

ไตรเทอร์พีนและแซนโทนจากกิ่งอ่อนของต้นตีนข้าว

Triterpenes and xanthenes from *Cratoxylum formosum* young twigs

อัจฉราวดี แผนสนิท^{1*} สุรศักดิ์ ปรัชญา² สุदारัตน์ แสนสุข¹ นฤมล เสือแก้ว¹ และ สมฤดี จันทร์ส่องแสง¹

Acharavadee Pansanit^{1*}, Surasak Prachya², Sudarat Saensuk¹, Naruemon Suekaew¹ and Somruedee Jansongsaeng¹

¹ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

²สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

¹Natural Products Research Laboratory, School of Science, Mae Fah Luang University

²Chulabhorn Research Institute

บทคัดย่อ

กิ่งอ่อนตีนข้าวได้นำมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพรวมถึงศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ส่วนสกัดอะซิโตนของตีนข้าวถูกแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีอย่างรวดเร็ว ในการแยกครั้งนี้ได้ 18 ส่วนสกัดหยาบ ทุกส่วนสกัดหยาบได้ถูกนำมาศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดโรคเบาหวาน พบว่ามี 7 ส่วนสกัดหยาบที่มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ที่ 30.4-78.3% เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ ยังสามารถแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดหยาบได้ 6 ชนิด เป็นสารในกลุ่มแซนโทน 1 ชนิดคือ 1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone และเป็นสารในกลุ่มเทอร์พีน 5 ชนิดคือ friedelin, friedelinol, β -amyrin, α -amyrin และ lupeol อีกด้วย

คำสำคัญ : โรคเบาหวาน เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส เทอร์พีน แซนโทน ต้นตีนข้าว

Abstract

Young twigs of *Cratoxylum formosum* were investigated for biological activity as well as chemical constituents. The acetone extract of *C. formosum* was separated by quick column chromatography to give 18 fractions. All fractions were evaluated for their α -glucosidase inhibitory activity which plays an important role in Diabetes mellitus. The results showed that seven of them showed α -glucosidase inhibitory activity with the percent inhibition ranging from 30.4-78.3% at the concentration of 100 mg/mL. In addition, one known xanthone, 1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone and five known terpenes which are friedelin, friedelinol, β -amyrin, α -amyrin, and lupeol were also isolated. Their structures were established by spectroscopic analysis.

Keywords : Diabetes mellitus, α -glucosidase, terpenes, xanthenes, *Cratoxylum formosum*

*Corresponding author; E-mail: acharavadee.pan@mfu.ac.th



บทนำ

ตี้วขาว (*Cratoxylum formosum*) เป็นพืชในวงศ์ Clusiaceae เป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดกลาง สูงระหว่าง 5-35 เมตร เมื่อมีอายุอ่อนจะมีหนามแข็งขึ้นตามลำต้น เปลือกมีลักษณะแตกเป็นร่องสะเก็ดสีน้ำตาลปนแดง ใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยวทรงรีปลายแหลมผิวด้านบนมัน สีเข้มกว่าด้านล่าง ถ้าใบแก่จะมีสีแดงหรือแดงมีขนาดกว้าง 1.5-5 ซม. ยาว 3-10 ซม. ออกดอกเป็นช่อแบบซี่ร่มสีชมพูหรือขาว ก้านดอกยาว 0.7 ซม. ก้านช่อดอกกว้างบานเต็มที่กว้าง 2-3 ซม. มีผลทรงกระสวย ผิวแห้งแข็งสีน้ำตาลหรือน้ำตาลปนดำขนาดกว้าง 0.7 ซม. ยาว 2 ซม. เมื่อผลแก่จะแตกตามรอยแยกสามแฉก จะออกดอกในช่วงเดือน มกราคม-กุมภาพันธ์ ออกผลในเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม พบมากในประเทศเขตร้อน [1, 2] (Figure 1) ในประเทศไทยพบพืชในสกุลนี้ 6 ชนิด คือ ใจงั้ง (*C. arborecense*) ตี้วเกลี้ยง (*C. cochinchinense* (Lour.) Blume) ตี้วขน (*C. formosum* ssp. *pruniflorum*) ตี้วขาว (*Cratoxylum formosum*) ตี้วดำ (*C. sumatranum*) และ เต้า (*C. maingayi*) [3]

