



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนกิ่งของขนุนและขนุนป่า
(Bioactive compounds from twigs of *Artocarpus heterophyllus*
and *A. lakoocha*)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ก้องเกียรติ ไตรสุวรรณ

มีนาคม 2561

สัญญาเลขที่ MRG5980004

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนกิ่งของขนุนและขนุนป่า
(Bioactive compounds from twigs of *Artocarpus heterophyllus* and *A. lakoocha*)

ผู้วิจัย สังกัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ก้องเกียรติ ไตรสุวรรณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ: MRG5980004

ชื่อโครงการ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนกิ่งของขนุนและขนุนป่า
(Bioactive compounds from twigs of *Artocarpus heterophyllus*
and *A. lakoocha*)

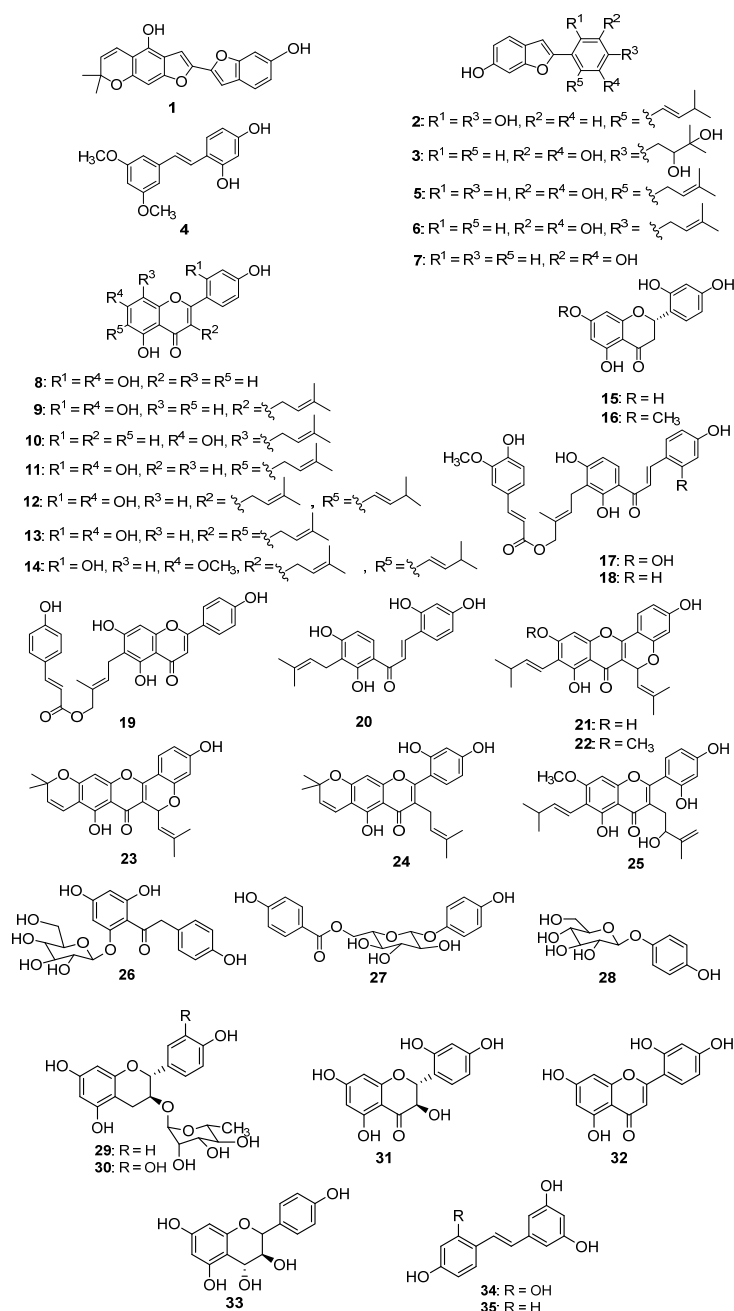
ชื่อนักวิจัยและสถาบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ก้องเกียรติ ไตรสุวรรณ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail Address: kongkiat.t@cmu.ac.th, kongkiat.t@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (2 พฤษภาคม 2559 – 1 พฤษภาคม 2561)

