บทความวิจัย

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารประกอบแซนโทนจากน้ำยางชะมวง

Antibacterial Activity of Xanthones from the Latex of *Garcinia cowa* Roxb.

ปริชาติ เทพทอง [1*] วรรณฤดี หิรัญรัตน์[1] และ มูรณี มู่สา[2]

Parichat Thepthong [1*], Wanrudee Hiranrat[1] and Muranee Musa[2]

บทคัดย่อ

การแยกสารองค์ประกอบจากน้ำยางชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.) โดยวิธีการทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึก สามารถแยกสารประเภทแซนโทน (Xanthones) ซึ่งเป็นสารที่เคยมีการรายงานโครงสร้างแล้ว จำนวน 5 สาร คือ Cowagarcinone A (1) 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis(3-methyl-2-butenyl)xanthone (2) Cowanin (3) Cowaxanthone (4) และ Cowanol (5) โครงสร้างของสารเหล่านี้วิเคราะห์โดยเปรียบเทียบจุดหลอมเหลวและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี UV IR และ NMR กับสารที่เคยมีการรายงาน เมื่อนำน้ำยางชะมวงและสารบริสุทธิ์มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus cereus Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* โดยใช้วิธี Broth dilution method พบว่าส่วนน้ำยางชะมวงแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B.cereus B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ ด้วยค่า MIC 190 μg/mL 390 μg/mL และ 780 μg/mL ตามลำดับ สาร 1 ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเชื้อทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 150 μg/mL สาร 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *B.subtilis* ได้ดี ด้วยค่า MIC 4.68 และ 9.37μg/mL ตามลำดับ และยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ด้วยค่า MIC 37.5 μg/mL สาร 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ*B.subtilis* ได้ดี ด้วยค่า MIC 18.75 และ 2.34 μg/mL ตามลำดับ และยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ด้วยค่า MIC 75 μg/mL ในขณะที่สาร 5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *B.cereus* และ *S.aureus* ได้ด้วยค่า MIC 18.75 μg/mL และยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ด้วยค่า MIC 9.37 μg/mL

คำสำคัญ : แซนโทน ชะมวง ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

---

[1] อาจารย์สาขาวิชาเคมี หน่วยวิจัยเคมีคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง 93110

[2] นิสิตระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง 93110

[*] Corresponding author : โทรศัพท์/โทรสาร: 0-7460-9634 e-mail: tsu_parichat@hotmail.com

Abstract

Isolation of the chemical constituents from the latex of *Garcinia cowa* Roxb. by chromatographic and crystallization technique, yield five previously reported xanthones : Cowagarcinone A (1) 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis(3-methyl-2-butenyl)xanthone (2) Cowanin (3) Cowaxanthone (4) and Cowanol (5). Their structures were elucidated based on comparison of physical properties and spectroscopic data with the literature. Antibacterial activity of the crude latex and isolated xanthones against *Bacillus cereus Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* was determined by the broth-dilution method. The results were found that the crude latex showed weak activities to inhibit the growth of *B.cereus, B.subtilis* and *S.aureus* with MIC values of 190, 390 and 780 μg/mL, respectively.

Xanthones 3, 4 and 5 were found to against the growth of *B.cereus, B.subtilis* and *S.aureus.* Xanthone 3 showed moderate to inhibit *B.cereus, B.subtilis* and *S.aureus* with MIC values of 4.68, 9.37 and 37.5μg/mL, respectively. Xanthone 4 showed the best activity against *B.subtilis* with MIC values of 2.34 μg/mL and showed moderate to inhibit *B.cereus* and *S.aureus* with MIC values of 18.75 and 75.00 μg/mL, respectively. Xanthone 5 exhibited moderate activity against *B.cereus, B.subtilis* and *S.aureus* with MIC values of 18.75, 9.37 and 18.75μg/mL, respectively. Whereas xanthone 1 showed no activity to inhibit *B.cereus, B.subtilis* and *S.aureus* at 150 μg/mL.

