั่วโมงจะมีผู้เสียชีวิต 37 ราย ทั้งนี้พบผู้เสียชีวิตจากโรคเบาหวานเป็นลำดับที่ 3 ของผู้เสียชีวิตทั้งหมด¹

โรคเบาหวานเป็นหนึ่งในโรคไม่ติดต่อเรื้อรังสำคัญที่องค์การสหประชาชาติประกาศให้เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่ทุกประเทศทั่วโลกต้องร่วมมือดำเนินการควบคุมอย่างเข้มงวด สำหรับประเทศไทยคาดการณ์ว่าความชุกของโรคเบาหวานจะเพิ่มสูงขึ้นถึง 5.3 ล้านคนภายในปี พ.ศ. 2583¹

โรคเบาหวานเป็นภาวะความผิดปกติของระบบการเผาผลาญอาหารในร่างกาย ทำให้ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เนื่องจากตับอ่อนมีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอ ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่ออวัยวะต่าง ๆ ตามมาได้ โรคเบาหวานแบ่งได้เป็น 4 ประเภทด้วยกันดังนี้ 1) เบาหวานประเภทที่ 1 เกิดจากตับอ่อนไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ พบร้อยละ 3.4 2) เบาหวานประเภทที่ 2 เกิดจากตับอ่อนผลิตอินซูลินไม่เพียงพอต่อการใช้งาน พบร้อยละ 95-97 3) เบาหวานประเภทที่ 3 เกิดจากพันธุกรรมหรือโรคบางอย่าง และ 4) เบาหวานประเภทที่ 4 เกิดขณะตั้งครรภ์เมื่อคลอดแล้วก็จะหายไป

เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์² เพื่อให้ร่างกายสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและนำไปเลี้ยงเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายต่อไป ดังนั้นถ้าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ก็จะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยชะลอหรือยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด ส่งผลให้



ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงทำให้ผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 เกิดสภาวะคั่งของน้ำตาลในเลือดลดลงเช่นกัน

ชะมวง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Garcinia cowa* Roxb. ex DC. เป็น พรรณ ไม้ อยู่ใน วงศ์ Clusiaceae ที่มีนักวิจัยสนใจศึกษากันมาก เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีหลากหลายชนิดจากส่วนของลำต้น ใบ ราก และกิ่ง ชะมวงมีสรรพคุณมากมาย เช่น ใบช่วยลดอาการไข้ แก้ไอ เปลือกใช้รักษาโรคผิวหนัง และส่วนที่เป็นผลใช้รับประทานเป็นผลไม้ นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณใช้เป็นยาระบาย ช่วยการย่อยอาหาร สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน ช่วยบำรุงผิวพรรณ ป้องกันผิวเหี่ยวเหี่ยว การเกิดฝ้าและกระ ช่วยบำรุงสายตาทำให้มองเห็นในที่มืดได้ดีรวมถึงช่วยป้องกันโรคตาชนิดต่าง ๆ ดังนั้น ชะมวงจึงเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่นิยมใช้เป็นยารักษาโรคและนิยมนำมาบริโภค มีรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากชะมวง มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิด ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้าน จุลินทรีย์ ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ยับยั้งเอนไซม์ Pancreatic lipase ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส³ สารที่แยกได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของแซนโทน (xanthones) เบนโซฟีโนน (benzophenones) และ ฟลาโวนอน (flavanones)

จากสรรพคุณของชะมวงและโครงสร้างที่หลากหลายที่กล่าวมาข้างต้นนั้น เป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลสุกของชะมวงและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-

กลูโคซิเดส ทั้งนี้ผลที่ได้รับจากการศึกษาจะเป็นพื้นฐานด้านองค์ประกอบทางเคมีและนำไปสู่การใช้ประโยชน์สำหรับงานวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี

