บทความวิจัย

การสังเคราะห์สารแมงโกสตินแอนะล็อกบางชนิด และฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

พยุง เจียรวาปี[1] สร้อยคำ กัญจนวัตตะ[2] นันทนา อรุณฤกษ์[1] และ สุนิตย์ สุขสำราญ[1*]

บทคัดย่อ

ในการสังเคราะห์สารแมงโกสตินแอนะล็อกเพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าปฏิกิริยา alkylation และ acylation ของสาร α-mangostin (**1**) เกิดที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C-3 และ C-6 ให้ผลิตภัณฑ์ชนิด 6-monosubstituted mangostin และ 3,6-disubstituted mangostin เมื่อนำสารอนุพันธ์ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ พบว่าเฉพาะสาร 6-monosubstituted mangostin **2, 4, 6** และ **8** เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่ค่า MIC 0.39-100 μg/mL และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่ค่า MIC 12.5-25 μg/mL โดยที่สาร **2, 4** และ **6** แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Corynebacterium diphtheriae* (MIC 0.39-0.78 μg/mL) ได้ดีกว่าสารตั้งต้น **1** (MIC 1.56 μg/mL) 2-4 เท่า และดีกว่าสารควบคุม vancomycin (MIC 1 μg/mL) แต่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus pnuemoniae, Enterococcus faecalis* ATCC 27213, *Bacillus subtilis* ATCC 26633 และ *Bordetella pertussis* อ่อนกว่าสารตั้งต้นแซนโทน **1** ประมาณ 2 เท่า และในบางกรณีดีกว่าสารควบคุม vancomycin

คำสำคัญ: แอลฟา-แมงโกสตินแอนะล็อก แซนโทน ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย การสังเคราะห์

[1]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

[2]ภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

[*]ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: sunit@swu.ac.th

Synthesis of Some Mangostin Analogues and Their Antibacterial Activity

Payung Jiarawapi[1], Soycom Kunchanawatta[1], Nantana Aroonlerk[2] and Sunit Suksamrarn[1*]

ABSTRACT

A number of mangostin analogues were synthesized for their antibacterial activity study. Alkylation and acylation reactions of α-mangostin (**1**) at C-3 and C-6 hydroxyl groups of the mangostin nucleus gave both the 6-mono and 3,6-disubstituted mangostin products. All synthesized mangostin analogues were subjected to antibacterial activity screenings. The results showed that only the 6-monosubstituted products **2, 4, 6** and **8** were found to be active against gram-positive and gram-negative bacteria with MIC values of 0.39-100 μg/mL and 12.5-25 μg/mL, respectively. The monoalkylated mangostins **2, 4** and **6** exhibited 2-4 folds more potent against *Corynebacterium diphtheriae* with MICs 0.39-0.78 μg/mL than the natural mangostin **1** (MIC 1.56 μg/mL) and the positive control vancomycin (MIC 1 μg/mL). The antibacterial properties of compounds **2, 4** and **6** towards *Streptococcus pnuemoniae, Enterococcus faecalis* ATCC 27213, *Bacillus subtilis* ATCC 26633 and *Bordetella pertussis* were about 2 folds less active than that of the mother xanthone **1** but were more potent than the control vancomycin in some cases.

Keywords: α-mangostin analogue, xanthone, antibacterial activity, synthesis

[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

[2]Department of Stomatology, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

[*]Corresponding author, e-mail: sunit@swu.ac.th

บทนำ

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นไม้ผลเขตร้อน ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย [1] นอกจากเป็นที่ทราบกันว่าผลมังคุดเป็นราชินีของผลไม้ มังคุดยังเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้เปลือกผลรักษาแผลเป็นหนอง แผลเปื่อย และแก้ท้องร่วง [2] จากรายงานการวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดพบ prenylated xanthone เป็นส่วนใหญ่ [3] โดยมี α-mangostin เป็นสารแซนโทนหลัก ซึ่งสารในกลุ่มนี้แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น มีสมบัติการต้าน HIV-1 protease [4] ทำหน้าที่เป็นสาร antioxidant [5] มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา [6] ยับยั้งเอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส I และ II [7] ยับยั้งการสังเคราะห์ cyclooxygenase และ prostaglandin E_2 ในเซลล์หนู [8] สามารถจับกับ histaminergic และ serotonergic receptor [9] ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ wheat embryo calcium-dependent protein kinase และ kinase อื่นๆ [10] เอนไซม์ acidic sphingomyelinase [11] และเอนไซม์ Ca^{2+}- ATPase [12] เป็นต้น