Keywords : Xanthone, *Garcinia cowa* Roxb., *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus,* Antibacterial Activities

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอากาศร้อนชื้น เหมาะต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนซึ่งเป็นช่วงที่มีสภาพอากาศเหมาะสมต่อการเติบโตของเชื้อมากที่สุด โดยมักจะเจอเชื้อปะปนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ในอาหาร อากาศ น้ำ โดยเชื้อเหล่านั้นจะก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น อาหารเป็นพิษ โรคผิวหนัง เป็นต้น

โรคอาหารเป็นพิษเป็นโรคที่ควรได้รับการดูแลทั้งโดยการป้องกันและการรักษาโรค โดยโรคนี้มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น เชื้อ *Bacillus cereus Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น เมื่อเชื้อเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย จะก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้อาเจียน บางรายมีอาการอุจจาระร่วงและปวดบิดท้อง ซึ่งจะต้องใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา แต่มักพบการดื้อยาหรือแพ้ยา อีกทั้งยามีราคาค่อนข้างแพง ทำให้ความสนใจในการรักษาโดยใช้ยาสมุนไพรมีมากขึ้น เนื่องจากสรรพคุณของสมุนไพรเป็นที่ทราบกันดีว่าสามารถบรรเทาอาการของโรคต่างๆ ได้ และยังมีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน อีกทั้งยาสมุนไพรมีราคาถูกกว่าและสามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบในสมุนไพรไทยซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้มีหลายกลุ่ม เช่น แทนนิน และแซนโทน เป็นต้น โดยสารประกอบแซนโทน (Xanthones) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พบมากในพืชสกุล Garcinia วงศ์ Clusiaceae มีรายงานวิจัยหลายเรื่องที่แสดงศักยภาพของสารประกอบแซนโทนในการต้านแบคทีเรีย เช่น สารประกอบแซนโทนจากเปลือกมังคุด [1] และสารประกอบแซนโทนจากผลชะมวง [2] เป็นต้น จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.)

เป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีรายงานพบสารประกอบแซนโทนเป็นองค์ประกอบ ในอดีตแพทย์ชนบทนำส่วนต่าง ๆ ของชะมวงมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย เช่น ส่วนเปลือกต้นใช้เป็นยาลดไข้ และต้านจุลชีพ ส่วนน้ำยางใช้ลดไข้ [3] ส่วนสกัดหยาบใบแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบ [4] เป็นต้น ซึ่งสารแซนโทนที่แยกได้จากต้นชะมวงมีทั้งมาจากส่วนเปลือกต้น ส่วนน้ำยาง ส่วนใบ และส่วนผล ซึ่งสารองค์ประกอบที่พบในแต่ละส่วนก็จะมีความแตกต่างกัน โดยในส่วนน้ำยางมีรายงานพบสารประกอบแซนโทน จำนวน 12 สาร [3,5] สารประกอบบางตัวแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ในระดับปานกลาง [3] สารบางตัวมีการศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน [5] และ สารบางตัวแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย [6] จากข้อมูลดังกล่าว จึงคาดว่าสารที่แยกได้จากน้ำยางชะมวงน่าจะแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นได้ ประกอบกับมีงานวิจัยที่รายงานว่าส่วนสกัดหยาบเฮกเซนและคลอโรฟอร์มของเปลือกผลชะมวงสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *B.cereus, B.coagulans, B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ดีด้วยค่า MIC ในช่วง 15-30 μg/mL [7] ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทแซนโทนจากน้ำยางชะมวง ที่สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *B.cereus B.subtilis* และ *S.aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารได้ โดยมุ่งหาและศึกษาโครงสร้างของสารที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางเภสัชวิทยาในการนำสารเหล่านั้นไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดลอง

ตรวจสอบสารด้วยโครมาโทรกราฟีแผ่นบางซิลิกาเจล GF_{254} Merck ทำบริสุทธิ์สารด้วยคอลัมน์โครมาโทรกราฟีแบบรวดเร็ว ซิลิกาเจล 60 H Merck และ คอลัมน์โครมาโทรกราฟี ซิลิกาเจล 100 Merck (70-230 Mesh ASTM) บันทึกข้อมูล UV ในตัวทำละลายเมทานอลโดย SHIMADZU UV-1700 (Pharma Spec) spectrophotometer บันทึกข้อมูล IR โดย PerkinElmer Spectrum I FTIR spectrometer และบันทึกข้อมูล ^{1}H NMR ในตัวทำละลาย $CDCl_3$ ด้วย Varian UNITY INOVA 500 MHz NMR spectrometer โดยใช้ TMS เป็น internal standard วิเคราะห์ค่าจุดหลอมเหลว โดย GALLENKAMP SANYO ตู้บ่มเชื้อ Memmert หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ HIGH PRESSURE STEAM STERILIZER (TOMY) และ ตู้ปลอดเชื้อ BOSS-Tech