- (1) เครื่องวัดการดูดกลืนแสงสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible (UV-Vis) spectrophotometer) ยี่ห้อ Perkin-Elmer รุ่น Varian Cary 5000 UV-Vis-NIR spectrophotometer
- (2) เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Infrared (IR) spectrophotometer) ยี่ห้อ PerkinElmer Frontier Optica FT-IR spectrophotometer
- (3) เครื่องฉายแสงยูวี (UV-lamp) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-1601
- (4) เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometer) ยี่ห้อ/รุ่น AVANCE NEO 500 MHz Bruker spectrometers
- (5) คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบเร็ว (Quick Column Chromatography; QCC) และ คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา
- (6) ซิลิกาเจล 60 H (5-40 μm , SiliCycle® Inc.) และซิลิกาเจล 100 H (63-200 μm , SiliCycle® Inc.)
- (7) แผ่นโครมาโทกราฟีผิบบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) สำเร็จรูปชนิด Silica gel 60 F₂₅₄ ยี่ห้อ Merck
- (8) เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotatory evaporator) ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-220 PRO

(9) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น PG 2002-3

(10) ตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับตรวจวัดด้วยเครื่อง NMR ได้แก่ $CDCl_3$ (δ_H 7.24 และ δ_C 77.0 ppm) ที่ผสมสารละลายมาตรฐาน (TMS)

(11) สารเคมีในการทดลองนี้จาก sigma Aldrich และ Merck

ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างผลสุกของชะมวง สายพันธุ์ *Garcinia cowa* Roxb. ex DC บริเวณหลังอาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา ในวันที่ 20 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2562



Figure 1. *Garcinia cowa* Roxb. ex DC.

การสกัด

นำผลสุกของชะมวงสด 1 กิโลกรัม (Figure 1.) หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ในโหลแก้ว ทำการสกัดโดยแช่ด้วยเมทานอล 3 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำส่วนที่กรองรวมกันมาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศจนได้สารสกัดหยาบ (4.59 กรัม) ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวสีน้ำตาลดำ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาแยกต่อยด้วยเทคนิคการสกัดแยกส่วน (partitioned extraction) ในน้ำ โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ จากนั้นรวมส่วนที่แสดงใน TLC

โครมาโทแกรมที่เหมือนกันคือ ส่วนสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตตเข้าด้วยกัน (2.40 กรัม) แล้วนำไปทำการแยกบริสุทธิ์

การแยกบริสุทธิ์

นำส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตต มาแยกต่อโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเร็ว (ซิลิกาเจล: 60 H 5-40 ไมครอน) เริ่มต้นชะด้วย เฮกเซนแล้วเพิ่มขั้วโดยใช้ไดคลอโรมีเทนจนถึง 20% เมทานอล จากนั้นรวมส่วนที่แสดง TLC โครมาโทแกรมที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน จะได้ส่วนแยกย่อยทั้งหมด 10 ส่วนแยกย่อย (GC1-GC10) รวมส่วนย่อย GC3 และ GC4 (500 มิลลิกรัม) เข้าด้วยกัน แล้วนำมาแยกต่อยด้วยคอลัมน์แบบธรรมดา โดยชะด้วยระบบ 20% อะซิโตนในเฮกเซน จนได้สารบริสุทธิ์สองตัว คือ สาร 1 (2.3 มิลลิกรัม) และ 2 (1.5 มิลลิกรัม) นำส่วนแยกย่อย GC5 (320 มิลลิกรัม) มาแยกต่อยด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (ซิลิกาเจล: 100 H 63-200 μ m) ชะด้วยระบบ 30% อะซิโตนต่อเฮกเซน และแยกต่อยด้วยระบบ 20% เอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน จนได้สารบริสุทธิ์หนึ่งตัว คือ สาร 3 (1.2 มิลลิกรัม) นำส่วนแยกย่อย GC7 รวมกับ GC8 (430 มิลลิกรัม) แล้วทำการแยกโดยใช้ คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (ซิลิกาเจล: 100 H 63-200 μ m) โดยทำการชะด้วยระบบ 40% อะซิโตนต่อเฮกเซน จนได้สารบริสุทธิ์สองตัว คือ สาร 4 (1.4 มิลลิกรัม) และ 5 (1.8 มิลลิกรัม)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

เตรียมละลายสารตัวอย่าง (สาร 1-5) หรือ สารมาตรฐาน (อะคาร์โบส; acarbose) ด้วย 5% ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ในบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (pH 6.8 - 7.0) ให้มีความเข้มข้น 100-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากนั้น

ทำการทดสอบโดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 60 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลายเฮกซ์เมทิลแอลกอฮอล์โคซิเดส (0.35 หน่วย/มิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในไมโครเวลเพลท ทำการบ่มสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 4-ไนโตรเฟนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (1.5 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท แล้วทำการบ่มต่ออีก 20 นาที จากนั้นหยุดการดำเนินของปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย 1 โมลาร์ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท นำค่าการดูดกลืนจากการทดลองที่ได้มาทำการคำนวณร้อยละการยับยั้ง และหาค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งได้ 50% (IC_{50}) โดยในทุกการทดสอบจะทำซ้ำสามครั้ง และผลที่ได้จะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

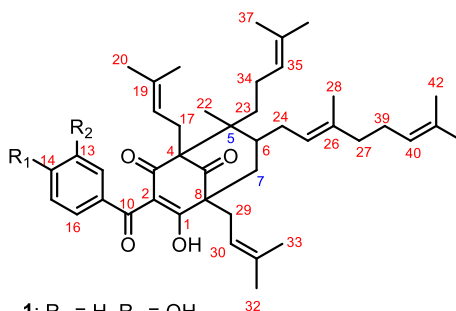
ผลการวิจัย

เมื่อนำสารสกัดจากผลสุกของชะมวงมาทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีพบว่าสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 5 ตัว คือ สาร 1-5 ดังแสดงใน (Figure 2.) โครงสร้างทางเคมีของสารทั้ง 5 ตัวนี้ หาได้จากข้อมูลทางสเปกโทสโกปี (UV IR และ 1H -NMR)

การหาโครงสร้างทางเคมี

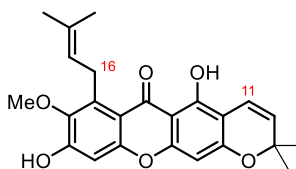
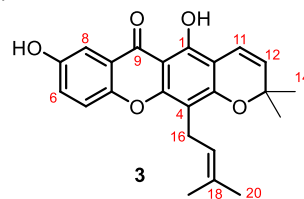
สาร 1 ($C_{43}H_{58}O_5$): มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล จากข้อมูล UV-Vis (MeOH) λ_{max} (nm) พบว่าปรากฏค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 225 238 และ 294 ปรากฏสัญญาณการสั่นของ IR (neat) ที่ 3440 2928 1725 และ 1650 cm^{-1} และจากข้อมูล

โปรตอน NMR พบสัญญาณของโปรตอนดังแสดงใน Table 1.

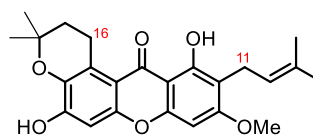


1: $R_1 = H, R_2 = OH$

2: $R_1, R_2 = OH$



4



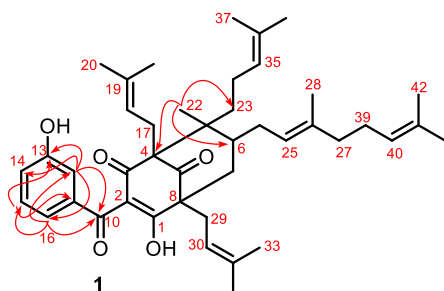
5

Figure 2. Structures of compounds 1-5

จากข้อมูล 1H -NMR สเปกตรัมของสาร 1 พบสัญญาณของ olefinic proton 5 ชุดสัญญาณที่ค่า chemical shift ของโปรตอน (δ_H) 4.86, 4.93, 5.12, 5.06 และ 4.98 ที่ตำแหน่ง 18, 25, 30, 35 และ 40 ตามลำดับ และพบ 10 สัญญาณของ methyl proton ที่

ค่า δ_H 1.68, 1.62, 0.87, 1.54, 1.67, 1.78, 1.55, 1.64, 1.55 และ 1.66

พบอนุพันธ์ของ acylphloroglucinol กับ วงของ 2,2-dimethylbicyclo[3,3,1]nonane พบสัญญาณ 1,3 disubstituted benzene โดยปรากฏสัญญาณที่ค่า δ_H 7.03 (m, H-12) 7.01 (m, H-14) 7.23 (t, $J = 7.9$, H-15) และ 6.99 (m, H-16) การเชื่อมต่อของโครงสร้าง ยืนยัน โดยใช้ข้อมูลจากเทคนิค Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC) โดยพบว่า H-15 เห็นความสัมพันธ์กับ C-12 และ C-13 และ H-12 เห็นความสัมพันธ์กับ C-14 และ C-16 นอกจากนี้ H-12 และ H-16 ยังเห็นความสัมพันธ์กับ carbonyl carbon ที่ C-10 ประกอบกับข้อมูล $^{13}\text{C-NMR}$ จึงยืนยันได้ว่า carbonyl carbon อยู่ตำแหน่งที่ 10 ดังแสดง โดยใช้ข้อมูลจากเทคนิค HMBC (Figure 3.)