จากงานวิจัยของกลุ่มผู้วิจัยได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ของ prenylated xanthones ที่แยกได้จากมังคุด พบว่า α-mangostin (**1**), β-mangostin และ garcinone B สามารถยับยั้งได้ดีที่สุดที่ค่า minimum inhibitory concentration (MIC) เท่ากัน คือ 6.25 μg/mL [13] นอกจากนี้มีรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การยับยั้งจุลชีพของมังคุด พบว่าสารสกัดชั้นเบนซีนของเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* NIHJ 209p strain ที่ค่า MIC 80 μg/mL [14] และสารสกัดชั้นน้ำ-เมทานอล มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ได้เล็กน้อย [15] และยังมีผู้รายงานสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* คือ สารผสมระหว่างสาร α-mangostin และ γ-mangostin มีค่า MIC_{90} 1.48 μg/mL ซึ่งมีค่าเท่ากับยา vancomycin ในขณะที่สาร α-mangostin และ γ-mangostin ซึ่งมีค่า MIC_{90} 3.12 μg/mL และ 2.26 μg/mL ตามลำดับ [16] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารแมงโกสตินแอนะล็อก และหากสามารถสังเคราะห์ได้ แมงโกสตินแอนะล็อกที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ดีกว่าเดิมจะเป็นสิ่งที่ดีอย่างยิ่งในแง่ของการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะสังเคราะห์แอนะล็อกของสาร α-mangostin (**1**) เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

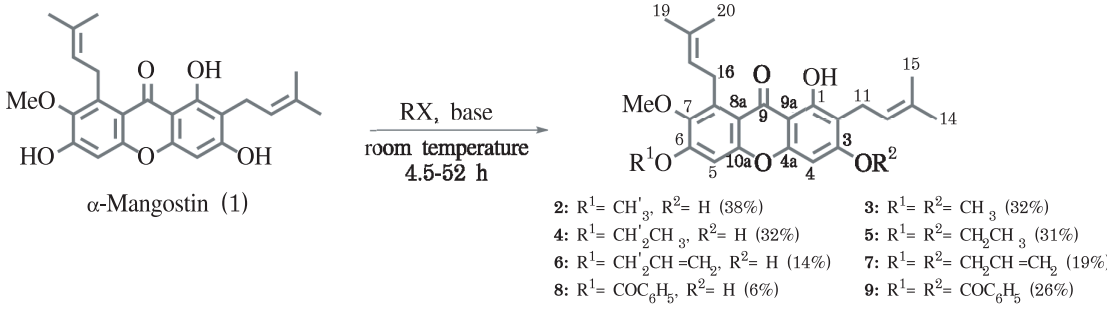
สาร α-mangostin (**1**) ได้จากการสกัดแยกจากผลมังคุดอ่อนแห้ง โดยใช้วิธีตามที่เคยได้รายงานไว้แล้ว [17] สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิด analytical grade (จากบริษัท Acros organic, Fluka, Carlo Erba หรือ Merck) ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone, dichloromethane, ethyl acetate, hexane และ methanol ทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการกลั่น สารควบคุม vancomycin (จากบริษัท Aldrich) silica gel สำหรับ column chromatography (ขนาด 0.063-0.200 mm และ < 0.063 mm) และ centrifugal chromatography (ขนาด < 0.045 mm) ใช้ของ Merck การบันทึกค่า R_f ของสารใช้แผ่น precoated silica gel 60 GF_{254} และการหาตำแหน่งของสารบน TLC โดยใช้หลอดกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 356 nm และ anisaldehyde agent โดยนำไปทาบนแผ่น TLC แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 80-120°C นาน 1 นาที ซึ่งจะปรากฏเป็นสีเขียว การบันทึกจุดหลอมเหลวใช้เครื่อง Griffin การบันทึกข้อมูล IR spectrum ใช้เครื่อง Perkin Elmer FT-IR spectrum BX

spectrophotometer ในสภาพ KBr disc การบันทึกข้อมูล ^{1}H- และ ^{13}C-NMR ใช้เครื่อง Bruker Avance 300 FT-NMR spectrometer ที่ 300 MHz สำหรับ ^{1}H-NMR spectrum และที่ 75 MHz สำหรับ ^{13}C-NMR spectrum โดยเทียบกับสัญญาณของตัวทำละลาย $CDCl_3$ ที่ δ_H 7.24 และ δ_C 77.00 ppm ใน ^{1}H- และ ^{13}C-NMR spectrum ตามลำดับ และ Mass spectrum บันทึกด้วยเครื่อง Finnigan LC-Q mass spectrometer และ Bruker Daltonics mass spectrometer