ในประเทศไทยมีการนำส่วนต่างๆของต้นตี้วขาว มาใช้ประกอบอาหารในครัวเรือน เช่น การนำยอดอ่อน ใบอ่อนของต้นตี้วขาวมารับประทานเป็นผักสดร่วมกับลาบก้อย น้ำตก หรือนำส่วนดอกมาทำชุปหรือยำเพื่อรับประทานในครัวเรือน [4] มีรายงานถึงการศึกษาสมบัติ

ในการต้านสารอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบตี้วขาว พบว่าสารสกัดหยาบมีสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระได้เมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH scavenging assay โดยมีค่า IC_{50} อยู่ที่ 28.77 ± 2.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [5]

มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของต้นตี้ว พบสารในกลุ่มแซนโทนใหม่ 3 สารคือ formoxanthone A-C โดยที่สาร formoxanthone A และ C มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* และ *Salmonella typhi* ทั้งนี้ไม่มีผลการทดสอบสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร formoxanthone B เนื่องจากสารดังกล่าวมีปริมาณที่น้อยมากจึงไม่สามารถนำมาทดสอบได้ [6] ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากส่วนของลำต้นของต้นตี้วขน (*Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*) พบสารชนิดใหม่ 6 ชนิดคือ pruniflorones M-R ที่อยู่ในกลุ่มของสารแซนโทนที่มีสมบัติในการยับยั้ง Retinoid X receptors (RXRs) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่างๆ อาทิ การเจริญเติบโตของตัวอ่อน การรักษาสสมดุลของแคลเซียมและไขมันในเลือด รวมทั้งการเผาผลาญกลูโคสในร่างกายได้อีกด้วย [7] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase inhibition)



Figure 1. Picture of the plant, *Cratoxylum formosum*. A) twig B) flowers C) leaves D) young fruit and E) old fruit (Photo by Assoc. Prof. Dr. Surat Laphookhieo)



เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส(alpha-glucosidase, EC 3.2.1.20) เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการย่อยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) และปล่อยโมเลกุลน้ำตาลอิสระเข้าไปยังกระแสเลือด [8] การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจะสามารถช่วยในการควบคุมปริมาณน้ำตาลที่ถูกปล่อยออกมาไปยังกระแสเลือดได้ นอกจากนี้มีหลายงานวิจัยพบว่า สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสไม่เพียงแต่สามารถใช้ในการรักษาโรคเบาหวานได้เท่านั้น แต่ยังสามารถในการรักษาโรคมะเร็ง รวมทั้งรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดจากเชื้อไวรัสได้อีกด้วย [9] จากการศึกษาค้นคว้าข้อมูลพบว่า สารประกอบที่มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสนั้นส่วนมากเป็นสารในกลุ่มแซนโทนและอนุพันธ์ของแซนโทน (xanthones และ xanthone derivatives) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นพบสารในกลุ่มแซนโทน ซึ่งอาจมีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ที่แยกได้จากพืชในวงศ์ Clusiaceae หรือชื่อเดิมคือวงศ์ Guttiferae เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า พืชใน Clusiaceae มีความสามารถในการผลิตสารในกลุ่มแซนโทนได้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมีและอุปกรณ์

เครื่องมือหาจุดหลอมเหลวรุ่น Buchi melting point B-540 การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เทคนิค Nuclear magnetic resonance (NMR) จากเครื่องรุ่น Advance III 300MHz ของบริษัท Bruker ค่า Chemical shift ถูกบันทึกในหน่วย parts per million (δ) ใน CDCl_3 (δ_{H} 7.28 และ 77.0 ppm) ซึ่งมี TMS เป็นสารอ้างอิง การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เทคนิค Mass spectrometry (MS) จากเครื่อง MicroTOF mass spectrometer ของบริษัท Bruker เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ของการแยกสารโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่ใช้มีดังนี้ Si gel 60H (Merck, 5-40 μm), Si gel 100 (Merck, 63-200 μm) และ Sephadex LH-20 ตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองนี้คือ methanol, acetone, hexanes, ethyl acetate และ dichloromethane ทั้งหมดใช้ commercial grade