HMBC correlations \rightarrow

Figure 3. Selected HMBC correlations (H \rightarrow C) of compound 1

จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีดังกล่าวและข้อมูลของสารที่เคยมีรายงานการแยกมาแล้วพบว่าสาร 1 คือ garcicowin B ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานการแยกแล้วจากส่วนกิ่งของชะมวง⁴

สาร 2 ($\text{C}_{43}\text{H}_{58}\text{O}_6$): มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล จากข้อมูล UV-Vis (MeOH) λ_{max} (nm) พบว่าปรากฏค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 228 280 และ 310 nm ปรากฏสัญญาณการการสั่นของ IR (neat) ที่ 3420 2928 1728 และ 1642 cm^{-1} และจากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณของโปรตอนดังแสดงใน Table 1.

Table 1. $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopic Data (CDCl_3 , 500 MHz) for compounds 1 and 2

position	δ_H (multi., J in Hz)		position	δ_H (multi., J in Hz)	
	1	2		1	2
6	1.78, m	1.76, <i>m</i>	25	4.93, m	4.95, <i>m</i>
7a	2.03, m	2.07, <i>m</i>	27	1.92, m	1.98, <i>m</i>
7b	1.31, m	1.40, <i>m</i>	28	1.54, s	1.54, s
12	7.03, m	7.10, <i>m</i>	29a	2.54, m	2.51, <i>m</i>
14	7.01, m	-	29b	2.41, m	2.46, <i>m</i>
15	7.23, t, 7.9	6.68, <i>d</i> , 8.4	30	5.12, m	5.12, <i>m</i>
16	6.99, m	7.02, <i>m</i>	32	1.67, s	1.71, s
17a	2.78, m	2.76, <i>m</i>	33	1.78, s	1.69, s
17b	2.77, m	2.60, <i>m</i>	34	1.92, m	2.03, <i>m</i>
18	4.86, m	4.79, <i>m</i>	35	5.06, m	5.07, <i>m</i>
20	1.68, s	1.61, s	37	1.55, s	1.64, s
21	1.62, s	1.69, s	38	1.64, s	1.54, s
22	0.87, s	0.85, s	39	2.03, m	1.98, <i>m</i>
23	1.66, m	1.71, <i>m</i>	40	4.98, m	5.01, <i>m</i>
24a	2.06, m	2.11, <i>m</i>	42	1.55, s	1.79, s
24b	1.71, m	1.72, <i>m</i>	43	1.66, s	1.69, s

จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม ของสาร 2 เปรียบเทียบกับสาร 1 พบว่ามีสัญญาณที่เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่ สาร 2 พบสัญญาณของ 1,3,4 trisubstituted benzene โดยมีค่า δ_H 7.10 (m, H-12) 6.68 (d, $J = 8.4$, H-15) และ 7.02 (m, H-16) ยืนยันตำแหน่งของโปรตอนและคาร์บอนในโครงสร้างโดยข้อมูลจากเทคนิค HMBC โดยเห็นความสัมพันธ์ระหว่าง H-15 กับ C-11, C-13 และ C-14 (Figure 4.)

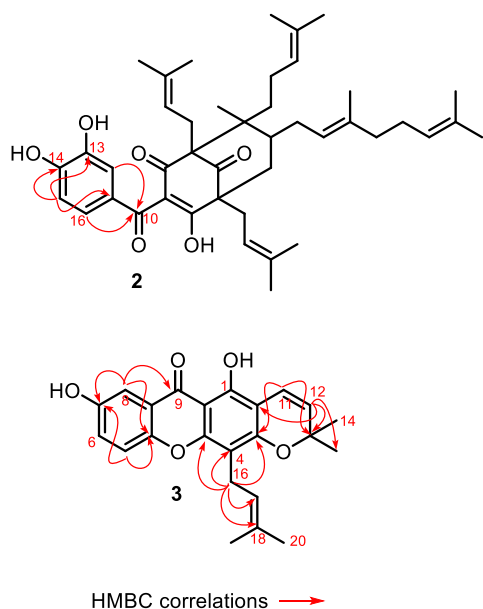


Figure 4. Selected HMBC correlations (H→C) of compounds 2-3

จากข้อมูลทางสเปกโทสโกปีดังกล่าวและข้อมูลของสารที่เคยมีรายงานการแยกมาแล้วพบว่าสาร 2 คือ oblongifolin C ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานการแยกแล้วจากส่วนเปลือกของ *Garcinia oblongifolia* จากประเทศเวียดนาม⁵