วิธีการทดลอง

วิธีทั่วไปในการเตรียมสาร 2-9

ละลายสาร **1** (0.37 mmol) ในตัวทำละลาย acetone (1 mL) เติมเบส เช่น potassium carbonate (0.37 mmol) และเติม alkylating หรือ acylating agent (RX, 0.7 mmol) ทำการกวนที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 1) ติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดให้เทส่วนผสมของปฏิกิริยาลงในน้ำ แล้วสกัดสารละลายด้วย EtOAc (3 × 10 mL) ล้างสารละลายชั้น EtOAc ด้วยน้ำกลั่น (2 × 10 mL) ตามด้วยการกำจัดน้ำ โดยใช้ anhydrous sodium sulfate แล้วระเหยตัวทำละลายให้แห้ง ทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี



รูปที่ 1 แสดงการสังเคราะห์สารอนุพันธ์แมงโกสตินแอนะล็อก

การเตรียมสาร 6-*O*-methylmangostin (2) และ 3,6-di-*O*-methylmangostin (3)

ละลายสาร **1** (152 mg, 0.37 mmol) ในตัวทำละลาย acetone (1 mL) เติม potassium carbonate (51 mg, 0.37 mmol) และเติม methyl iodide (0.1 mL, 1.48 mmol) ทำการกวนที่อุณหภูมิห้องนาน 23 ชั่วโมง เทส่วนผสมของปฏิกิริยาลงในน้ำ สกัดสารละลายด้วย EtOAc (3 × 10 mL) ล้างสารละลายชั้น EtOAc ด้วยน้ำกลั่น (2 × 10 mL) ตามด้วยการกำจัดน้ำด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วระเหยตัวทำละลายให้แห้ง ทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (SiO_2 < 0.0063 mm) ใช้ระบบชะ 5% EtOAc-hexane เพิ่มขั้วระบบชะละ 2% ได้สาร 6-*O*-methylmangostin (**2**) (61 mg, 38%) และสาร 3,6-di-*O*-methylmangostin (**3**) (53 mg, 32%)

6-*O*-methylmangostin (**2**): ของแข็งสีเหลืองอ่อน; mp. 95-97°C; IR (KBr) V_{max}: 3412, 2915, 1649, 1610, 1462, 1382, 1278, 1213 และ 1101 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.65(3H, s, H-20), 1.75(3H, s, H-15), 1.82(6H, s, H-14, H-19), 3.43(2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-11), 3.77(3H, s, 7-OMe), 3.93(3H, s, 6-OMe), 4.10(2H, d, *J* = 6.4 Hz, H-16),

5.23(2H, m, H-12, H-17), 6.22(1H, s, 3-OH), 6.26(1H, s, H-4), 6.72(1H, s, H-5) และ 13.82(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.8(C-14), 18.1(C-19), 21.4(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.1(C-16), 55.9(6-OMe), 60.9(7-OMe), 93.1(C-4), 98.1(C-5), 104.3(C-9a), 108.4(C-2), 111.9(C-8a), 121.4(C-12), 123.1(C-17), 131.8(C-18), 136.0(C-13), 137.5(C-8), 143.5(C-7), 155.0(C-4a), 155.4(C-10a), 158.1(C-6), 160.6(C-1), 161.5(C-3) และ 182.0(C-9); ESMS (+ve) *m/z*: 447(100) $[M+Na]^+$ ข้อมูลของสาร **2** นี้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้แล้ว [18]

3,6-di-*O*-methylmangostin (**3**): ของแข็งสีเหลืองอ่อน; mp. 93-95°C; IR (KBr) V_{max}: 3434, 2926, 1646, 1595, 1458, 1429, 1281, 1213, 1173 และ 1119 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.67(6H, s, H-15, H-20), 1.79(3H, s, H-14), 1.84(3H, s, H-19), 3.34(2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-11), 3.79(3H, s, 7-OMe), 3.89(3H, s, 3-OMe), 3.95(3H, s, 6-OMe), 4.12(2H, d, *J* = 6.3 Hz, H-16), 5.20(1H, br t, *J* = 6.9 Hz, H-12), 5.23(1H, br t, *J* = 6.3 Hz, H-17), 6.30(1H, s, H-4), 6.72(1H, s, H-5) และ 13.48(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.7(C-14), 18.1(C-19), 21.3(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.1(C-16), 55.7(6-OMe), 55.9(3-OMe), 60.9(7-OMe), 88.6(C-4), 98.1(C-5), 103.7(C-9a), 111.4(C-2), 112.0(C-8a), 122.3(C-12), 123.2(C-17), 131.7(C-13, C-18), 137.2(C-8), 143.9(C-7), 155.1(C-4a, C-10a), 158.0(C-6), 159.7(C-1), 163.3(C-3) และ 181.9(C-9); ESMS (+ve) *m/z*: 439(100) $[M+H]^+$ ข้อมูลของสาร 3 นี้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้แล้ว [19]