การสกัดและการแยกสาร

กิ่งอ่อนตัวขาว (1.41 กิโลกรัม) เก็บจากจังหวัดหนองคาย เดือนเมษายน พ.ศ.2533 หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กและผึ่งลมให้แห้ง นำมาสกัดด้วยอะซิโตนเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกแบบลดความดันได้ส่วนสกัดหยาบอะซิโตน (32.12 กรัม) นำส่วนสกัดหยาบที่ได้มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (quick column chromatography, QCC) โดยใช้ระบบชะเริ่มต้นด้วย 100% เฮกเซน และเพิ่มหัวของระบบด้วยอะซิโตน จนถึง 100% อะซิโตนรวบรวมส่วนที่แยกได้โดยใช้การตรวจสอบจากโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 18 ส่วน (F1-F18) จากนั้นทำการแยกสารจากส่วนสกัดย่อยทั้ง 18 ส่วน โดยใช้ปริมาณของสารในแต่ละส่วนสกัดและผลที่ได้จากการทดสอบสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในการเลือกส่วนสกัดย่อยเพื่อทำการแยกสาร โดยแยกจากส่วนสกัดย่อยที่ 12-18 ก่อนเนื่องจากมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี ดังแสดงใน Table 1. ส่วนย่อย F13 (1.8651 กรัม) นำมาแยกโดยใช้ sephadex LH-20 ชะด้วย 100% เมทานอล ได้ส่วนย่อย 11 ส่วน (F13A-K) นำส่วนย่อย F13K มาแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบการชะคือ 30% เอทิลอะซิเตทในเฮกเซน ได้ส่วนสกัดย่อย 6 ส่วน (F13KA-F) ส่วนย่อย F13KC นำมาแยกโดยเทคนิค CC ชะด้วย 20% อะซิโตนในเฮกเซน ได้ 1,7-dihydroxy-4-methoxyxanthone (1, 1.2 มิลลิกรัม) จากนั้นทำการแยกสารจากส่วนสกัดอื่นๆ ดังนี้ ส่วนสกัดย่อย F3 (55.0 มิลลิกรัม) นำมาแยกต่อด้วย QCC โดยใช้ระบบชะเริ่มต้นด้วย 2% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน 100% และเพิ่มหัวของระบบด้วยไดคลอโรมีเทนจนถึง 100% ไดคลอโรมีเทน ได้สาร 2 สารคือ friedelin (2, 1.3 มิลลิกรัม) และ friedelinol (3, 1.9 มิลลิกรัม) ส่วนย่อย F6 (67.0 มิลลิกรัม) เป็นของแข็งสีขาว ล้างของแข็งด้วยเมทานอล ได้สารผสมจำนวน 20 มิลลิกรัม อันประกอบด้วย β -amyrin (4), α -amyrin (5) และ lupeol (6) (Figure 2)