1. บทคัดย่อ

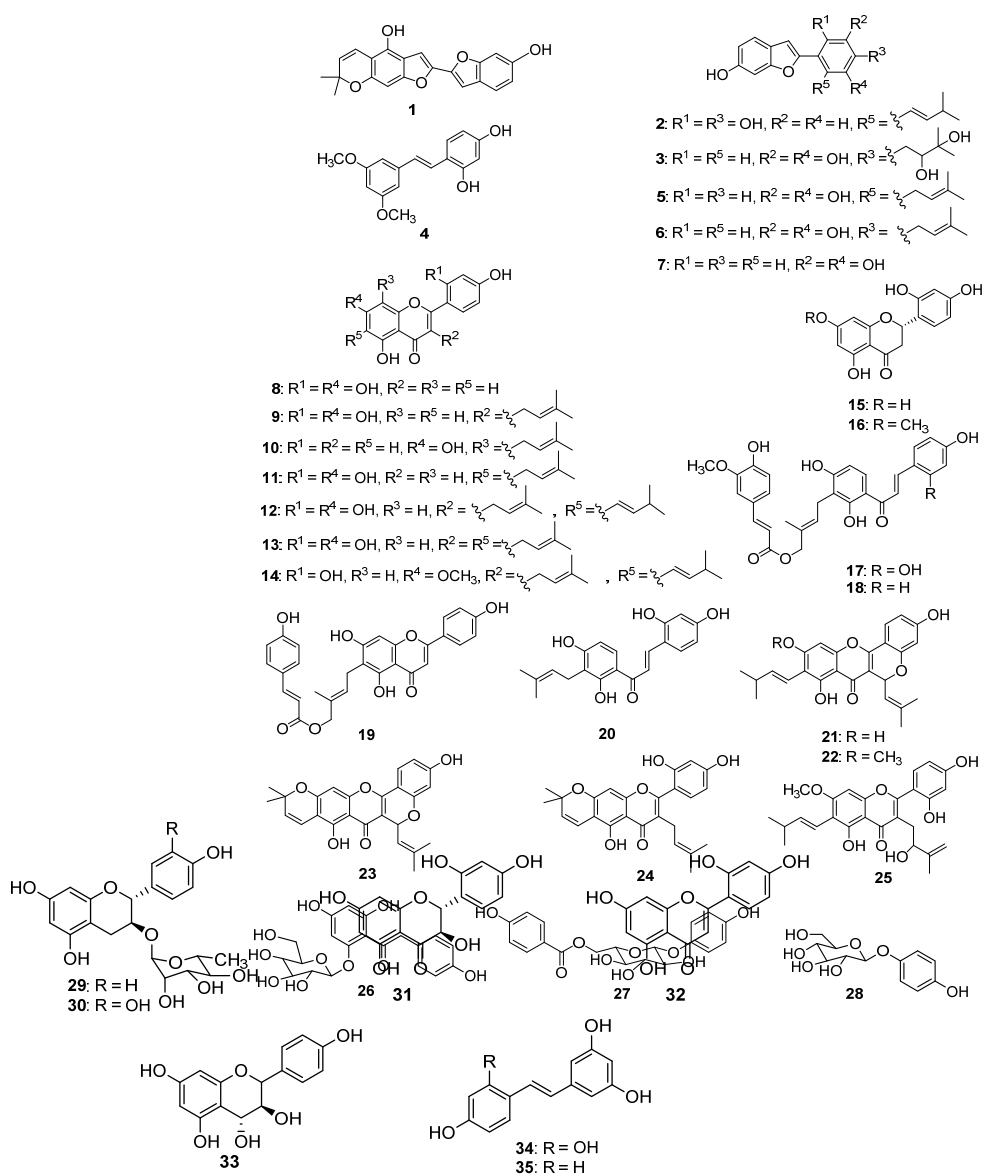
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกิ่งของขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) และขนุนป่า (*A. lakoocha*) ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 35 สาร โดยเป็นสารใหม่ 5 สาร (1-4 และ 26) และสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วจำนวน 30 สาร ทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี โดยเฉพาะ 1D และ 2D NMR สเปกโทรสโกปี และได้ทดสอบความเป็นพิษของสารบริสุทธิ์เหล่านี้ต่อเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งช่องปากและมะเร็งเต้านม



คำหลัก: ขนุน, ขนุนป่า, ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง, สเปกโทรสโกปี

Abstract

The investigation of the methanolic extracts from the twigs of *Artocarpus heterophyllus* and *A. lakoocha* led to the isolation of 35 compounds including 5 new compounds (**1-4** and **26**) together with 30 known ones. Their structures were determined by spectroscopic data, especially 1D and 2D NMR spectroscopy. Their cytotoxic activity against lung cancer, oral cancer and breast cancer cell lines were evaluated.