การเตรียมสาร 6-*O*-diethylmangostin (4) และ 3,6-di-*O*-ethylmangostin (5)

ใช้วิธีเดียวกับการเตรียมสาร **2** แต่ใช้สาร **1** (101 mg, 0.24 mmol) เติม potassium carbonate (75 mg, 0.54 mmol) ในตัวทำละลาย *N,N*-dimethylformamide (2 mL) และ diethyl sulfate (0.1 mL, 0.77 mmol) กวนที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เมื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโท-กราฟีใช้ระบบชะ 100% hexane-10% acetone-hexane ได้สาร **4** (35 mg, 32%) และสาร **5** (36 mg, 31%)

6-*O*-ethylmangostin (**4**): ของแข็งสีเหลือง; mp. 135-136°C; IR (KBr) V_{max}: 3409, 2922, 1643, 1598, 1464, 1426, 1372, 1279, 1200 และ 1111 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.50(3H, t, *J* = 6.9 Hz, H-2'), 1.65(3H, s, H-19), 1.75(3H, s, H-14), 1.82(6H, s, H-20, H-15), 3.43(2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-11), 3.78(3H, s, 7-OMe), 4.10(2H, d, *J* = 6.7 Hz, H-16), 4.13(2H, q, *J* = 6.9 Hz, H-1'), 5.22(1H, m, H-17), 5.27(1H, m, H-12), 6.21(1H, br s, 3-OH), 6.25(1H, s, H-4), 6.68(1H, s, H-5) และ 13.85(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 14.5(C-2'), 17.9(C-15), 18.1(C-19), 21.4(C-11), 25.8(C-14), 25.9(C-20), 26.2(C-16), 62.7(7-OMe), 64.4(C-1'), 93.1(C-4), 98.7(C-5), 103.7(C-9a), 108.3(C-2), 111.7(C-8a), 121.4(C-12), 123.2(C-17), 131.7(C-18), 135.7(C-13), 137.1(C-8), 144.0(C-7), 155.0(C-4a), 155.3(C-10a), 157.4(C-6), 160.6(C-1), 161.4(C-3) และ 182.1(C-9); ESMS (-ve) *m/z*: 437(100) $[M- H]^-$

3,6-di-*O*-ethylmangostin (**5**): ของแข็งสีเหลืองอ่อน; mp. 114-115°C; IR (KBr) V_{max}: 3448, 2918, 1642, 1596, 1467, 1433, 1387, 1279, 1204 และ 1121 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.44(3H, t, *J* = 6.9 Hz, H-2'), 1.50(3H, t, *J* = 6.9 Hz, H-2"), 1.66(6H, s, H-19, H-14), 1.78(3H, s, H-15), 1.83(3H, s, H-20), 3.33(2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-11), 3.78(3H, s, 7-OMe), 4.06(2H, q, *J* = 6.9 Hz, H-1'), 4.10(2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-16), 4.12(2H, q, *J* = 6.9 Hz, H-1"), 5.23(2H, m, H-12, H-17), 6.24(1H, s, H-4), 6.66(1H, s, H-5) และ 13.47(1H, s, 1-OH) ข้อมูล ^{1}H NMR นี้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้แล้ว [6]; ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 14.5(C-2"), 14.6(C-2'), 17.8(C-15), 18.1(C-20), 21.4(C-11), 25.8(C-19, C-14), 26.1(C-16), 60.7(7-OMe), 64.0(C-1'), 64.4(C-1'), 89.2(C-4), 98.6(C-5), 103.8(C-9a), 111.4(C-2), 111.8(C-8a), 122.4(C-12), 123.3(C-17), 131.2(C-13), 131.6(C-18), 137.1(C-8), 144.0(C-7), 155.1(C-4a), 155.2(C-10a), 157.2(C-6), 159.8(C-1), 162.7(C-3) และ 181.9(C-9); ESMS (+ve) *m/z*: 489(100) $[M+Na]^+$

การเตรียมสาร 6-*O*-allylmangostin (6) และ 3,6-di-*O*-allylmangostin (7)

ใช้วิธีเดียวกับการเตรียมสาร **2** แต่ใช้สาร **1** (100 mg, 0.24 mmol) ในตัวทำละลาย acetone (1 mL) potassium carbonate (33 mg, 0.24 mmol) และ allyl bromide (0.06 mL, 0.73 mmol) ทำการกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 52 ชั่วโมง เมื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ระบบชะ 2% EtOAc-hexane เพิ่มขึ้นระบบชะละ 2% พบว่าได้สาร 6-*O*-allylmangostin (**6**) (16 mg, 14%) และสาร 3,6-di-*O*-allylmangostin (**7**) (23 mg, 19%)