2. ตัวอย่างพืชและเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างน้ำยางชะมวง จากอำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Bacillus subtilis* TISTR 008 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เชื้อ *S.aureus* จากสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

3. การเตรียมส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงและการทำบริสุทธิ์

น้ำยางชะมวงสีเหลือง 30 g นำมาละลายด้วยแอซิโตน กรองเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน และระเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้ส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงสีน้ำตาลปนเหลือง 25 g นำส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงจำนวน 20 g ไปแยกเป็นส่วนสกัดย่อย ด้วยคอลัมน์โครมาโทรกราฟีแบบรวดเร็ว โดยมีซิลิกาเจล เป็นตัวอยู่กับที่ และมีเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน แอซิโตน และเมทานอล ในอัตราส่วนต่าง ๆ เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ส่วนสกัดย่อยจำนวน 9 ส่วน (A-I) นำส่วนสกัดย่อย C น้ำหนัก 0.25 g มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ 10% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ส่วนย่อย 6 ส่วน ซึ่งเมื่อนำส่วนย่อยที่ 2 และ 3 มาแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 10% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ และนำสารที่ได้มาตกผลึกใน 10% CH_2Cl_2: hexane ได้สาร 1 (0.03 g) และเมื่อนำส่วนย่อยที่ 5 และ 6 มาทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 20% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้สาร **2** (0.01 g)

ส่วนสกัดย่อย D น้ำหนัก 1.12 g นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ 20% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ได้ ส่วนย่อย 7 ส่วน เมื่อนำส่วนย่อยที่ 2 3 และ 4 มาแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 20% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ และนำสารที่ได้มาตกผลึกใน 20% CH2Cl2: hexane ได้สาร 2 (0.44 g) และเมื่อนำส่วนย่อยที่ 6 และ 7 มาทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 30% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้สาร **3** (0.27 g)

ส่วนสกัดย่อย F น้ำหนัก 1.21 g นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ 40% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ได้ ส่วนย่อย 5 ส่วน เมื่อนำส่วนย่อยที่ 1 และ 2 มาแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 40% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ และนำสารที่ได้มาตกผลึกใน 25% CH_2Cl_2: hexane ได้สาร 3 (0.29 g) และเมื่อนำส่วนย่อยที่ 4 และ 5 มาทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 70% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้สาร 4 (0.33 g)

ส่วนสกัดย่อย H น้ำหนัก 0.45 g นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ 50% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้ส่วนย่อย 6 ส่วน เมื่อนำส่วนย่อยที่ 1 และ 2 มาแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 50% CH_2Cl_2: hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ และนำสารที่ได้มาตกผลึกใน 25% CH_2Cl_2: hexane ได้สาร 4 (0.09 g) และเมื่อนำส่วนย่อยที่ 4 5 และ 6 มาทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ CH_2Cl_2 เป็นตัวเคลื่อนที่ ได้สาร 5 (0.17 g)

4. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงและสารบริสุทธิ์

4.1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลว Mueller Hinton Broth (MHB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้จากการบ่มไปปรับความขุ่นของเชื้อให้มีค่าเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 0.5 โดยใช้น้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% จะได้ความขุ่นของเชื้อ เท่ากับ 1 X 10^6 cfu/mL

4.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Broth-dilution method

เตรียมสารละลายส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวง ความเข้มข้น 100 mg/mL และสารละลายของสารบริสุทธิ์ 1 3 4 5 และ Vancomycin ที่ความเข้มข้น 300 μg/mL โดยใช้ 70% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ปิเปตอาหาร MHB ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดทดสอบที่ 2-13 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดที่ 1 และ 2 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิเปตสารผสมในหลอดที่ 2 ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดที่ 3 จากนั้นปิเปตสารผสมในหลอดที่ 3 ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดที่ 4 และทำซ้ำเช่นนี้ไปจนถึงหลอดที่ 12 ซึ่งเมื่อเขย่าหลอดที่ 12 จนเป็นเนื้อเดียวกัน จะปิเปตสารในหลอดที่ 12 ทิ้งไป 1 mL โดยหลอดที่ 13 ไม่เติมสารละลายตัวอย่าง ซึ่งจะให้เป็นหลอดควบคุม จากนั้นปิเปตเชื้อที่ต้องการทดสอบปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดทดลองที่ 1-13 และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการทดสอบเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม โดยแต่ละตัวอย่าง จะทำ 3 ซ้ำ