Keywords: *Artocarpus heterophyllus*, *Artocarpus lakoocha*, Cytotoxicity, Spectroscopy

2. บทสรุปผู้บริหาร (Executive summary)

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่แยกได้จากพืชหรือสิ่งมีชีวิตมีบทบาทสำคัญในปัจจุบัน ทั้งในด้านเภสัชวิทยา เครื่องสำอาง หรือ ด้านเกษตรกรรม สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหลายตัวถูกนำมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ หรือ ต้านเซลล์มะเร็งต่างๆ จึงทำให้สารที่ได้จากธรรมชาติมีความน่าสนใจที่จะศึกษาและค้นหา เพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด

ขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) และ ขนุนป่า (*A. lakoocha*) เป็นพืชในวงศ์ Moraceae ส่วนต่างๆ ของขนุนและขนุนป่าได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์หลากหลาย เช่น ลำต้นใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ สร้างบ้านเรือน ผลใช้รับประทาน นอกจากนี้ได้มีการนำส่วนใบของขนุนมาใช้เป็นยาพื้นบ้านในการรักษาโรคหอบหืด ท้องเสีย และ แก้อักเสบ เป็นต้น จากการสืบค้นฐานข้อมูลพบว่าพืชเหล่านี้ผลิตสารได้หลายประเภท เช่น chalcone, flavone, stilbene และ phenol ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น สาร artocarpesin ที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ tyrosinase สาร cycloartomunin มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ สาร artocarpaone แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และสาร lakoochin แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ เป็นต้น

ในโครงการวิจัยนี้เป็นการสกัด แยก และวิเคราะห์โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนกิ่งของขนุนและขนุนป่า เนื่องจากการศึกษาในส่วนนี้ยังมีไม่มากนัก ประกอบกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นพบว่า ส่วนสกัดหยาบเมทานอลจากกิ่งของพืชเหล่านี้แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อวัณโรค เชื้อมาลาเรีย และเซลล์มะเร็งต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 สิ่งที่น่าสนใจคือ ส่วนสกัดหยาบจากกิ่งขนุนและกิ่งขนุนแสดงฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์มะเร็งช่องปากและมะเร็งเต้านมตามลำดับ ดังนั้น การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากพืชเหล่านี้จึงน่าสนใจ โดยคาดว่าจะหวังจะได้สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี เพื่อพัฒนาไปสู่ใช้เป็นยาต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบเมทานอลจากกิ่งขนุนและขนุนป่า

Sample	Antibacterial (MIC, µg/mL)		Anti-TB (MIC, µg/mL)	Antimalaria (IC ₅₀ , µg/mL)	Cytotoxicity (IC ₅₀ , µg/mL)			
	SA	MRSA	<i>M. tuberculosis</i>	<i>P. falciparum</i>	KB	MCF-7	NCI-H187	Vero
AH-T	64	128	50.0	21.3	8.03	/	19.19	48.56
AL-T	64	128	25.0	11.9	/	19.94	1.86	29.51
Isoniazid ^a	-	-	0.17–0.34	-	-	-	-	-
Doxorubicin ^b	-	-	-	-	0.88	13.17	0.14	-
Ellipticine ^b	-	-	-	-	2.23	-	-	1.60
Mefloquine ^c	-	-	-	0.0034	-	-	-	-
Vancomycin ^d	1	1	-	-	-	-	-	-

AH-T = The crude methanol extract from the twigs of *A. heterophyllus*,

AL-T = The crude methanol extract from the twigs of *A. lakoocha*,

SA = *Staphylococcus aureus*, MRSA = Methicillin-resistant *S. aureus*,

KB = Oral human carcinoma cells, MCF-7 = Human breast cancer cells,

NCI-H187 = Small lung cancer cells, Vero = African green monkey kidney fibroblast,

/ = Inactive. — = No test performed.

