



องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากลำต้นแกลแล Chemical Constituents and Antioxidant Activity from the Stems of *Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corner

อับดุลวาหาบ สาและ¹ ปรินทร์ อ่อนทอง² รณฤทธิ์ อินทร์แก้ว² ดาริน บุญศรี² ณัฐกร ชีประวัติชัย²
อานีซะ ดือรานิง² อทิพันธ์ เสียมไหม^{3,4}

¹สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ เอกเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต โทรศัพท์ 062-242-2773
อีเมล wahab_a@pkr.ac.th

²สาขาวิชาการศึกษาศาสตร์ วิชาเอกเคมี คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

³สาขาวิชาสาขาวิชานวัตกรรมเกษตรเพื่อความยั่งยืน คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

⁴ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาลอันทามัน มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากลำต้นแกลแล สามารถแยกสารประกอบแซนโทน 2 สาร คือ macluraxanthone (1) และ gerontoxanthone I (2) สารประกอบไอโซฟลาโวน 1 สาร คือ wightone (3) และฟลาโวนอยด์ชนิดฟลาโวนอน 1 สาร คือ aromadendrin (4) วิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ประกอบด้วย 1D- และ 2D-NMR และเปรียบเทียบกับข้อมูลของสารที่ได้รายงานมาแล้ว การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบ 1 และ 2 แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงมีค่า $IC_{50} = 16.434 \pm 3.545$ และ 20.410 ± 1.259 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และมีค่า $IC_{50} = 15.123 \pm 1.464$ และ 14.983 ± 4.085 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS โดยใช้สารมาตรฐานวิตามินซีเป็นตัวควบคุม

คำสำคัญ: แซนโทน 1 ฟลาโวน 2 ไอโซฟลาโวน 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 4 ต้นแกลแล 5

Abstract

Phytochemical investigation of the ethyl acetate extract of *Maclura cochinchinensis* stems resulted the isolation of two knowns xanthone, named macluraxanthone (1) and gerontoxanthone I (2) a known isoflavone, named wightone (1) together with a known flavonoid type flavone named aromadendrin (4). The structural elucidation was achieved by UV, IR, NMR spectroscopic analysis, and comparison with published data. Their antioxidant activities were evaluated through ABTS and DPPH radical scavenging assays. 1 and 2 exhibited significant DPPH and ABTS radical scavenging activities with IC_{50} values of 16.434 ± 3.545 and 20.410 ± 1.259 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH), 15.123 ± 1.464 and 14.983 ± 4.085 $\mu\text{g/mL}$ (ABTS), respectively, compared with the positive control ascorbic acid.

Keyword: xanthone, flavone, isoflavone, antioxidant activity, *Maclura cochinchinensis*



1. บทนำ

แกแล (*Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corner) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ขนุน (Moraceae) เป็นไม้พุ่มรอเลื้อยที่ทั่วไปมักพบกึ่งเป็นเถาเลื้อยยาวพาดตามต้นไม้ใหญ่จากลำต้นที่เกิดอยู่ใกล้เคียง กิ่งมีลักษณะเหนียวสามารถโค้งงอได้ดี โดยตามลำต้นและกิ่งมีหนามแข็งขนาดใหญ่ โดยหนามจะเกิดบริเวณเดียวกับใบ ส่วนเปลือกลำต้นมีผิวขรุขระ และสากมือ เปลือกผิวสีเทา เนื้อไม้ค่อนข้างแข็ง และเหนียว เนื้อไม้ด้านนอกค่อนข้างขาว ส่วนแก่นกลางมีสีเหลืองปนน้ำตาล ใบแกแลแทงออกเป็นใบเดี่ยวเยื้องสลับข้างกันบนกิ่ง ตรงจุดเดียวกันกับหนาม มีก้านใบสีเขียว ใบมีลักษณะเป็นรูปรี แผ่นใบเรียบ ค่อนข้างเป็นมัน แผ่นใบมองเห็นเส้นกลางใบ และเส้นใบที่แตกออกด้านข้างเส้นกลางใบอย่างชัดเจน ขอบใบเรียบ ปลายใบโค้งมน ใบค่อนข้างเหนียว และหนา ใบอ่อนบริเวณยอดมีสีม่วงแดง ใบแก่มีสีเขียวเข้ม ดอกเป็นแบบแยกเพศอยู่กันคนละต้น ดอกเพศผู้จะออกดอกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกมีขนาดเล็กสีขาวนวล กลีบดอกมี 4 กลีบ ผลแกแลเป็นผลชนิดรวมเหมือนผลน้อยหน่าที่เจริญมาจากรังไข่ของดอกที่เชื่อมติดกันจำนวนมาก และเมื่อเจริญเป็นผลจะมีเปลือกเป็นแผ่นเชื่อมต่อกันคล้ายเปลือกสับประรด ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง เมื่อเด็ดขั้วผลจะมียางสีขาวคล้ายน้ำมันไหลออกมา ส่วนผลสุกจัดจะมีสีส้มแดง มีเนื้อด้านในเป็นสีเหลืองส้ม (รูปที่ 1) มีการรายงานการวิจัยองค์ประกอบทางเคมีของต้นแกแล ในส่วนของเปลือกกรากและใบ พบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แชนโทน และเบนโซฟีโนน (Sun *et al.*, 1988; Chang *et al.*, 1989; Chang *et al.*, 1995; Hou *et al.*, 2001; Fukai *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015; Nakashima *et al.*, 2017; Kongkiatpaiboon *et al.*, 2017) อีกทั้งยังมีการรายงานว่า สารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Lin *et al.*, 1999; Nakashima *et al.*, 2017) ต้านไมโครแบคทีเรีย (Fukai *et al.*, 2003) และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Zheng *et al.*, 2011) เป็นต้น เนื่องจากมีรายงานการแยกองค์ประกอบทางเคมีในส่วนลำต้นเพียงเล็กน้อย และยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ผู้วิจัยเลือกทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากต้นแกแลในส่วนของลำต้น และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 1 ลักษณะของลำต้น ใบ ผลแก่และผลสุก