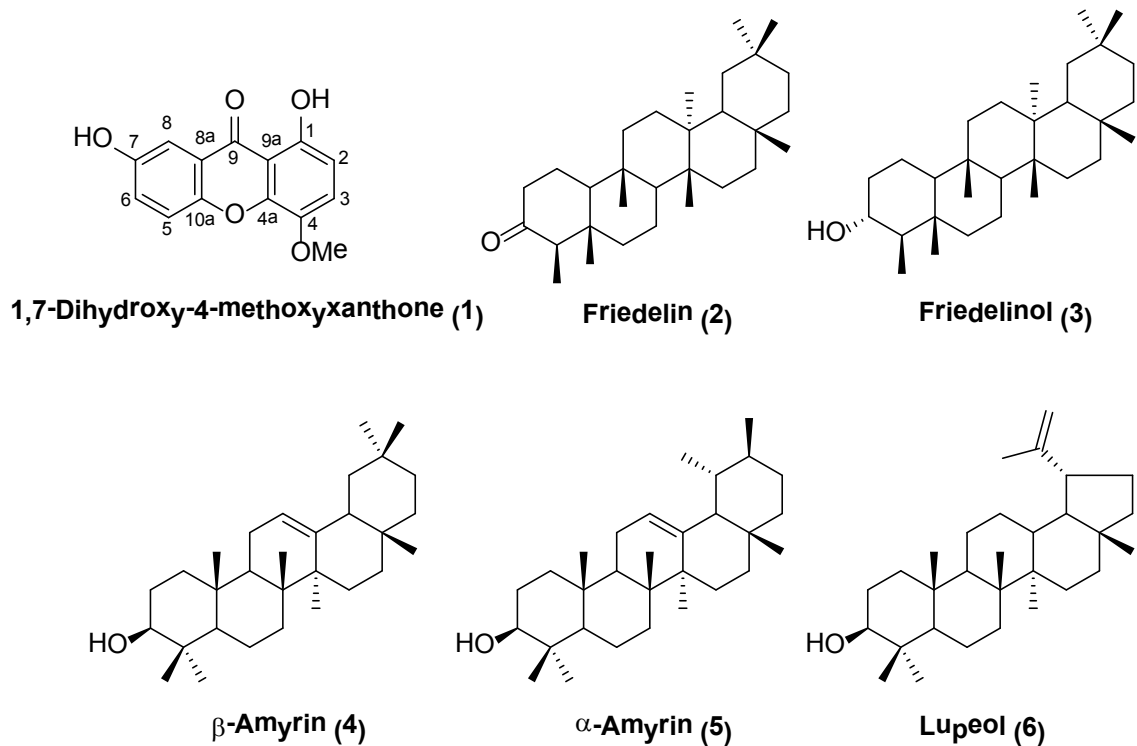


Figure 2. Structures of the isolated compounds

การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

การทดสอบเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -Glucosidase, Sigma, G5003 from *Saccharomyces cerevisiae*) ถูกทดสอบ 3 ซ้ำ ($n=3$) โดยใช้วิธีการวัดสี (Colorimetric method) ตามวิธีการของ Liu Y. และคณะ [10] สารที่นำมาทดสอบ และ สารตั้งต้น (substrate, 4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ถูกละลายในตัวทำละลาย DMSO และเจือจางในสารละลาย 50 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 เพื่อให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย DMSO เป็น 5%v/v จากนั้นทำการผสมสารละลายเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (0.4 U/mL) และสารละลายของสารที่นำมาทดสอบเพื่อทำการ preincubated เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการ

ใส่สารละลายของสารตั้งต้น (3 mM) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาต่ออีก 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาโดยใส่สารละลาย 0.1 M Na_2CO_3 ปริมาตร 1 mL และทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 405 nm ทันที ในการทดลองนี้ใช้ acarbose เป็นสารควบคุม แสดงค่า IC_{50} ที่ $8.0 \pm 1.7 \mu\text{M}$

ผลการศึกษา

ส่วนย่อย 18 ส่วนนำมาทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส โดยพบว่า 7 ใน 18 ส่วนมีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ โดยมีค่า % การยับยั้งอยู่ในช่วง 30.4 ± 0.9 ถึง 78.3 ± 0.3 เมื่อทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นของส่วนสกัดย่อยที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 1)



Table 1. alpha-Glucosidase inhibitory activities of 18 fractions of *Cratoxylum formosum*

Fraction No.	%inhibition at 100 mg/mL
1	NA
2	NA
3	NA
4	NA
5	NA
6	NA
7	NA
8	NA
9	NA
10	NA
11	NA
12	30.4 ± 0.9
13	37.9 ± 0.4
14	53.6 ± 0.9
15	52.2 ± 0.7
16	66.9 ± 0.3
17	73.0 ± 0.1
18	78.3 ± 0.3

Note: NA = %inhibition less than 5%

จากนั้นเมื่อนำส่วนย่อยที่ได้จากการแยกโดยเทคนิค QCC มาทำการแยกสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี โดยได้ทำการแยกสารในส่วนสกัดย่อยที่ 12-18 ก่อนเนื่องจากมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ ดังแสดงใน Table 1. แต่ทั้งนี้เนื่องจากเครื่องมือที่มีอยู่อย่างจำกัดและปริมาณของสารในส่วนสกัดย่อยมีน้อยจึงทำให้ผู้วิจัยสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้เพียงสารเดียวจากส่วนสกัดย่อยที่ 13 ที่มีค่า %การยับยั้งที่ 37.9 ± 0.4 นั่นคือ 1,7-dihydroxy-4-methoxyxanthone (1) ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากสารในส่วนสกัดย่อยที่เหลือจากส่วนสกัดย่อยที่ 1-11 พบว่าเมื่อทำการแยกส่วนสกัดย่อยที่ 3 โดยใช้เทคนิค QCC ในระบบที่เริ่มต้นจาก 2% ของตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนในตัวทำละลายเฮกเซน (CH₂Cl₂:Hexanes) จนกระทั่งถึง 100% ของตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ได้สาร 4 กลุ่มย่อย ซึ่งสารในกลุ่มย่อยที่ 1 และ 4 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวพิสุจน์ได้ว่าเป็น friedelin (2) และ friedelinol (3) จากนั้นได้ทำการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากส่วนสกัดย่อย ที่ 6 ซึ่งส่วนสกัดย่อยนี้มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ได้ทำการล้างของแข็งด้วยตัวทำละลายเมทานอล และนำมาวิเคราะห์หาระบบเพื่อทำการแยกโดยใช้เทคนิค TLC พบว่าของแข็งดังกล่าวไม่แยกในทุกระบบที่ใช้ จึงทำการส่งสารเพื่อพิสุจน์ พบว่าของแข็งจากส่วนสกัดย่อย F6 เป็นสารผสมของสาร 3 ชนิด คือ β -amyrin (4), α -amyrin (5) และ lupeol (6)