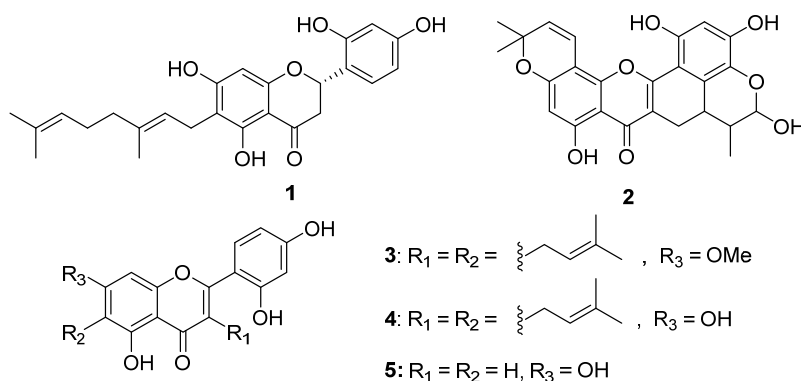
^a Standard antimycobacterial drug. ^b Standard compounds for cytotoxic assays.

^c Standard antimalarial drug. ^d Standard compound for antibacterial assays.

บททวนวรรณกรรม

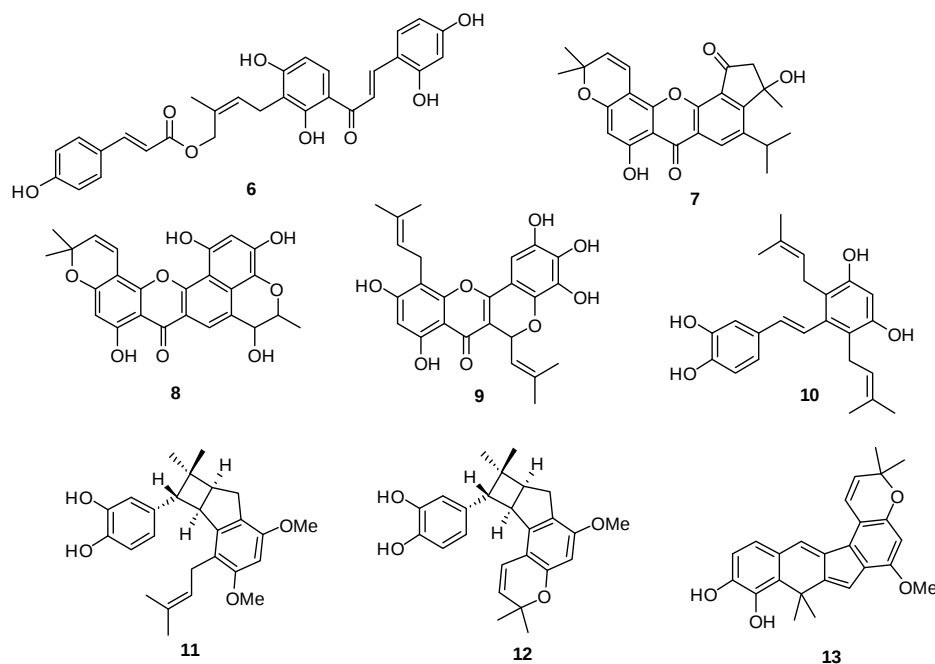
ต้นขนุนและขนุนป่ามีการกระจายตัวแถบตะวันออกเฉียงใต้ของทวีปเอเชีย อ่าวมาเลเซีย และทางตอนเหนือของไทย พืชนี้ผลิตสารที่มีโครงสร้างที่หลากหลายและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ จากฐานข้อมูล SciFinder พบว่ามีการรายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนกิ่งของต้นขนุนและขนุนป่าไม่มากนัก ทำให้การศึกษาในส่วนนี้มีความน่าสนใจ

Sepicanin A (1) แยกได้จากส่วนใบของต้น *A. sepicanus* สารนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) ด้วยค่า MIC เท่ากับ 2.9 μ M (Radwan *et al.*, 2009) นอกจากนี้สารใหม่ในกลุ่ม xanthone, pyranocycloartobiloxanthone A (2), ที่แยกได้จากต้น *A. obtusus* แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย MRSA และ เชื้อ *Bacillus subtilis* ด้วย inhibition zone เท่ากับ 20 และ 12 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Hashim *et al.*, 2012) artocarpin (3), cudraflavone C (4) และ artocarpanone (5) ที่แยกได้จากกิ่งต้น *A. integer* มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium bacterium* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 2, 4 และ 2 μ g/mL ตามลำดับ (Dej-adisal *et al.*, 2013) นอกจากนี้สาร 3 ยังแยกได้จากส่วนแก่นไม้ของต้น *A. heterophyllus* ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans*, *S. pyogenes* และ *Bacillus subtilis* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 4.4, 4.4 และ 17.8 μ g/mL ตามลำดับ (Septama *et al.*, 2015)