2. วัตถุประสงค์

เพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี วิเคราะห์หาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบที่แยกได้จากลำต้นแกแล



3. วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกจุดหลอมเหลวของสารประกอบวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Büchi melting point B-540 apparatus บันทึกอัลตราไวโอเลตสเปกตรัม (ultraviolet spectra) ของสารประกอบวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Analytik Jena Specord 210 Plus Spectrophotometer บันทึกอินฟราเรดสเปกตรัม (infrared spectra) ของสารประกอบวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Shimadzu FT-IR 8900 Spectrophotometer โดยเทคนิค ATR (Attenuated Total Reflectance) บันทึก ^1H NMR spectra ของสารประกอบโดยใช้ CDCl_3 หรือ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ เป็นตัวทำละลายด้วยเครื่อง Brüker AVANCE400 400 MHz Spectrometer และใช้ TMS เป็นมาตรฐาน (internal standard) บันทึก ^{13}C NMR spectra ของสารประกอบวัดที่ 100.62 MHz ค่า chemical shifts (δ) ใช้หน่วยเป็น parts per million ที่ downfield จาก TMS และค่า coupling constants มีหน่วยเป็น Hz เทคนิคการทดลองแบบ DEPT COSY HMQC HSQC และ HMBC ใช้ software ของ Brüker การแยกสารใช้ silica gel 70-230 หรือ 230-400 Mesh ASTM (Scharlau) หรือ 60 silanized (Merck, 40-230 mesh) เป็น adsorbent ใน column chromatography และใช้ silica gel 60H (Merck, 5-40 μm) หรือ RP-18 (Merck, 15-25 μm) สำหรับ quick column chromatography ใช้ aluminum sheets silica gel 60 F_{254} (Merck) ใน thin-layer chromatography (TLC) ตรวจสอบสารบน TLC โดยใช้ 1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ใน 10% สารละลาย H_2SO_4 โดยการฉีดพ่นลงไปแล้วนำไปให้ความร้อน

วิธีการทดลอง

การสกัดและแยกสาร

เก็บลำต้นต้นแกแล (*Maclura cochinchinensis*) จากบ้านเขาน้อยเหนือ ตำบลย่านซื่อ อำเภอกวนโดน จังหวัดสตูล ยืนยันชนิดของพันธุ์พืชโดย ดร.ปิยะ เฉลิมกลิ่น นำลำต้นแกแลสดบดละเอียด (7.0 กิโลกรัม) แช่ด้วยตัวทำละลาย MeOH (48 ลิตร) ที่อุณหภูมิห้อง กรอง และระเหยส่วนสกัดทั้งหมดภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอลมีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม น้ำหนัก 312.1 กรัม นำสารสกัดเมทานอลมาละลายน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยวิธี Liquid-Liquid extraction โดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทและบิวทานอล ตามลำดับ ระเหยส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทและบิวทานอล ภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (240.71 g) และบิวทานอล (98.45 g)