4.3. ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมี

วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำยางชะมวง ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี ได้แก่ Ultraviolet-Visible Spectroscopy (UV-Vis) Infrared Spectroscopy (IR) Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์และค่าจุดหลอมเหลวเปรียบเทียบกับข้อมูลของสารที่ได้มีการรายงานในวารสารวิชาการ

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการสกัดน้ำยางชะมวงด้วยตัวทำละลายแอซิโตน พบว่ามีปริมาณร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 89.03 และเมื่อนำสารสกัดน้ำยางชะมวง น้ำหนัก 20 กรัม ทำให้เป็นส่วนสกัดย่อย โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วจะได้ส่วนสกัดย่อยจำนวน

9 ส่วน (A-I) นำส่วนสกัดย่อยที่สนใจมาทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีและการตกผลึก ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 5 สาร คือ สาร **1** **2** **3** **4** และ **5** โดยสารส่วนใหญ่จะเป็นผลึกสีเหลือง เมื่อวัดค่าจุดหลอมเหลวและวิเคราะห์หาโครงสร้าง โดยพิจารณาจากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

สาร 1; m.p. 162-164°C. UV λ_{max}nm (log ε) 346(3.78), 317(4.34), 243(4.48). IR ν (cm^{-1}) 3411, 1645. ^{1}H NMR δ 13.80 (1H, *s*, 1-OH), 6.32 (1H, *s*, H-4), 5.31-5.34 (2H, *br t*, *J*=7.0 Hz., H-2' and H-2"), 5.24 (1H, *br t*, *J* = 6.0 Hz, H-2'"), 5.01 (1H, *mt*, *J* = 7.0 ,1.5 Hz, H-6'"), 4.04 (2H, *br d*, *J* = 6.5 Hz, H-1'"), 3.79 (3H, *s*, 7-OCH_3), 3.54 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1"), 3.44 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 1.90-2.08 (4H, *m*, H-4'" และ H-5'"), 1.89, 1.86, 1.84, 1.81, 1.72, 1.63, 1.58 (3H each, *s*, CH_3 x 7). (สาร 1 คือ Cowagarcinone A)

สาร 2; m.p. 221-223 °C. UV λ_{max} nm (log ε) = 318(4.23), 245(4.49). IR ν(cm^{-1}) 3533, 1641. ^{1}H NMR δ 13.44 (1H, *s*, 1-OH), 7.47 (1H, *s*, H-8), 6.40 (1H, *s*, H-4), 6.41 (1H, *s*, 6-OH), 6.20 (1H, *s*, 3-OH), 5.24-5.29 (2H, *br t*, *J*=7.0 Hz., H-2' and H-2"), 3.97 (3H, *s*, 7-OCH_3), 3.58 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1"), 3.45 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 1.86, 1.84, 1.76, 1.66 (3H each, s, CH_3 x 4). (สาร 2 คือ 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis(3-methyl-2-butenyl) xanthone)

สาร 3; m.p. 138-139 °C. UV λ_{max} nm (log ε) = 361(4.06), 321(4.37), 258(4.51), 243(4.56). IR ν (cm^{-1}) 3431, 1642. ^{1}H NMR δ 13.78 (1H, *s*, 1-OH), 6.81 (1H, *s*, H-5), 6.27 (1H, *s*, H-4), 5.27 (2H, *m*, H-2' และ H-2"), 5.00 (1H, *br t*, *J* = 7.0 ,1.5 Hz, H-6"), 4.07 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1"), 3.78 (3H, *s*, 7-OCH_3), 3.43 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.01-2.04 (2H, *m*, H-5"), 1.96-1.99 (2H, *m*, H-4"), 1.82, 1.80, 1.75, 1.60, 1.58 (3H each, *s*, CH_3 x 5). (สาร 3 คือ Cowanin)