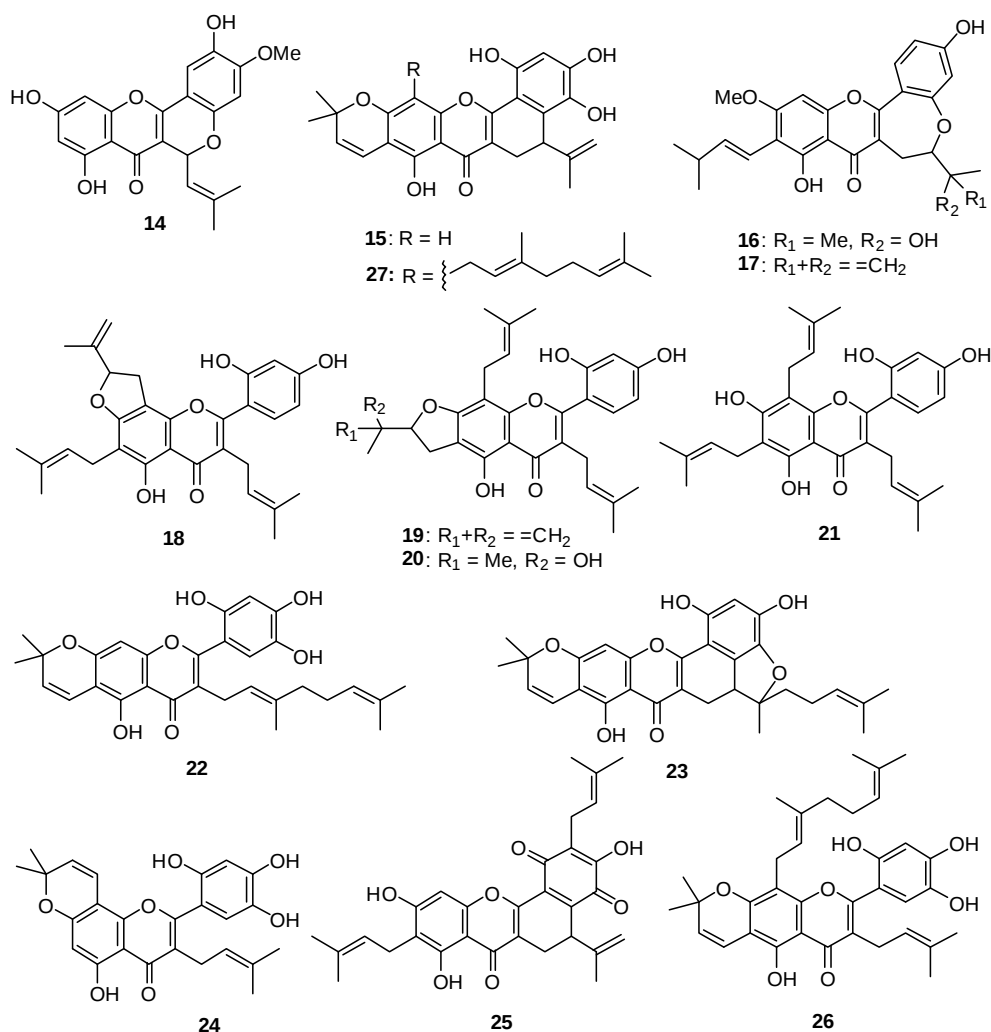


Artocarpusin A (6) แยกได้จากส่วนกิ่งของต้น *A. heterophyllus* แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ (PC-3 cell line) และมะเร็งปอด (NCI-H460 cell line) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 14.1 และ 16.2 μ M ตามลำดับ (Di *et al.*, 2013) dihydroartoindonesianin C (7) และ pyronocycloartobiloxanthone B (8) จากส่วนเปลือกของลำต้นของต้น *A. obtusus* แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (HL-60 cell line) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 26 และ 27 μ g/mL ตามลำดับ และมะเร็งเต้านม (MCF-7 cell line) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 27 และ 23 μ g/mL ตามลำดับ (Hashima *et al.*, 2012) artochamin B (9) แยกได้จากส่วนกิ่งของต้น *A. nigrifolius* และ artocarmin F