6-*O*-allylmangostin (**6**): ของแข็งสีเหลืองอ่อน; mp. 82-84°C; IR (KBr) V_{max}: 3398, 2918, 1638, 1595, 1465, 1429, 1372, 1278, 1202 และ 1116 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.60(3H, s, H-20), 1.74(3H, s, H-15), 1.82(6H, s, H-14, H-19), 3.43(2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-11), 3.79(3H, s, 7-OMe), 4.09(2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-16), 4.65(2H, d, *J* = 5.0 Hz, H-1'), 5.28(2H, m, H-12, H-17), 5.33(1H, br d, *J* = 16.3 Hz, H-3'$_{trans}$), 5.46(1H, d, *J* = 11.4 Hz, H-3'$_{cis}$), 6.10(1H, m, H-2'), 6.26(1H, s, H-4), 6.28(1H, s, 3-OH), 6.70(1H, s, H-5) และ 13.82(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.9(C-14), 18.1(C-19), 21.4(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.2(C-16), 60.8(7-OMe), 69.4(C-1'), 93.1(C-4), 97.9 (C-5), 103.7(C-9a), 107.9(C-8a), 108.4(C-2), 118.4(C-3'), 121.4(C-12), 123.1(C-17), 131.8(C-18), 131.9(C-13), 136.5(C-2'), 137.4(C-8), 144.1(C-7), 155.0(C-4a), 155.2(C-10a), 156.9(C-6), 160.6(C-1), 161.5(C-3) และ 182.0(C-9); HRFAB-MS (+ve) *m/z*: 451.2120 $[M+H]^+$ (คำนวณ สำหรับ $C_{27}H_{30}O_6$+H, 451.2118) ข้อมูลของสาร **6** นี้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้แล้ว [18].

3,6-di-*O*-allylmangostin (**7**): ของกึ่งแข็งสีเหลืองอ่อน; IR (KBr) V_{max}: 3387, 2922, 1643, 1598, 1464, 1426, 1372, 1279, 1200 และ 1111 cm^{-1} ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.65(6H, s, H-15, H-20), 1.77(3H, s, H-14), 1.82(3H, s, H-19), 3.38(2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-11), 3.79(3H, s, 7-OMe), 4.09(2H, s, *J* = 7.3 Hz, H-16), 4.61(2H, d, *J* = 4.9 Hz, H-1'), 4.65(2H, d,

J = 5.0 Hz, H-1"), 5.26(1H, m, H-12), 5.40(1H, m, H-17), 5.41(4H, m, H-3', H-3"), 6.08(2H, m, H-2', H-2"), 6.26(1H, s, H-4), 6.67(1H, s, H-5) และ 13.47(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.9(C-14), 18.1(C-19), 21.4(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.1(C-16), 60.8(7-OMe), 69.0(C-1'), 69.4(C-1"), 89.5(C-4), 99.2(C-5), 104.0(C-9a), 112.7(C-2), 112.1(C-8a), 117.7(C-3'), 118.4(C-3"), 122.3(C-12), 123.2(C-17), 131.5(C-13), 131.7(C-18), 131.9(C-2'), 132.5(C-2"), 137.4(C-8), 144.1(C-7), 155.0(C-4a), 155.1(C-10a), 156.8(C-6), 159.9(C-3), 162.2(C-1) และ 181.9(C-9); ESMS (+ve) *m/z*: 513(100) $[M+Na]^+$ ข้อมูลของสาร **7** นี้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้แล้ว [6].

การเตรียมสาร 6-*O*-benzoylmangostin (8) และ 3,6-di-*O*-benzoylmangostin (9)

ใช้วิธีเดียวกับการเตรียมสาร **2** แต่ใช้สาร **1** (205 mg, 0.5 mmol) ใน pyridine (1 mL) และ benzoic acid anhydride (0.27 mL, 1.42 mmol) กวนที่อุณหภูมิห้อง 17 ชั่วโมง 30 นาที ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค centrifugal chromatography ใช้ระบบชะ 5% EtOAc-hexane อัตราการไหล 2.2 mL/min ได้สาร 6-*O*-benzoylmangostin (**8**) (17 mg, 6%) และสาร 3,6-di-*O*-benzoylmangostin (**9**) (81 mg, 26%)