นำส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทที่มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลอมแดง น้ำหนัก 240 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์แบบรวดเร็ว ใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 เซนติเมตร แพคคอลัมน์ให้มีความสูง 4 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจลหนัก 641.92 กรัม บรรจุคอลัมน์ด้วยซิลิกาเจล 60H (Merck, 5-40 ไมโครเมตร) สูง 6.38 เซนติเมตร จากนั้นชะสารด้วยตัวทำละลายไล่ชั่วจาก 100% เฮกเซน ตามด้วย 50% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน โดยเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% เอทิลอะซิเตท และ เมทานอล เก็บสารละลายครั้งละ 500 มิลลิลิตร ระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ เปรียบเทียบสารที่ออกมาแต่ละกลุ่ม โดยพิจารณาจาก TLC ที่คล้ายกันมารวมกัน ได้สารทั้งหมด 12 กลุ่ม

นำสารกลุ่ม 3 มีลักษณะของหนืดสีเหลือง น้ำหนัก 11.7707 กรัม นำมาลงคอลัมน์แบบ โดยใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร แพคคอลัมน์ให้มีความสูง 5 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจลหนัก 125.6 กรัม หน้าสารสูง 0.93 เซนติเมตร ชะด้วยตัวทำละลายแบบไล่ชั่วตั้งแต่ 50% ไดคลอโรมีเทนในเฮกเซน โดยเพิ่มความเข้มข้น



ของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% เมทานอล เก็บสารครั้งละ 100 มิลลิลิตร ได้ทั้งหมด 43 กลุ่มย่อย รวมสารกลุ่มย่อยที่มีลักษณะ TLC เหมือนกัน ได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม สารกลุ่ม 4 เป็นสารประกอบ 1 (macluraxanthone, 0.1521 กรัม) และนำสารกลุ่ม 7 มีลักษณะของหนิสีเหลือง น้ำหนัก 0.7105 กรัม มาแยกซ้ำอีก 2 คอลัมน์ ได้สารประกอบ 2 (gerontoxanthone I, 0.1387 กรัม)

นำสารกลุ่ม 4 มีลักษณะเป็นของหนิสีส้มเหลือง น้ำหนัก 5.3432 กรัม นำมาลงคอลัมน์แบบรวดเร็ว ใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร แพคคอลัมน์ให้มีความสูง 4 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจลหนัก 25.12 กรัม หน้าสารสูง 0.3 เซนติเมตร ะด้วยตัวทำละลายแบบไล่ช้าตั้งแต่ 2% เอทิลอะซิเตท ในไดคลอโรมีเทน โดยเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องจนถึง 100% เมทานอล เก็บสารครั้งละ 100 มิลลิลิตร ได้ทั้งหมด 16 กลุ่มย่อย นำกลุ่มสารที่มีลักษณะ TLC เหมือนกัน มารวมเข้าด้วยกันได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม นำสารกลุ่ม 2 มีลักษณะเป็นของหนิสีดำ น้ำหนัก 1.1009 กรัม มาแยกซ้ำอีก 2 คอลัมน์ ได้สารประกอบ 3 (wightone, 23.3 มิลลิกรัม)

นำสารกลุ่ม 5 มีลักษณะเป็นของหนิสีส้มแดง น้ำหนัก 14.9966 กรัม ทำการแยกด้วยวิธีการล้างด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน แยกของหนิสีส้มแดงออกเหลือตะกอนสีขาวอมเขียว และตกผลึกด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ได้สารประกอบ 4 (aromadendrin, 0.7551 กรัม)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

DPPH reagent

ผสมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปริมาตรด้วยน้ำกลั่น DI จนครบ 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนต์ปีฟว เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ และค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (IC_{50})

ABTS reagent

ผสม ABTS reagent 3.50 มิลลิลิตร กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบปริมาตร 0.5 mL ลงในหลอด centrifuge เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบันทึก spectrum ที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ น้ำกลั่น DI 0.5 mL ผสมกับ ABTS reagent 3.50 mL เป็นตัวควบคุม ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) และ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (IC_{50})

4. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการทดลอง

การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากลำต้นแกลด้วยวิธี vacuum liquid chromatography โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ 4 สาร วิเคราะห์หาโครงสร้างของสารประกอบด้วยข้อมูลทางกายภาพ ทางสเปกโทรสโคปี และเปรียบเทียบข้อมูลกับสารที่มีผู้รายงานไว้แล้ว ดังนี้



macluraxanthone (1) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง; จุดหลอมเหลว 200-202 °C; UV (MeOH): $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 233 (4.25) 280 (3.88) 3.41 (4.18) nm; IR (ATR): $\nu_{\max}$ 3185 2996 1682 1619 1535 cm^{-1} ; สเปกตรัม ^1H และ ^{13}C NMR (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 1