1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone (1) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองใส 1.2 มิลลิกรัม; m.p. = 215-216 °C (lit. m.p. 215-216 °C; José, M., 1998); ESITOF m/z 258.2835 [M⁺], calcd for C₁₄H₁₀O₅; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) และ ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz) ดังแสดงใน Table 2.



Table 2. Comparison the ^1H NMR and ^{13}C NMR in CDCl_3 , 300 MHz of 1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone (1) with the chemical shift with the literature (11)

position	1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone (1)			Reference (11)		
	δC	Type	δH (J in Hz)	δC	Type	δH (J in Hz)
1	152.55	C	-	153.3	C	-
2	108.39	CH	7.26 ($J=8.9$ Hz)	108.0	CH	7.23 (d, $J=8.8$ Hz)
3	121.08	CH	6.73 ($J=8.9$ Hz)	120.1	CH	6.96 (d, $J=8.7$ Hz)
4	140.02	C	-	139.9	C	-
4a	150.72	C	-	151.1	C	-
5	119.78	CH	7.55 ($J=9.1$ Hz)	119.7	CH	7.61 (d, $J=9.0$ Hz)
6	124.97	CH	7.33 ($J=9.1, 3.1$ Hz)	125.8	CH	7.47 (dd, $J=9.1, 2.8$ Hz)
7	145.94	C	-	145.2	C	-
8	108.39	CH	7.63 ($J=3.06$ Hz)	107.8	CH	7.95 (d, $J=2.8$ Hz)
8a	119.96	C	-	120.5	C	-
9	182.03	C=O	-	181.7	C=O	-
9a	108.98	C	-	108.4	C	-
10	57.37	CH_3	3.97 (s)	56.8	CH_3	4.04 (s)
10a	154.55	C	-	154.3	C	-

Friedelin (2) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว 1.3 มิลลิกรัม; m.p.= 260-261 °C (lit. m.p. 259.7-262.1 °C; Oliveira, D.M., 2012); ESITOF m/z 427.3934 [M+H⁺], calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{O}_1$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δH 0.73 (3H, s), 0.87 (3H, s), 0.88 (3H, d, $J=6.8$), 0.94 (1H, m), 0.95 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.18 (3H, s), 1.19 (1H, m), 1.21 (1H, m), 1.26 (1H, m), 1.28 (2H, m), 1.30 (1H, m), 1.35 (1H, m), 1.36 (1H, m), 1.38 (1H, m), 1.40 (2H, m), 1.48 (1H, m), 1.50 (2H, m), 1.51 (1H, m), 1.53 (2H, m), 1.57 (1H, m), 1.58 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.76 (1H, m), 1.97 (1H, m), 2.25 (1H, m), 2.31 (1H, m), and 2.39 (1H, m) ppm และ ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δC 6.80 (CH_3), 14.65 (CH_3), 17.94 (CH_3), 18.24 (CH_2), 18.64 (CH_3), 20.25 (CH_3), 22.28 (CH_2),

28.16 (C), 30.00 (C), 30.50 (CH_2), 31.77 (CH_3), 32.09 (CH_3), 32.43 (CH_2), 32.79 (CH_2), 35.01 (CH_3), 35.35 (CH_2), 35.64 (CH_2), 36.02 (CH_2), 37.45 (C), 38.30 (C), 39.25 (CH_2), 39.70 (C), 41.31 (CH_2), 41.52 (CH_2), 42.14 (C), 53.11 (CH), 58.23 (CH), 59.50 (CH), และ 213.20 (C=O) ppm (12)