(10) และ artocarmins I-K (11-13) จากส่วนรากของต้น *A. chama* แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งระดับ (HepG2 cell line) โดยสาร 11 แสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.60 $\mu\text{g/mL}$ (Wang *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7 cell line) และ มะเร็งช่องปาก (KB cell line) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.59 และ 20.00 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ (Hoi *et al.*, 2013)



Artoindonesianins A-2 (14) และ A-3 (15) แยกได้จากส่วนแก่นไม้ของต้น *A. champeden* (Syah *et al.*, 2006), artoindonesianins B (16) และ E1 (17) แยกได้จากส่วนเนื้อไม้ของต้น *A. elasticus* (Musthapa *et al.*, 2009), artoindonesianins G-I (18-20) และ arteasticin (21) จากส่วนแก่นไม้ของต้น *A. lanceifolius* (Syah *et al.*, 2001), artoindonesianin L (22), artonins M (23), E (24) และ O (25) จากส่วนเปลือกกรากของต้น *A. rotunda* (Suhartati *et al.*, 2001) และ artoindonesianins U (26) และ V (27) จากส่วนแก่นไม้ของต้น *A. champeden* (Syah *et al.*, 2004) สารเหล่านี้แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (P-388 cell line) โดยสาร 14 แสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.66 μM



วัดภูประสงค์

1. เพื่อทำการแยกและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของต้นขนุน (*A. heterophyllus*) และขนุนป่า (*A. lakoocha*)
2. วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากกิ่งของต้นขนุน (*A. heterophyllus*) และขนุนป่า (*A. lakoocha*) ด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี
3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเซลล์มะเร็ง) ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชดังกล่าว

วิธีทดลอง

1. นำกิ่งของขนุนและขนุนปามาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วพิ้งให้แห้ง
2. แช่กิ่งของพืชในเมทานอลจำนวน 10 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรอง แล้วนำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก จะได้ส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของต้นขนุนและขนุนป่า
3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบ เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (SA), เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA),

ฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum* K1), ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*, H₃₇Ra) ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB), มะเร็งเต้านม (MCF-7), มะเร็งปอด (NCI-H187) และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Non-cancerous Vero cells)

4. ทำส่วนสกัดหยาบที่ได้ให้เป็นส่วนย่อยและนำส่วนย่อยมาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ เช่น Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel column chromatography, reverse-phase silica gel column chromatography หรือ preparative thin-layer chromatography
5. วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี เช่น IR, UV, 1D และ 2D NMR และ mass spectrometry ตลอดจน specific rotation
6. นำสารบริสุทธิ์ที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ

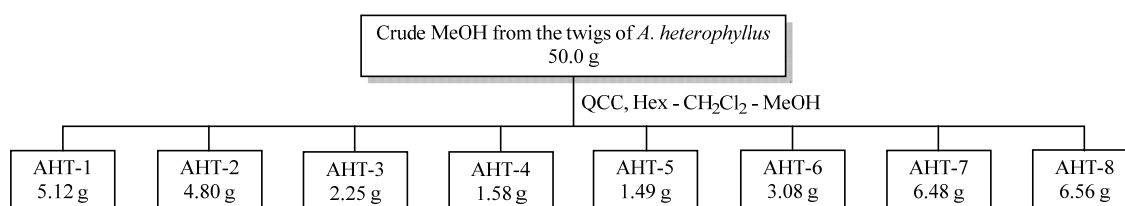
แผนการดำเนินงาน

กิจกรรม	ปีที่ 1				ปีที่ 2			
	1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12
1. กิ่งขนุน <i>A. heterophyllus</i>								
1.1 เตรียมส่วนสกัดหยาบ	↔							
1.2 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น	↔	↔						
1.3 แยกส่วนสกัดหยาบด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีให้เป็นส่วนย่อยและทำส่วนย่อยให้บริสุทธิ์	↔	↔	↔	↔				
1.4 วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้		↔	↔	↔				
1.5 เตรียม manuscript					↔			
2. กิ่งขนุนป่า <i>A. lakoocha</i>								
2.1 เตรียมส่วนสกัดหยาบ				↔				
2.2 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น				↔	↔			
2.3 แยกส่วนสกัดหยาบด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีให้เป็นส่วนย่อยและทำส่วนย่อยให้บริสุทธิ์				↔	↔	↔		
2.4 วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้					↔	↔	↔	
2.5 เตรียม manuscript								↔