6-*O*-benzoylmangostin (**8**): ของแข็งสีเหลือง; mp. 188-190°C; IR (KBr) V_{max}: 3423, 2923, 1752, 1645, 1607, 1462, 1382, 1260, 1183 และ 1149 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.67(3H, s, H-20), 1.75(3H, s, H-15), 1.81(3H, s, H-14), 1.82(3H, s, H-19), 3.44(2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-11), 3.76(3H, s, 7-OMe), 4.15(2H, d, *J* = 6.0 Hz, H-16), 5.26(2H, br t, *J* = 6.0 Hz, H-12, H-17), 6.27(1H, s, H-4), 7.22(1H, s, H-5), 7.56(2H, br t, *J* = 7.4 Hz, H-4', H-6'), 7.70(1H, br t, *J* = 7.3 Hz, H-5'), 8.23(2H, d, *J* = 7.4 Hz, H-3', H-7") และ 13.58 (1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.9(C-14), 18.2(C-19), 21.4(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.4(C-16), 61.8(7-OMe), 93.3(C-4), 103.8(C-9a), 108.8(C-2), 110.5(C-5), 116.9(C-8a), 121.4(C-12), 122.9(C-17), 128.5(C-2'), 128.8(C-4', C-6'), 130.4(C-3', C-7'), 132.1(C-18), 134.1(C-5'), 135.4(C-13), 139.0(C-8), 146.6(C-7), 149.0(C-6), 153.8(C-10a), 154.9(C-4a), 160.9(C-1), 162.0(C-3), 164.2(C-1') และ 182.1(C-9); HRFAB-MS (+ve) *m/z*: 515.2058 $[M+H]^+$ (คำนวณ สำหรับ $C_{31}H_{29}O_7$+H, 515.2070)

3,6-di-*O*-benzoylmangostin (**9**): ของแข็งสีเหลือง; mp. 85-86°C; IR (KBr) V_{max}: 3445, 2958, 1743, 1606, 1455, 1426, 1253, 1173, 1144, 1116 และ 1096 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.71(6H, s, H-15, H-20), 1.84(6H, s, H-14, H-19), 3.39(2H, d, *J* = 6.7 Hz, H-11), 3.79(3H, s, 7-OMe), 4.19(2H, s, *J* = 6.0 Hz, H-16), 5.22(2H, br t, *J* = 6.0 Hz, H-12, H-17), 6.78(1H, s, H-4), 7.29(1H, s, H-5), 7.54(2H, m, H-4', H-6'), 7.55(2H, m, H-4", H-6"), 7.68(2H, m, H-5', H-5"), 8.23(4H, m, H-3', H-3", H-7', H-7"), และ 13.49(1H, s, 1-OH); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.7(C-14), 18.2(C-19), 22.3(C-11), 25.8(C-15, C-20), 26.5(C-16), 61.9(7-OMe), 100.5(C-4), 107.2(C-9a), 110.7(C-5), 116.5(C-2), 116.9(C-8a),

121.4(C-12), 122.6(C-17), 128.6(C-2'), 128.8(C-2"), 128.9(C-4', C-4", C-6', C-6"), 130.3(C-3', C-3", C-7', C-7"), 132.3(C-13, C-18), 133.9(C-5"), 134.1(C-5'), 139.1 (C-8), 146.9(C-7), 149.7(C-6), 155.3(C-1), 153.8(C-4a), 154.1(C-10a), 161.0(C-3), 163.9(C-1"), 164.2(C-1') และ 182.9(C-9); ESMS (+ve) *m/z*: 619(100) $[M+H]^+$

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ใช้วิธี Disc diffusion ตามรายงานของ Bauer [20]

ผลการทดลอง

ปฏิกิริยา alkylation และ acylation ระหว่างสาร **1** กับ alkylating agent (methyl iodide, diethyl sulfate หรือ allyl bromide) กับ acylating agent (benzoic acid anhydride) กับ base (potassium carbonate หรือ pyridine) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที-52 ชั่วโมง เมื่อนำมาแยก และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี และนำสารที่แยกได้มาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC, NMR และ MS พบว่าได้สารอนุพันธ์แมงโกสติน 8 ชนิด (สาร **2-9**) และนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Streptococcus mileri* group, *Streptococcus sobrinus, Streptococcus pnuemoniae, Staphylococcus aureus* ATTCC 25923, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis* ATCC 27213, *Bacillus subtilis* ATCC 26633, *Corynebacterium diphtheriae* และแบคทีเรียแกรมลบ *Bordetella pertussis* ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสาร **1, 2, 4, 6** และ **8**