สาร 3 (C₂₃H₂₂O₅): มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง จากข้อมูล UV-Vis (MeOH) λ_{\max} (nm) พบว่าปรากฏค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 234 289 320 และ 360 nm ปรากฏสัญญาณการสั่นของ IR (neat) ที่ 3424 1710 และ 1625 cm⁻¹ และจากข้อมูล ¹H-NMR พบสัญญาณของโปรตอนดังแสดงใน Table 2.

จากข้อมูล ¹H NMR สเปกตรัมของ สาร 3 แสดงสัญญาณของ chelated hydroxyl proton ที่ค่า δ_{H} 13.10 (s, 1-OH) สัญญาณของ aromatic proton 3

ตำแหน่ง ที่ค่า δ_{H} 7.40 (d, $J = 8.8$; H-5), 7.27 (m; H-6) และ 7.60 (d, $J = 3.1$; H-8) โดยมี ตามลำดับ พบสัญญาณ ของ cromine protons 2 ชุด ที่ค่า δ_{H} 6.78 (d, $J = 10.0$; H-11) และ 5.63 (d, $J = 10.0$; H-12)

การยืนยันตำแหน่งของโปรตอนและคาร์บอนต่างๆในโครงสร้างโดยใช้ข้อมูลจากเทคนิค HMBC โดยเห็นความสัมพันธ์ระหว่าง H-12 กับ C-2, C-13 และ C-15 และ H-11 กับ C-3 และ C-13 จึงยืนยันได้ว่าวง cromine เกาะอยู่กับตำแหน่ง C-2 และ C-3 ของวงแซนโทน นอกจากนี้ยังพบชุดสัญญาณของ prenyl group ที่ประกอบด้วยสัญญาณของ olefinic proton ที่ δ_{H} 5.25 (m, H-17) สัญญาณของ methylene proton ที่ค่า δ_{H} 3.49 (d, $J = 7.3$, H-16) และพบสัญญาณของ methyl proton ที่ค่า δ_{H} 1.90 (s, H-19) และ 1.71 (s, H-20)

จากข้อมูล HMBC ยืนยันได้ว่า หมู่ prenyl อยู่ที่ตำแหน่ง C-4 โดยเห็นความสัมพันธ์ระหว่าง H-16 ไปยังตำแหน่ง C-3, C-4, C-4a, C-17 และ C-18 ดังแสดงใน (Figure 4.)

จากข้อมูลทางสเปกโทสโกปีดังกล่าวและข้อมูลของสารที่เคยมีรายงานการแยกมาแล้วพบว่าสาร 3 คือ brasixanthone B ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานการแยกแล้วจาก ส่วนของเปลือกต้นของ *Calophyllum brasilienses*⁶

สาร 4: มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูล UV-Vis (MeOH) λ_{\max} (nm) พบว่าปรากฏค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 229 290 350 และ 381 nm ปรากฏสัญญาณการสั่นของ IR (neat) ที่ 3443 2925 2862 1644 และ 1603 cm⁻¹ และจากข้อมูล ¹H-NMR พบสัญญาณของโปรตอนดังแสดงใน (Table 2.)



จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสาร 4 แสดงสัญญาณของ chelated hydroxyl proton ที่ค่า δ_{H} 13.72 (s, 1-OH) สัญญาณของ aromatic proton ที่ค่า δ_{H} 6.24 (s, H-4) และ 6.84 (s, H-5) พบสัญญาณของ cromine protons ที่ค่า δ_{H} 6.73 (d, $J = 10$, H-11) และ 5.57 (d, $J = 10$, H-12) พบสัญญาณของ phenyl groups 1 ชุดสัญญาณ ดังแสดงใน (Table 2.)