gerontoxanthone I (2) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง; จุดหลอมเหลว 180-182 °C; UV (MeOH): $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 257 (4.47) 288 (3.82) 3.33 (4.23) nm; IR (ATR): $\nu_{\max}$ 3215 2991 1662 1541 1460 cm^{-1} ; สเปกตรัม ^1H และ ^{13}C NMR (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 1

wightone (3) มีลักษณะเป็นแผ่นบางใสไม่มีสี; UV (MeOH): $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 253 (4.27) 275 (3.72) nm; IR (ATR): $\nu_{\max}$ 3451 2971 1624 1512 cm^{-1} ; สเปกตรัม ^1H และ ^{13}C NMR (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2

aromadendrin (4) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว; UV (MeOH): $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 217 (4.29) 296 (3.94) nm; IR (ATR): $\nu_{\max}$ 3215 2991 1662 1360 cm^{-1} ; สเปกตรัม ^1H และ ^{13}C NMR (CDCl_3) แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลโปรตอน (^1H) และคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์ (^{13}C) ของสารประกอบ 1 และ 2 บันทึกใน CDCl_3

ตำแหน่ง	macluraxanthone (1)		gerontoxanthone I (2)	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} , type	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} , type
1		156.9 C		158.9 C
2		105.0 C		110.3 C
3		158.8 C		161.4 C
4		113.8 C		111.1 C
4a		155.8 C		153.4 C
5		134.7 C		131.2 C
6		153.4 C		149.2 C
7	7.22 (d, 8.8)	113.6 CH	6.92 (d, 8.4)	112.6 CH
8	7.93 (d, 8.8)	116.2 CH	7.67 (d, 8.4)	117.5 CH
8a		113.8 C		113.8 C
9		181.6 C=O		180.9 C=O
9a		103.5 C		103.0 C
10a		147.4 C		144.9 C
11	6.95 (d, 10.0)	116.3 CH	3.45 (d, 6.4)	21.6 CH_2
12	5.59 (d, 10.0)	127.3 CH	5.24 (t, 6.4)	121.3 CH
13		78.1 C		135.7 C
14	1.44 (s)	27.5 CH_3	1.77 (s)	25.9 CH_3
15	1.44 (s)	27.5 CH_3	1.85 (s)	18.0 CH_3
16		41.3 C		41.6 C
17	2.03 (s)	29.8 CH_3	6.66 (dd, 17.6, 10.4)	154.3 CH



18	2.03 (s)	29.8 CH ₃	5.18 (d, 10.4) 5.53 (d, 17.6)	107.0 CH ₂
19	6.68 (dd, 17.2, 10.8)	151.3 CH	1.70 (s)	28.0 CH ₃
20	5.03 (d, 10.8) 5.21 (d, 17.2)	107.6 CH ₂	1.70 (s)	28.0 CH ₃
1-OH	13.76 (brs)		13.59 (s)	
3-OH			6.87 (s)	

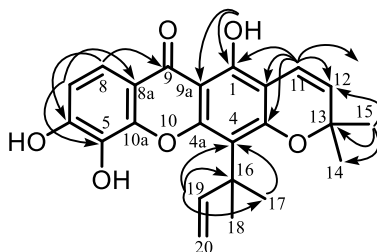
ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลโปรตอน (¹H) และคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์ (¹³C) ของสารประกอบ 3 และ 4 บันทึกใน CDCl₃

ตำแหน่ง	wighteone (3)		aromadendrin (4)	
	δ H (J in Hz)	δ C, type	δ H (J in Hz)	δ C, type
2	8.08 (s)	152.9 CH	5.50 (d, 11.6)	84.3 CH
3		122.3 C	5.10 (d, 11.6)	73.3 CH
4		181.0 C=O		198.2 C=O
4a		105.4 C		101.4 C
5		160.2 C		164.8 C
6		112.3 C	6.50 (s)	97.4 CH
7		163.4 C		168.6 C
8	6.67 (s)	93.3 CH	6.38 (s)	96.1 CH
8a		156.3 C		163.6 C
1'		131.1 C		128.6 C
2'	7.68 (d, 8.4)	130.8 CH	7.82 (d, 7.6)	130.1 CH
3'	7.25 (d, 8.4)	116.0 CH	7.28 (d, 7.6)	116.1 CH
4'		159.0 C		159.3 C
5'	7.25 (d, 8.4)	116.0 CH	7.28 (d, 7.6)	116.1 CH
6'	7.68 (d, 8.4)	130.8 CH	7.82 (d, 7.6)	130.1 CH
1''	3.79 (brd, 6.8)	22.2 CH ₃		
2''	5.74 (brt, 6.8)	123.3 CH		
3''		131.1 C		
4''	1.64 (s)	25.7 CH ₃		
5''	1.90 (s)	17.8 CH ₃		
5-OH	13.88 (s)			