Friedelinol (3) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว 1.9 มิลลิกรัม; m.p.= 285-286 °C (lit. m.p. 282-284 °C; Kumar, S., 2009); ESITOF m/z 427.3928 [M-H⁺], calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{O}_1$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δH 0.79 (3H, s), 0.86 (6H, s), 0.88 (3H, s), 0.92 (6H, s), 0.94 (3H, s), 1.10 (3H, s), 1.15-1.58 (brunch for 18H) และ 3.67 (1H, m) ppm และ ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δC 11.80 (CH_3), 16.00 (CH_2), 16.62 (CH_3), 17.70 (CH_2), 18.30 (CH_3), 18.80 (CH_3), 20.30 (CH_3),



28.30 (C), 30.00 (C), 30.70 (CH₂), 31.90 (CH₃), 32.30 (CH₃), 32.60 (CH₂), 32.79 (CH₂), 35.20 (CH₃), 35.35 (CH₂), 35.50 (CH₂), 36.20 (CH₂), 36.60 (CH₂), 37.30 (C), 38.00 (C), 38.90 (CH₂), 39.40 (CH₂), 39.70 (C), 41.90 (C), 42.90 (CH), 49.40 (CH), 53.40 (CH), 61.60 (CH) และ 72.90 (CH) ppm (13,14)

สาร 4, 5 และ 6 เป็นของผสม เมื่อเทียบค่าสัญญาณ Chemical shift กับเอกสารอ้างอิง (17, 18) พบว่าเป็นสารผสมของ β -amyrin (4), α -amyrin (5) และ lupeol (6) โดยมีสัญญาณ ¹H NMR ที่สำคัญดังนี้ olefinic protons ที่ δ H 5.15 ppm (1H, t, J = 6 Hz) และ 5.40 ppm (1H, t, J = 6 Hz) oxymethine protons ที่ δ H 4.68 ppm (1H, t, J = 3 Hz) และ 4.56 ppm (1H, t, J = 3 Hz) ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ที่พบใน β -amyrin และ α -amyrin ทั้งนี้ในสเปกตรัมของเทคนิค COSY ยังปรากฏความสัมพันธ์ของสัญญาณโปรตอนระหว่าง sextet methine protons ที่ δ H 2.37 ppm (¹H, m) กับ Sp3 methylene proton ที่ δ H 1.37 ppm (²H, m) และ Sp3 methine proton ที่ δ H 1.89 ppm (¹H, m) รวมทั้งระหว่าง oxygenated methine proton ที่ δ H 3.2 ppm (1H, m) กับ Sp3 methylene proton ที่ δ H 1.60 ppm (2H, m) อีกด้วย นอกจากนี้เมื่อใช้เทคนิค HMBC พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง oxygenated methine proton ที่ δ H 3.2 ppm กับคาร์บอนที่ 28.0 ppm กับ 18.5 ppm และยังมีความสัมพันธ์ระหว่าง sextet methine protons ที่ δ H 2.37 ppm กับ olefinic carbons ที่ δ C 19.5, 109.0 และ 151.0 ppm และ methylene carbon ที่ δ C 29.9 ppm และ methine carbon ที่ δ C 48.3 ppm อีกด้วย ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของสาร lupeol (6) (15, 16)

ทั้งนี้ในส่วนของการทดสอบสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์นั้น เนื่องจากประมาณสารบริสุทธิ์ที่สามารถแยกได้ คือสารที่ 1 (1.2 มิลลิกรัม), 2 (1.3 มิลลิกรัม) และ 3 (1.9 มิลลิกรัม) ด้วยปริมาณดังกล่าว สารทั้ง 3 ชนิดจึงถูกใช้ในการพิสูจน์โครงสร้างของสารทั้งหมดแล้ว ทำให้ไม่สามารถทำการทดสอบสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของสารบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิดได้

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งอ่อนของต้นติวขาวนี้ พบว่า สารสกัดของกิ่ง

อ่อนต้นติวขาว 7 ส่วนจาก 18 ส่วนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ และยังพบสารในกลุ่มแซนโทน นั่นคือ 1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone (1) ซึ่งเป็นสารแซนโทนที่พบได้โดยทั่วไปในพืชสกุล Clusiaceae แต่เพิ่งถูกค้นพบครั้งแรกในติวขาวอีกด้วย (7)