จากข้อมูลทางสเปกโทสโกปีดังกล่าวและข้อมูลของสารที่เคยมีรายงานการแยกมาแล้วพบว่าสาร 4 คือ 9-hydroxycalabaxanthone ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานการแยกแล้วจากส่วนต้นของมังคุด (*Garcinia mangostana*)⁷

สาร 5: มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูล UV-Vis (MeOH) λ_{max} (nm) พบว่าปรากฏค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 238 252 315 และ 360 nm ปรากฏสัญญาณการสั่นของ IR (neat) ที่ 3444 2925 1641 และ 1602 cm^{-1} และจากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณของโปรตอนดังแสดงใน (Table 2.) จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสาร 5 แสดงสัญญาณของ chelated hydroxyl proton ที่ค่า δ_{H} 13.45 (s, 1-OH) สัญญาณของ aromatic proton ที่ค่า δ_{H} 6.35 (s, H-4) และ 6.81 (s, H-5) สัญญาณของ methoxyl proton ที่ค่า δ_{H} 3.90 (s, 3-OMe) สัญญาณของ prenyl groups 1 ชุดสัญญาณโดยแสดงสัญญาณของ olefinic proton ที่ค่า δ_{H} 5.23 (d, $J = 6.8$, H-12) สัญญาณของ methylene proton ที่ค่า δ_{H} 3.35 (d, $J = 7.2$, H-11) พบสัญญาณของ methyl proton ที่ค่า δ_{H} 1.80 (s, H-14) และ 1.68 (s, H-15) และสัญญาณของ 3-oxygenated-3-methyl-butyl group ที่ค่า δ_{H} 3.51 (t, $J = 6.4$, H-16) 1.86 (t, $J = 6.4$, H-17) และ 1.39 (s, H-19 และ H-20)

Table 2. $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopic Data (CDCl_3 , 500 MHz) for compounds 3-5

Position	δ_{H} (multi., J in Hz)		
	3	4	5
1-OH	13.10, s	13.72, s	13.45, s
3-OMe	-	-	3.90, s
4	-	6.24, s	6.35, s
5	7.40, d, 8.8	6.84, s	6.81, s
6	7.27, m	-	-
6-OH	-	6.35, br s	6.40, br s
7-OH	5.51, br s	-	-
7-OMe	-	3.83, s	-
8	7.60, d, 3.1	-	-
11	6.78, d, 10.0	6.73, d, 10.0	3.35, d, 7.2
12	5.63, d, 10.0	5.57, d, 10.0	5.23, d, 6.8
14	1.51, s	1.51, s	1.80, s
15	1.51, s	1.51, s	1.68, s
16	3.49, d, 7.3	4.10, d, 6.4	3.51, t, 6.4
17	5.25, m	5.25, d, 6.4	1.86, t, 6.4
19	1.90, s	1.68, s	1.39, s
20	1.71, s	1.82, s	1.39, s

จากข้อมูลทางสเปกโทสโกปีดังกล่าวและข้อมูลของสารที่เคยมีรายงานการแยกมาแล้วพบว่าสาร 5 คือ 3-O-ethylmangostenone D ซึ่งเป็นสารที่เคยมีรายงานการแยกแล้วจากส่วนกิ่งของตัวเกดเลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense*)⁸ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการรายงานผลข้อมูลทางสเปกโทสโกปี 1D และ 2D NMR ของสาร 1-4 ครั้งแรกที่ใช้ตัวทำละลาย CDCl_3 โดยข้อมูลที่เคยมีการรายงานก่อนหน้านี้ใช้ตัวทำละลาย MeOD⁴⁻⁷

ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

เมื่อนำสารทั้งหมดที่แยกไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าสาร 4 และ 5 แสดงผลการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 63.41 ± 1.26 และ 87.16 ± 0.35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงใน (Table 3.) จากฤทธิ์

ดังกล่าวเป็นที่น่าสนใจว่าฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสาร 4 อยู่ในระดับใกล้เคียงกับสารมาตรฐานแอสคาร์โบสที่ใช้ในการทดลอง

Table 3. α - Glucosidase inhibitory activities of compounds 1-5

Compound	% Inhibition	IC ₅₀ (ug/ml)
1	34.21 ± 1.13	inactive
2	19.05 ± 0.33	inactive
3	25.03 ± 1.25	inactive
4	94.69 ± 0.07	63.41 ± 1.26
5	57.07 ± 0.29	87.16 ± 0.35
(+) acarbose		65.41 ± 0.12