อภิปรายผล

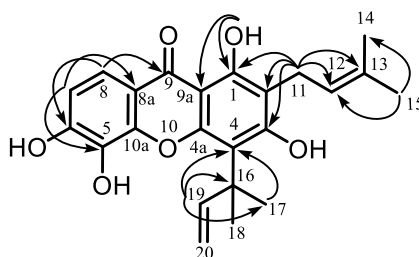
สาร 1 ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 200-202 °C แสดงสัญญาณการดูดกลืนแสง UV ที่ 233 280 และ 3.41 นาโนเมตร แสดงว่าสาร 1 มีการคอนจูเกตของพันธะของสารที่มีโครโมฟอร์ IR สเปกตรัมแสดงแถบการยืดที่ 3185 (O-H) 1682 (C=O) และ 1619 1535 (C=C) cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล คอนจูเกตคาร์บอนิล และวงแหวนอะโรมาติก จากสเปกตรัมคาร์บอน 13 เอ็นเอ็มอาร์ (^{13}C NMR, ตารางที่ 1) ปรากฏสัญญาณทั้งหมด 20 คาร์บอน โดยแสดงสัญญาณในตำแหน่ง downfield ที่ค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 181.6 เป็นสัญญาณของคาร์บอนคาร์บอนิล ตามด้วยสัญญาณของคาร์บอนควอเตอร์นารีจำนวน 12 สัญญาณ (δ 41.3 78.1 103.5 105.0 113.8(2x) 134.7 147.4 153.4 155.8 156.9 และ 158.8) สัญญาณของคาร์บอนเมทิลไทด์จำนวน 5 สัญญาณ (δ 113.6 116.2 116.2 127.3 และ 151.3) สัญญาณของคาร์บอนเมทิลลีน 1 สัญญาณ (δ 107.2) และสัญญาณของคาร์บอนเมทิลอีก 4 สัญญาณ (δ 27.5 (2x) และ 29.8 (2x) จากข้อมูล UV IR และ ^{13}C NMR ทำให้ทราบว่าสาร 1 มีโครงสร้างหลักเป็นอนุพันธ์แซนโทน (xanthone) สเปกตรัมโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (^1H NMR, ตารางที่ 1) พบสัญญาณของ chelated hydroxyl proton ที่ค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 13.76 (1H, brs) พบสัญญาณโปรตอนอะโรมาติก 2 สัญญาณ มีค่าคงที่คู่ควบ (coupling constant; J) แบบออร์โท (ortho-) ที่ค่า δ 7.93 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-8) 7.22 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-7) สัญญาณโปรตอนโอลิฟินิก 2 สัญญาณมีค่าคงที่คู่ควบแบบไอโซเมอร์แบบซิส (cis-) ที่ค่า δ 6.95 (1H, d, J = 10 Hz, H-11) และ 5.59 (1H, d, J = 10 Hz, H-12) สัญญาณโปรตอนโอลิฟินิก 3 สัญญาณที่ค่า δ 6.68 (1H, dd, J = 17.2, 10.8 Hz, H-19) 5.21 (1H, d, J = 17.2 Hz, H-20a) และ 5.03 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-20b) ซึ่งเป็นลักษณะสัญญาณของโปรตอนหมู่ไวนิล นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของหมู่เมทิลที่สมมูลกัน 2 ชุด ที่ค่า δ 2.03 (6H, s, H-14,15) และ 2.03 (6H, s, H-17,18) ยืนยันตำแหน่งด้วยเทคนิค 2D HMBC (รูปที่ 2) แสดงความสัมพันธ์ของ germinal chromene ที่เชื่อมต่อกับวง D ของโครงหลักแซนโทน โดยตำแหน่ง H-11 (δ 6.95) กับ C-1 (δ 156.9) C-2 (δ 105.0) และ C-3 (δ 158.8) และแสดงความสัมพันธ์ของหมู่เมทิลเมทิลของ 1,1-dimethylallyl ตำแหน่ง H-17,18 (δ 2.03) กับ C-4 (δ 113.8) เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของสาร 1 กับสาร macluraxanthone ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Munekazu *et al.*, 1994) พบว่ามีความเหมือนกัน ดังนั้นสาร 1 คือ macluraxanthone