อภิปรายผลและสรุป

งานวิจัยนี้ เป็นรายงานครั้งแรกในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของต้นติวขาว ซึ่งพบสารในกลุ่มแซนโทนที่เป็นสารกลุ่มหลักที่พืชในวงศ์ Clusiaceae มักผลิตขึ้น นั่นคือ 1,7-Dihydroxy-4-methoxyxanthone (1) นอกจากนี้ยังมีการทดสอบสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของส่วนสกัดที่ได้จากต้นติวขาวด้วย จากการทดสอบที่ได้พบว่า 7 ใน 18 ส่วน ของส่วนสกัดของต้นติวขาวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำข้อมูลดังกล่าวไปเพิ่มองค์ความรู้ทางด้านการรักษาโรคเบาหวานจากต้นติวขาวและพืชในวงศ์ Clusiaceae ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ทั้งนี้คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุรัตน์ ละภูเขียว อาจารย์ประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และ ดร.ประสาท กิตตะคุปต์จากสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ที่เป็นผู้ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิจัยนี้เป็นอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

1. Stevens, P. F. 2007. *Clusiaceae-Guttiferae. Flowering Plants Eudicots*: Springer Berlin Heidelberg.
2. เอื้อมพร วิสมหมาย. ปณิธาน แก้วดวงเทียน. 2547. *ไม้ป่ายืนต้นของไทย 1 : Wild trees in Thailand 1*. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ เซช เอ็น กรุ๊ป จำกัด.



3. ราชันย์ ภูมา. 2559. สารานุกรมพืชในประเทศไทย (ฉบับย่อ) เฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงเจริญพระชนมายุ 60 พรรษา. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
4. กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. ผักพื้นบ้านในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. Taejaremwiriyakul, O., Buasai, M., Rattanatrakunurak, I., Sriyod, P., Ormjai, M.B., Chanluang, S. 2011. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Medicinal Plants. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal-วารสาร ไทยเภสัชศาสตร์ และวิทยาศาสตร์สุขภาพ*. 6(1): 1-6.
6. Boonsri, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., Kanjana-Opas, A., Chantrapromma, K. 2006. Antibacterial and cytotoxic xanthenes from the roots of *Cratoxylum formosum*. *Phytochemistry*. 67(7): 723-7.
7. Duan, Y.h., Dai, Y., Wang, G.h., Zhang, X., Chen, H.f., Chen, J.b., et al. 2010. Bioactive xanthenes from the stems of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*. *Journal of natural products*. 73(7): 1283-7.
8. Krasikov, V., Karelov, D., Firsov, L. 2001. α -Glucosidases. *Biochemistry (Moscow)*. 66(3): 267-81.
9. Bastaki, A. 2005. Diabetes mellitus and its treatment. *International journal of Diabetes and Metabolism*. 13(3): 111.
10. Liu, Y., Zou, L., Ma, L., Chen, W.H., Wang, B., Xu, Z. L. 2006. Synthesis and pharmacological activities of xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 14(16): 5683-90.
11. José, M., Kijjoa, A., Gonzalez, T., Pinto, M.M., Damas, A.M., Silva, A.M., et al. 1998. Xanthenes from *Cratoxylum maingayi*. *Phytochemistry*. 49(7): 2159-62.
12. Oliveira, D.M., Mussel, W.N., Duarte, L.P., Silva, G.D.F., Duarte, H.A., Gomes E.C.L., et al. 2012. Combined experimental powder X-ray diffraction and DFT data to obtain the lowest energy molecular conformation of friedelin. *Química Nova*. 35(10): 1916-21.
13. Sousa, G.F., Duarte, L.P., Alcântara, A.F., Silva, G.D., Vieira-Filho, S.A., Silva, R.R., et al. 2012. New triterpenes from *Maytenus robusta*: structural elucidation based on NMR experimental data and theoretical calculations. *Molecules*. 17(11): 13439-56.
14. Kumar, S., Raj, K., Khare, P. 2009. Flavones and acridones from *Atalantia wightii*. *Indian journal of chemistry Section B, Organic including medicinal*. 48(2): 291.
15. Boonnak, N. 2011. Thesis: Chemical Constituents from the *Cratoxylum cochinchinense* and *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum*. Prince of Songkla University.
16. Abdullahi, S.M, Musa, A.M, Abdullahi, M.I., Sule M.I, Sani, Y.M. 2013. Isolation of Lupeol from the Stem-bark of *Lonchocarpus sericeus* (Papilionaceae). *Scholars Academic Journal of Biosciences*. 1(1):18-19.