Bacteria	MIC (μg/mL)					
	1	**2**	**4**	**6**	**8**	**vancomycin**
***gram*-positive**						
Streptococcus mileri group	6.25	100	100	100	12.5	4
Streptococcus sobrinus	12.5	100	100	100	12.5	6
Streptococcus pnuemoniae	3.12	6.25	6.25	6.25	100	3
Staphylococcus aureus ATTCC 25923	3.12	25	25	100	100	8
Staphylococcus aureus (MRSA)	3.12	25	25	25	100	8
Enterococcus faecalis ATCC 27213	3.12	6.25	6.25	6.25	100	32
Bacillus subtilis ATCC 26633	1.56	3.13	3.13	6.25	100	< 6
Corynebacterium diphtheriae	1.56	0.39	0.39	0.78	100	1
***gram*-negative**						
Bordetella pertussis	12.5	25	12.5	25	25	< 3

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง NMR สเปกโทรสโกปีของสารแมงโกสตินแอนะล็อกที่สังเคราะห์ได้ในร้อยละของผลิตภัณฑ์ 6-38 พบว่าสาร **2, 4, 6** และ **8** เป็นผลิตภัณฑ์ชนิด 6-monosubstituted mangostin และสาร **3, 5, 7** และ **9** เป็นสารชนิด 3,6-disubstituted mangostin ข้อมูล 2D-NMR ในสาร **2, 4,** และ **6** พบความสัมพันธ์แบบ HMBC ระหว่าง C-6 กับ H-1′ ส่วนในกรณีของสาร **8** พบความสัมพันธ์แบบ NOESY ระหว่าง H-5 กับ โปรตอนในหมู่ 6-$OCOC_6H_5$ ซึ่งเป็นการยืนยันว่าสาร **2, 4, 6** และ **8** เป็นสารชนิด 6-monosubstituted mangostin เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่ามีเพียงสารที่เป็น 6-monosubstituted mangostin คือ สาร 6-*O*-methylmangostin (**2**), 6-*O*-ethylmangostin (**4**), 6-*O*-allylmangostin (**6**) และ 6-*O*-benzoylmangostin (**8**) เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย โดยแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่ค่า MIC 0.39-100 μg/mL และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่ค่า MIC 12.5-25 μg/mL (แสดงดังตารางที่ 1) ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เป็น 3,6-disubstituted mangostin (**3, 5, 7, 9**) ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย (MIC 84-100 μg/mL) โดยที่สาร 6-monoalkylated mangostin **2, 4** และ **6** แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Corynebacterium diphtheriae* (MIC 0.39-0.78 μg/mL) ได้ดีกว่าสารตั้งต้น **1** (MIC 1.56 μg/mL) 2-4 เท่า และดีกว่าสารควบคุม vancomycin (MIC 1 μg/mL) แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (MIC 3.13-6.25 μg/mL) ได้ดีเทียบเท่ากับ vancomycin (MIC < 6 μg/mL) และแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* (MIC 6.25 μg/mL) ดีกว่า vancomycin (MIC 32 μg/mL) แต่ไม่ดีเทียบเท่าสารตั้งต้น **1** (MIC 3.12 μg/mL) ส่วนสาร **8** ซึ่งเป็นชนิด 6-monoacylated แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียเพียง 2 ชนิด คือ *Streptococcus mileri* group และ *Streptococcus sobrinus* (MIC 12.5 μg/mL) ในขณะที่สารชนิด 6-monoalkylated สาร **2, 4** และ **6** ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ (MIC 100 μg/mL) สาร **4** แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *Bordetella pertussis* (MIC 12.5 μg/mL) ได้เทียบเท่ากับสาร **1** (MIC 12.5 μg/mL) จากผลของการยับยั้งแบคทีเรียนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าสารอนุพันธ์ 6-monoalkylated mangostin แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสารอนุพันธ์ 3,6-dialkylated mangostin มาก และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3 อาจมีความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ทุนส่งเสริมกลุ่มนักวิจัยอาชีพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติในการให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย (ศาสตราจารย์ ดร.อภิชาต สุขสำราญ) และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในการให้ทุนสนับสนุนการทำปริญญานิพนธ์สำหรับบัณฑิตในระดับบัณฑิตศึกษาจากงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2553 แก่ นายพยุง เจียรวาปี