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ HMBC ที่สำคัญของสาร 1

สาร 2 ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง เมื่อพิจารณาข้อมูล UV IR ^1H - และ ^{13}C -NMR (ตารางที่ 1) สาร 2 แสดงข้อมูลคล้ายกับสาร 1 แตกต่างกันว่า สาร 2 มีคาร์บอนอะโรมาติกเมทิลลีนเพิ่ม 1 สัญญาณ และโปรตอน

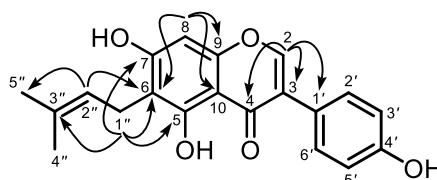
โอลิฟินิกหายไป 1 สัญญาณ แสดงว่าวงโครมินของสาร 1 เปิดออกเป็นหมู่ไอโซพรีนิล ซึ่งแสดงสัญญาณโปรตอนที่มีค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 5.24 (1H, *t*, $J = 6.4$ Hz, H-12) และ 3.45 (2H, *d*, $J = 6.4$ Hz, H-11) สัญญาณของหมู่เมทิลเมทิลที่ค่า δ 1.85 (3H, *s*) และ 1.77 (3H, *s*) ยืนยันตำแหน่งหมู่ไอโซพรีนิลด้วยเทคนิค 2D HMBC (รูปที่ 3) แสดงความสัมพันธ์ของ H-11 (δ 3.45) กับ C-1 (δ 158.9) C-2 (δ 110.3) และ C-3 (δ 161.4) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของสาร 2 กับสาร gerontoxanthone I ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Chang *et al.*, 1995) พบว่ามีความคล้ายกันสรุปได้ว่า สาร 2 คือ gerontoxanthone I



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ HMBC ที่สำคัญของสาร 2

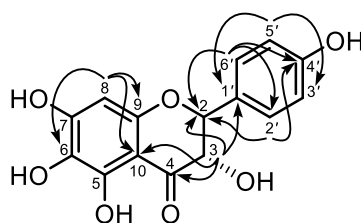
สาร 3 ลักษณะเป็นแผ่นพลาสติกบางใสไม่มีสี แสดงสัญญาณการดูดกลืนแสง UV ที่ 253 และ 275 นาโนเมตร แสดงว่ามีระบบโครโมฟอร์ IR สเปกตรัมแสดงแถบการยืดของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลที่ 3451 (O-H) คอนจูเกตคาร์บอนิล 1624 (C=O) และวงแหวนอะโรมาติก 1512 (C=C) cm^{-1} เมื่อวิเคราะห์ลักษณะสัญญาณของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ พบว่ามีโครงสร้างหลักสารกลุ่มไอโซฟลาโวน เนื่องจากมีสัญญาณโปรตอนลักษณะเฉพาะที่ปรากฏค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 8.08 (1H, *s*, H-2) ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนชนิดโอลิฟินิกเมทไทด์ที่เชื่อมต่อกับคาร์บอน-ออกซิเจน (O-CH=C) เมื่อพิจารณาข้อมูลสเปกตรัม ^{13}C NMR (ตารางที่ 2) แสดงคาร์บอนทั้งหมด 20 สัญญาณ โดยแสดงสัญญาณคาร์บอนคาร์บอนิล ในตำแหน่ง downfield ที่ค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 181.0 สัญญาณของคาร์บอนควอเทอนารีจำนวน 9 สัญญาณ (δ 105.4 112.3 122.3 131.1(2x) 156.3 159.0 160.2 และ 163.4) สัญญาณของคาร์บอนเมทไทด์จำนวน 7 สัญญาณ (δ 93.3 116.0(2x) 123.3 130.8(2x) และ 152.9) และสัญญาณของคาร์บอนเมทิลอีก 3 สัญญาณ (δ 25.7 22.2 และ 17.8) สเปกตรัมโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (^1H NMR, ตารางที่ 2) แสดงสัญญาณโปรตอนซิงเกิลด 3 สัญญาณ ที่ค่า δ 6.67 (1H, *s*, H-8) 1.90 (3H, *s*, H-5'') และ 1.64 (3H, *s*, H-4'') สัญญาณโปรตอนดับเบลตของอะโรมาติกที่สมมูลกัน 2 ชุดสัญญาณที่ควบคู่ด้วยค่าคงที่แบบบอร์โท ที่ค่า δ 7.68 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6') และ 7.25 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, H-3', H-5') ปรากฏสัญญาณโปรตอนของหมู่ไอโซพรีน ที่ค่า δ 5.74 (1H, *brt*, $J = 6.8$ Hz, H-1'') 3.79 (2H, *brd*, $J = 6.8$ Hz, H-2'') และสัญญาณของหมู่เมทิลเมทิล นอกจากนี้ยังปรากฏสัญญาณของ chelated hydroxyl proton ที่ค่าเคมีคัลชิฟ (δ) 13.88 (1H, *s*) ยืนยันตำแหน่งด้วยเทคนิค 2D HMBC (รูปที่ 4) แสดงความสัมพันธ์ของหมู่ไอโซพรีนที่ H-1'' (δ 3.79) กับ C-6 (δ