สาร 4; m.p. 197-199 °C. UV λ_{max} nm (log ε) = 361(3.85), 320(4.27), 258(4.41), 242(4.45). IR ν (cm^{-1}) 3524, 1631. ^{1}H NMR δ 13.39 (1H, *s*, 1-OH), 7.57 (1H, *s*, H-8), 6.92 (1H, *s*, H-5), 6.37 (1H, *s*, H-4), 5.28 (1H, *br t*, *J* = 7.0 Hz, H-2'), 5.03 (1H, *br t*, *J* = 7.0 Hz, H-6'), 3.99 (3H, *s*, 7-OCH_3), 3.47 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.05-2.15 (4H, *m*, H-4' และ H-5'), 1.82, 1.66, 1.56 (3H each, *s*, CH_3 x 3). (สาร 4 คือ Cowaxanthone)

สาร 5; UV λ_{max} nm (log ε) = 315(4.34), 243(4.51). IR ν(cm^{-1}) 3399, 1644. ^{1}H NMR δ 13.83 (1H, *s*, 1-OH), 6.79 (1H, *s*, H-5), 6.28 (1H, *s*, H-4), 5.44 (1H, *br t*, *J* = 7.0 Hz, H-2'), 5.24 (1H, *br t*, *J* = 7.0 Hz, H-2"), 5.00 (1H, *br t*, *J* = 7.0 Hz, H-6"), 4.33 (2H, *br s*, 4'- CH_2O), 4.06 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1"), 3.78 (3H, *s*, 7-OCH_3), 3.50 (2H, *br d*, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 1.97-2.05 (4H, *m*, H-4" และ H-5"), 1.80, 1.76, 1.58, 1.52 (3H each, *s*, CH_3 x 4). (สาร 5 คือ Cowanol)

ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย *B.cereus* *B.subtilis* และ *S.aureus* ของส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวง และสารบริสุทธิ์ เปรียบเทียบกับ Vancomycin แสดงในตารางที่ 1

ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย *B.cereus* *B.subtilis* และ *S.aureus* ของส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวง และสารบริสุทธิ์ พบว่า ส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวง สามารถยับยั้งเชื้อ *B.cereus* *B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ด้วยค่า MIC 190 390 และ 780 μg/mL ตามลำดับ จากข้อมูลของการยับยั้งดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อที่ทดสอบได้ในระดับค่อนข้างต่ำ

ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย *B.cereus* *B.subtilis* และ *S.aureus* ของสารบริสุทธิ์ พบว่า สาร 1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเชื้อที่ศึกษาในระดับต่ำมาก ในขณะที่สาร 3 สามารถยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *B.subtilis* ได้ในระดับค่อนข้างดี ด้วยค่า MIC 4.68 และ 9.37 μg/mL ตามลำดับ และยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ได้ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC 37.50 μg/mL สาร 4 ยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ได้ดีมากที่สุด ด้วยค่า MIC 2.34 μg/mL และยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *S.aureus* ได้ด้วยค่า MIC 18.75 และ 75.00 μg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สาร 5 สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ด้วยค่า MIC 9.37 μg/mL และยับยั้งเชื้อ *B.cereus* ได้ดีใกล้เคียงกับเชื้อ *S.aureus* ด้วยค่า MIC 18.75 μg/mL

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวง สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *B.cereus* *B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ในระดับค่อนข้างต่ำ โดยสารสกัดแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย *B.cereus* ด้วยค่า MIC 190 μg/mL แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ด้วยค่า MIC 390 μg/mL และยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ด้วยค่า MIC 780 μg/mL จากข้อมูลดังกล่าว คาดได้ว่าสารองค์ประกอบในน้ำยางชะมวงน่าจะสามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้ เมื่อนำน้ำยางชะมวงมาทำบริสุทธิ์ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ จำนวน 5 สาร คือ สาร 1 2 3 4 และ 5 เมื่อนำสารทั้ง 5 สาร ไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค UV IR และ NMR พบว่า สเปกตรัม UV และ IR ของสารทั้ง 5 สารมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน มีแถบการสั่นและการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกับที่มีรายงานในวารสารวิชาการ นอกจากนี้สเปกตรัม NMR ยังปรากฏสัญญาณที่ค่า Chemical shift ต่าง ๆ คล้ายกับสารประกอบแซนโทน