เอกสารอ้างอิง

1. Seymour, G. B., Taylor, J. E., and Tucker, G. A. 1993. Biochemistry of Fruit Ripening. London. Champman & Hall. p 152.
2. นันทวัน บุญยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. สมุนไพรพื้นบ้าน(3). กรุงเทพฯ. ประชาชน. หน้า 149-761.
3. Peres, V., Nagem, T. J., and Oliveira, F. F. 2000. Tetraoxygenated Naturally Occurring Xanthones. *Phytochemistry* 55(7): 683-710.
4. Chen, S., Wan, M., and Loh, B. 1996. Active Constituents Against HIV-1 Protease from *Garcinia mangostana. Planta Medica* 62(4): 381-382.
5. Fan, C., and Su, J. 1997. Antioxidative Mechanism of Isolated Components from Methanol Extract of Fruit Hull of *Garcinia mangostana. Journal of Chinese Agricultural Chemical Society* 35(5): 540-551.
6. Gopalakrishnan, G., Banumathi, B., and Suresh, G. 1997. Evaluation of the Antifungal Activity of Natural Xanthones from *Garcinia mangostana* and Their Synthetic Derivatives. *Journal of Natural Products* 60(5): 519-524.
7. Tosa, H., Iinuma, M., Tanaka, T., Nozaki, H., Ikeda, S., Tsutsui, Ke., Tsutsui, Ki. Yamada, M., and Fujimori, S. 1997. Inhibitory Activity of Xanthone Derivatives Isolated from some Guttiferaeous Plants against DNA Topoisomerases I and II. *Chemical and Pharmaceutical* Bulletin 45(2): 418-420.
8. Nakatani, K., Nakahata, N., Arakawa, T., Yasuda, H., and Ohizumi, Y. 2002. Inhibitory of Cyclooxygenase and Prostaglandin E2 Synthesis by γ-Mangostin, a Xanthone Derivative in Mangosteen, in C6 Rat Glioma Cells. *Biochemical Pharmacology* 63: 73-79.
9. Chairungsrilerd, N., Furukawa, K., Ohta, T., Nozoe, S., and Ohizumi, Y. 1996. Histaminergenic and Serotonergic Receptor Blocking Substances from the Medicinal Plant *Garcinia mangostana. Planta Medica* 62(5): 471-472.
10. Jinsart, W., Ternai, B., Buddhasukh, D., and Polya GM. 1992. Inhibition of Wheat Embryo Calcium-Dependent Protein Kinase and Other Kinases by Mangostin and α-Mangostin. *Phytochemistry* 31(11): 3711-3713.
11. Iikubo, K., Ishikawa, Y., Ando, N., Umezawa, K., and Nishiyama, S. 2002. The First Direct Synthesis of α-Mangostin, a Potent Inhibitor of the Acidic Sphingomyelinase. *Tetrahedron Letters* 43: 291-293.
12. Sato, A., Fujiwara, H., Oku, H., Ishiguro, K., and Ohizumi, Y. 2004. α-Mangostin Induces Ca^{2+}-ATPase-Dependent Apoptosis via Mitochondrial Pathway in PC12 Cells. *Journal of Pharmacological Sciences* 95: 33-40.

13. Suksamrarn, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhiranlert, J., Ratananukul, P., Chimnoi, N., and Suksamrarn, A. 2003. Antimycobacterial Activity of Prenylated Xanthones from the Fruits of *Garcinia mangostana. Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51(7): 857-859.
14. Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R., and Miyauchi I. K. 1996. Antibacterial Activity of Xanthones from Guttiferaeous Plants Against Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus. Journal of Pharmacy and Pharmacology* 48: 861-865.
15. Grosvenor, W. P., Gothard, K. P., McWilliam, C. N., Supriono, A., and Gray, O. D. 1995. Medicinal Plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 1: Uses. *Journal of Ethnopharmacology* 45: 75-95.
16. Phongpaichit, S., Ongsakul, M., Nilrat, L., Tharavichitkul, P., Bunchoo, S., Chauprapaisilp, T., and Wiriyachitra, P. 1994. Antibacterial Activities of Extracts from *Garcinia mangostana* Pericarp on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species. *Songklanakarin Journal of Science & Technology* 16(4): 399-405.
17. Suksamrarn, S., Komutiban, O., Ratananukul, P., Chimnoi, N., Lartpornmatulee, N., and Suksamrarn, A. 2006. Cytotoxic Prenylated Xanthone from the Young Fruit of *Garcinia mangostana. Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54(3): 301-305.
18. Pattanaprateeb, P., Ruangrungsi, N., and Cordell, G. A. 2005. Cytotoxic Constituents from *Cratoxylum arborescens. Planta Medica* 71(2), 181-183.
19. Ha D. L., Hansen E. P., Vang, O., Duus, F. Pham, D. H., and Ng. D. L. 2006. Cytotoxic Geranylatged Xanthones and O-Alkylated Derivatives of α-Mangostin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 57(8): 830-834.
20. Bauer, A., Kirby, W. M., Sherris, J. C., and Turck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by Standard Single Disc Diffusion Method. *American Journal of Clinical Pathology* 45: 493-496.

ได้รับบทความวันที่ 19 เมษายน 2554
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 4 พฤษภาคม 2554