112.3) C-7 (δ 163.4) และ C-5 (δ 160.2) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของสาร **3** กับสาร wightone ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Joanne *et al.*, 2016) พบว่ามีความเหมือนกัน ดังนั้นสาร **3** คือ wightone



รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ HMBC ที่สำคัญของสาร **3**

สาร **4** ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว สเปกตรัม UV ของสาร **4** มี absorption band ที่ 217 และ 296 นาโนเมตร IR สเปกตรัมแสดงแถบการยืดที่ 3215 (O-H) 1662 (C=O) และ 1360 (C=C) cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล คาร์บอนิล และวงแหวนอะโรมาติก เมื่อพิจารณาสเปกตรัม ^{13}C NMR (ตารางที่ 2) ปรากฏสัญญาณทั้งหมด 15 คาร์บอน โดยแสดงสัญญาณในตำแหน่ง downfield ที่ค่า δ 198.2 เป็นสัญญาณของคาร์บอนคาร์บอนิล สัญญาณของคาร์บอนควอเตอร์นารี จำนวน 6 สัญญาณ (δ 101.4 128.6 159.3 163.6 164.8 และ 168.6) และสัญญาณของคาร์บอนเมทไทด์ จำนวน 8 สัญญาณ (δ 73.3 84.3 96.1 97.4 116.1(2x) และ 130.1(2x)) จากข้อมูล ^{13}C NMR ทำให้ทราบว่าสาร **4** มีโครงสร้างหลักเป็นอนุพันธ์ฟลาโวนอน เมื่อพิจารณาสเปกตรัม ^1H NMR (ตารางที่ 2) พบสัญญาณโปรตอนอะโรมาติกของวง A 2 สัญญาณ ที่ค่า δ 6.50 (1H, s, H-6) และ 6.38 (1H, s, H-8) ตามด้วยสัญญาณโปรตอนอะโรมาติกของวง C 2 สัญญาณ ที่ค่า δ 5.50 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-2) และ 5.10 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-3) สัญญาณโปรตอนอะโรมาติกของวง B สมมูลกัน 2 ชุด ที่ค่า δ 7.82 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-2', H-6') และ 7.28 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', H-5') ซึ่งพบว่าวง B นั้นถูกแทนที่ 2 ตำแหน่งในลักษณะ 1,4-disubstituted aromatic ring ยืนยันตำแหน่งด้วยเทคนิค 2D HMBC (รูปที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของสาร **4** กับสาร aromadendrin ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Eun *et al.*, 2003) พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน ดังนั้นสาร **4** มีชื่อว่า aromadendrin



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ HMBC ที่สำคัญของสาร **4**

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยหาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน 2 วิธี คือ DPPH และ ABTS เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิก โดยนำค่าที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟ



ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกับ %Inhibition และหาความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารบริสุทธิ์ โดยเทคนิค DPPH

สารบริสุทธิ์	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	DPPH	ABTS
1	16.434 ± 3.545	15.123 ± 1.464
2	20.410 ± 1.259	14.983 ± 4.085
ascorbic acid	19.432 ± 0.684	18.884 ± 0.968

การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากลำต้นแกลแล (*M. Cochinchinensis*) แยกสารบริสุทธิ์ที่มีผู้รายงานไว้แล้ว ได้ทั้งหมด 4 ชนิด แบ่งเป็นสารกลุ่มแซนโทน 2 สาร คือ maculuraxanthone (1), gerontoxanthone I (2) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์และไอโซฟลาโวนอยด์ 2 สาร คือ wightone (3) และ aromadendrin (4) เมื่อนำสารแต่ละชนิดไปทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging capacity assay (DPPH assay) และ ABTS cation radical scavenging assay (ABTS assay) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิก พบว่าสาร 1 และ 2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.434 ± 3.545 และ 20.410 ± 1.259 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และยังคงแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่ IC_{50} เท่ากับ 15.123 ± 1.464 และ 14.983 ± 4.085 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

5. ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากลำต้นแกลแล พบว่ามีสารอีกมากที่ยังไม่สามารถแยกออกมาได้ ซึ่งสารส่วนใหญ่เป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มแซนโทน เป็นหลัก ซึ่งสารพวกกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ จึงต้องแยกออกมาให้บริสุทธิ์ได้อีก และต้องศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ นอกจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อสามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้