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้เป็นการรายงานฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารทั้ง 5 ตัว และพบว่าสารที่ 1-3 ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดส ในขณะที่สารที่ 4 และ 5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวที่ค่า 63.41 ± 1.26 และ 87.16 ± 0.35 ตามลำดับ โดยสาร 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสได้ในระดับเดียวกับสารมาตรฐานอะคาโบส ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้พบว่าสารกลุ่มเบนโซฟีโนนที่แยกได้จากชะมวงส่วนใหญ่ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการแอลฟา-กลูโคซิเดส และนอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่มแซนโทนบางส่วนแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสที่ดี⁹ ผู้วิจัยมีทรรศนะว่าผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปสู่การใช้ประโยชน์สำหรับงานวิจัยด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่อไปได้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากผลสุกของชะมวงพบว่าสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 5 ตัวคือ garcicowin B (1), oblongifolin C (2), brasixanthone B (3), 9-hydroxycalaba xanthone (4) และ 3-O-methylmangostenone D (5) และเมื่อนำสารทั้งหมดที่แยกได้นี้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสพบว่าไม่มีเพียงสาร 4 และ 5 เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปสู่การใช้ประโยชน์สำหรับงานวิจัยด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สุรัตน์ ละภูเขียว จากห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่ให้การอนุเคราะห์ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

เอกสารอ้างอิง

1. อรรถเกียรติ กาญจนพิบูลย์วงศ์, ภาณุวัฒน์ คำวังสง่า, สุธิดา แก้วทา. รายงาน สถานการณ์โรค NCDs เบาหวาน ความดันโลหิตสูงและปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง พ.ศ.2562. กรุงเทพมหานคร: กองโรคไม่ติดต่อกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข 2563.
2. Johnston PS, Coniff RF, Hoogwerf BJ, Santiago JV, Pi-Sunyer FXA. Effects of the carbohydrase inhibitor miglitol in sulfonylurea-treated NIDDM Patients. *Diabetes Care* 1994;17:20-9.
3. Sriyatep T, Siridechakorn I, Maneerat W, Pansanit A, Ritthiwigrom T, Ersen RJ, Laphookhieo S. Bioactive prenylated xanthenes



- from the young fruits and flowers of *Garcinia cowa*. *J Nat Prod* 2015;78:265-71.
4. Xu G, Kan WLT, Zhou Y, Song J-Z, Han Q-B, Qiao C-F, Cho C-H, Rudd JA, Lin G, Xu H-X. Cytotoxic acylphloroglucinol derivatives from the twigs of *Garcinia cowa*. *J Natl Prod* 2010; 73:104-8.
5. Hamed W, Brajeul S, Mahuteau-Betzer F, Thoison O, Mons S, Delpech B, Nguyen VH, Sevent T, Marazano C. Oblongifolins A-D, polyprenylated benzoyl phloroglucinol derivatives from *Garcinia Oblongifolia*. *J Nat Prod* 2006;69:774-7.
6. Ito C, Itoigawa M, Mishina Y, Filho VC, Mukainaka T, Tokuda H, Nishino H, Furukawa H. Chemical Constituents of *Calophyllum brasiliensis*: Structure elucidation of seven new xanthenes and their cancer chemopreventive activity. *J Nat Prod* 2002;65:267-72.
7. Ee GCL, Daud S, Taufiq-Yap YH, Ismail NH, Rahmani M. Xanthenes from *Garcinia mangostana* (Guttiferae). *Nat Prod Res* 2006; 12:1067-73.
8. Nguyen HD, Trinh BTD, Nguyen NK, Dang S V, Pham HD, Nguyen L-HD. Xanthenes from the twigs of *Cratoxylum cochinchinense*. *Phytochem Lett* 2011;4:48-51.
9. Raksat A, Phukhatmuen P, Yang J, Maneerat W, Charoensup R, Andersen RJ, Wang YA, Pyne SG, Laphookhieo S. Phloroglucinol Benzophenones and Xanthenes from the Leaves of *Garcinia cowa* and Their Nitric Oxide Production and α -Glucosidase Inhibitory Activities. *J Nat Prod* 2020;83:164-8.