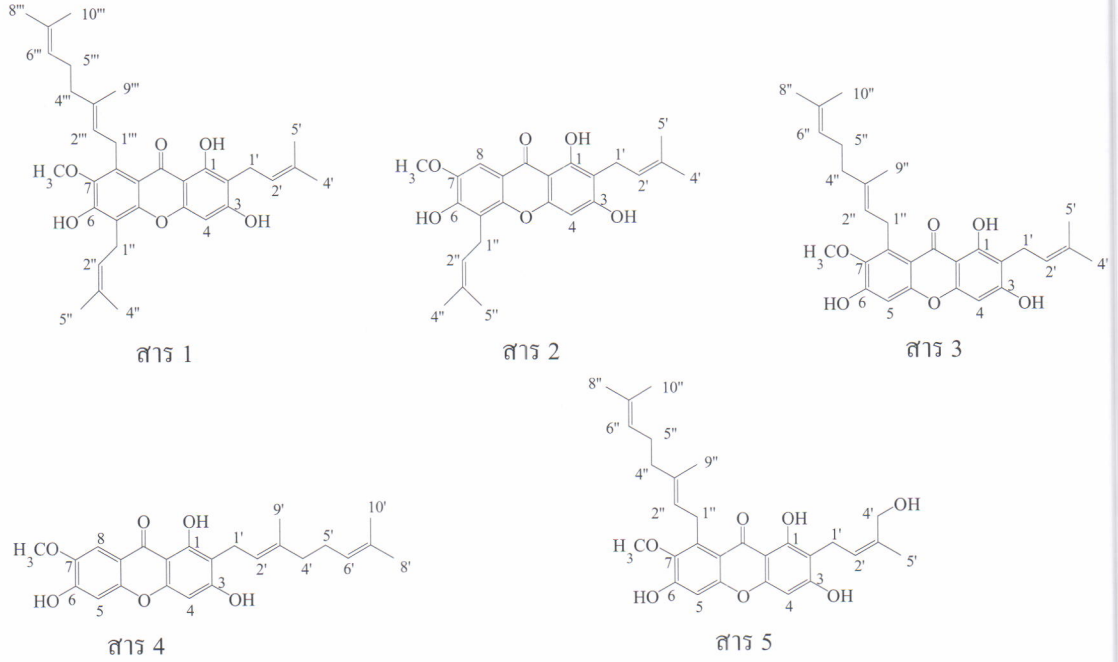
ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงและสารบริสุทธิ์ 1 3 4 และ 5

สารตัวอย่าง	ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (MIC, μg/mL)		
	B.cereus	*B.subtilis*	*S.aureus*
น้ำยางชะมวง	190	390	780
สาร 1	> 150	> 150	> 150
สาร 3	4.68	9.37	37.50
สาร 4	18.75	2.34	75.00
สาร 5	18.75	9.37	18.75
Vancomycin	0.58	0.58	1.17

ที่พบในน้ำยางชะมวงซึ่งได้มีการรายงานเอาไว้ในวารสารวิชาการ ประกอบกับสารมีค่าจุดหลอมเหลวที่ใกล้เคียงกับค่าที่ได้มีการรายงาน จึงสรุปได้ว่า สาร 1 คือ Cowagarcinone A [5] สาร 2 คือ 1,3,6 -trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis (3-methyl-2-butenyl) xanthone [3] สาร 3 คือ Cowanin [3] สาร 4 คือ Cowaxanthone[3] และ สาร 5 คือCowanol[3] แสดงดังภาพที่ 1

เมื่อนำสาร 1 3 4 และ 5 มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *B.cereus B.subtilis* และ *S.aureus* (ไม่นำสาร 2 มาทดสอบเนื่องจากปริมาณสารมีไม่เพียงพอ) โดยเปรียบเทียบกับ Vancomycin พบว่า สาร 1 (Cowagarcinone A) ที่ความเข้มข้น 150 μg/mL ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่ศึกษา สาร 3 (Cowanin) ยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *B.subtilis* ได้ในระดับค่อนข้างดี ด้วยค่า MIC 4.68 และ 9.37 μg/mL ตามลำดับ และยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ได้ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC 37.50 μg/mL สาร 4 (Cowaxanthone) ยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ได้ในระดับดี ด้วยค่า MIC 2.34 μg/mL และยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *S.aureus* ได้ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC 18.75 และ 75.00 μg/mL ตามลำดับ และสาร 5 (Cowanol) ยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ด้วยค่า MIC 9.37μg/mL และยับยั้งเชื้อ *B.cereus* และ *S.aureus* ได้ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC 18.75 μg/mL ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B.cereus* ของสารบริสุทธิ์ 3-5 ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Promgool [8] และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ของสารบริสุทธิ์ 3-5 ให้ผลสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Na Pattalung [3] และ Promgool [8]

จากประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก *B.cereus B.subtilis* และ *S.aureus* จะเห็นว่าส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงสามารถยับยั้ง



ภาพที่ 1 สารประกอบแซนโทนที่พบในน้ำยางชะมวง (สาร 1, สาร 2, สาร 3, สาร 4 และ สาร 5)

เชื้อแบคทีเรียได้น้อยกว่าสารบริสุทธิ์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารที่อยู่ในส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงมีสารหลายสารอยู่รวมกัน ซึ่งสารบางตัวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ในขณะที่สารบางตัวไม่ออกฤทธิ์ยับยั้ง โดยสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงน่าจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบน้ำยางชะมวงมีน้อยกว่าสารบริสุทธิ์ โดยสารบริสุทธิ์ที่นำมาศึกษาประสิทธิภาพในการต้าน *B.cereus B.subtilis* และ *S.aureus* ล้วนเป็นสารประเภทแซนโทน แต่มีหมู่แทนที่มาเกาะที่ตำแหน่งต่างๆ บนวงแหวนแตกต่างกัน ปัจจัยดังกล่าวน่าจะมีผลทำให้สารแต่ละตัวแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีแตกต่างกันด้วย โดยสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *B.subtilis* ได้ในระดับที่น่าพอใจที่สุด ซึ่งเชื้อชนิดนี้น่าจะมีความว่องไวต่อสารทดสอบมากกว่าเชื้อชนิดอื่น และผู้วิจัยคาดว่าสารเหล่านี้น่าจะต้านการเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่นได้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยทักษิณที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณที่อนุเคราะห์การใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณ คุณสาวิตรี อินทรพันธ์ และ คุณปนัดดา พรหมรักษ์ ที่ช่วยเหลืองานด้านการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ซึ่งทำให้การวิจัยสำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

[1] Mahabusarakam, W., Wiriyachitra, P. and Phongpichit, S. (1986). Antibacterial Activities of Chemical Constituents from *Garcinia mangostana* Linn. **J.Sci.Soc. Thailand. 12**, 239-242.

[2] Panthong. K., Pongcharoen, W., Phongpaichit, S. and Taylor, W.C. (2006). Tetraoxygenated xanthones from the fruits of *Garcinia cowa*. **Phytochemistry. 67**, 999-1004.

[3] Na Pattalung, P., Thongtheeraparp, W., Wiriyachitra, P. and Taylor, W.C. (1994). Xanthones of *Garcinia cowa*. **Planta Med. 60**, 365-368.

[4] Ilham, M., Yaday, M. and Norhanom, A.W. (1995). Tumor promothing activity of plants used in Malaysian traditional medicine. **Nat. Prod. Sci. 1**, 31-42.

[5] Mahabusarakam, W., Chairerk, P. and Taylor, W.C. (2005). Xanthones from *Garcinia cowa* Roxb. Latex. **Phytochemistry. 66(10)**, 1148-1153.

[6] Likhitwitayawuid, K., Phadungchroen,T. and Krungkrai, J. (1998). Antimalarial xanthones from *Garcinia cowa*. **Planta Med. 64**, 70-72.

[7] Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. (2008). Antibacterial activity of the extracts from fruit rinds of *Garcinia cowa* and *Garcinia pedunculata* against food borne pathogens and spoilage bacteria. **LWT-Food Science and Technology. 41**, 1857-1861.

[8] Promgool, T., Treesub, M. and Deachathai, S. (2008). Chemical Constituents from the Roots of *Garcinia cowa* Roxb., Antimicrobial and Antioxidation Properties. **34th Congress on Science and Technology of Thailand.** C3_C0045.