6. กิตติกรรมประกาศ (ถ้ามี)

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากรองศาสตราจารย์ ดร.อุมาประวดี ที่ให้คำปรึกษา และช่วยเหลือทุก ๆ ด้านในการทำงานวิจัย นักศึกษาที่ทำวิจัยในรายวิชา 8302401 โครงการวิจัยทางเคมี จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ในการบันทึก MS และ HRMS สเปกตรัม และได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในด้านสถานที่ทำการทดลอง อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ จาก สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต จึงขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

7. บรรณานุกรม



- Akter, K.; Barnes, E.C.; Loa-Kum-Cheung, W.L.; Yin, P.; Kichu, M.; Brophy, J.J.; Barrow, R.A.; Imchen, I.; Vemulpad S.R.; Jamie, J.F. Antimicrobial and antioxidant activity and chemical characterization of *Erythrina stricta* Roxb. (Fabaceae). Journal of ethnopharmacology, 2016, 185, 171–81.
- Chang, C.H.; Lin, C.C.; Hattori, M.; Namba, T. Four prenylated xanthenes from *Cudrania cochinchinensis*. Phytochemistry, 1989, 28, 595-8.
- Chang, C.H.; Lin, C.C.; Kadota, S.; Hattori, M.; Namba, T. Flavonoids and a prenylated xanthone from *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontogea*. Phytochemistry, 1995, 40, 945-7.
- Chen, L.; Zhou, Q.; Li, B.; Liu, S.J.; Dong, J.X. A new flavonoid from *Cudrania cochinchinensis*. Journal of natural products, 2015, 29, 1217-21.
- Fukai, T.; Yonekawa, M.; Hou, A.J.; Nomura, T.; Sun, H.D.; Uno, J. Antifungal agents from the roots of *Cudrania cochinchinensis* against *candida*, *cryptococcus*, and *aspergillus* species. Journal of natural products, 2003, 66, 1118–20.
- Fukai, T.; Oku, Y.; Hou, A.J.; Yonekawa, M.; Terada, S. Antimicrobial activity of hydrophobic xanthenes from *Cudrania cochinchinensis* against *bacillus subtilis* and methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. Chemistry & Biodiversity, 2004, 1, 1385–90.
- Hou, A.J.; Fukai, T.; Shimazaki, M.; Sakagami, H.; Sun, H.D.; Nomura, T. Benzophenones and xanthenes with isoprenoid groups from *Cudrania cochinchinensis*. Journal of natural products, 2001, 64, 65–70.
- Kongkiatpaiboon, S.; Tungsukruthai, P.; Sriyakool, K.; Pansuksan, K.; Tunsirikongkon, A.; Pandith, H. Determination of Morin in *Maclura cochinchinensis* heartwood by HPLC. Journal of chromatography science, 2017, 55, 346–50.
- Lee, E.H.; Kim, H.J.; Song, Y.S.; Jin, C.; Lee, K.T.; Cho, J.; Lee, Y.S. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. Archives of pharmacal research, 2003, 26, 1018-23.
- Linuma, M.; Tosa, H.; Tanaka, T.; Yonemori, S. Two xanthenes from root bark of *Calophyllum inophyllum*. Phytochemistry, 1994, 35, 527-32.
- Liu, Z.P.; Wei, W.X.; Zhou, M.; Gan, C.F.; Liu, S. A New prenylated xanthone from root barks of *Cudrania cochinchinensis*. Chinese herbal medicines, 2013, 5, 101-3.
- Nakashima, K.I.; Ogiwara, T.; Hirai, T.; Tanaka, T.; Murata, H.; Kaburagi, K.; Fujii-Kuriyama, Y.; Hayashi, H.; Lnoe, M. Gerontoxanthone B from *Maclura cochinchinensis* var. *gerontogea* exhibits anti-Inflammatory potential as an aryl hydrocarbon receptor agonist. Bioorganic & Medicinal chemistry letters, 2017, 25, 4253–8.
- Sun, N.J.; Chang, C.J.; Cassady, J.M. A cytotoxic isoflavone from *Cudrania cochinchinensis*. Phytochemistry, 1988, 27, 591-2.



Zhou, Q.; Chen, L.; Yin, H.J.; Li, B.; Tian, Y.; Chen, H.W.; Xiao, Y.H.; He, X.H.; Zeng, Y.L.; Dong, J.X
Two new flavonols from *Cudrania cochinchinensis*. Journal of Asian natural products
research, 2014, 6, 976–81.