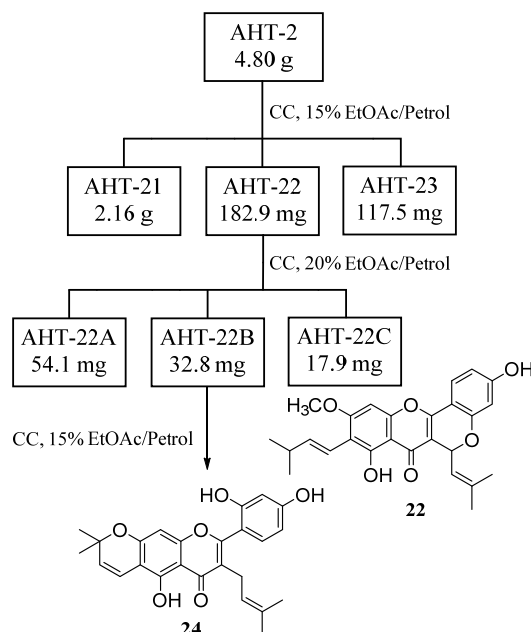
3. ผลการทดลอง

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งขนุน (*A. heterophyllus*)

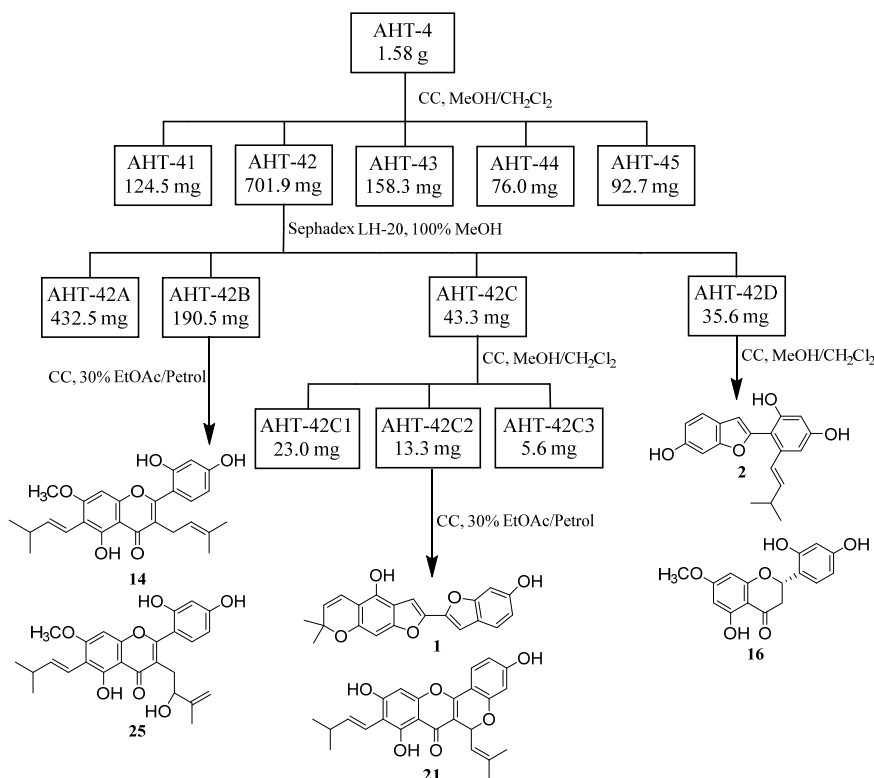
นำส่วนสกัดหยาบของกิ่งขนุนน้ำหนัก 50.0 กรัม มาแยกด้วย quick column chromatography (QCC) ซึ่งมีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย hexane เพิ่มช้าด้วย dichloromethane และ methanol จนถึง 100 % MeOH ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 8 ส่วน (AHT-1–AHT-8)



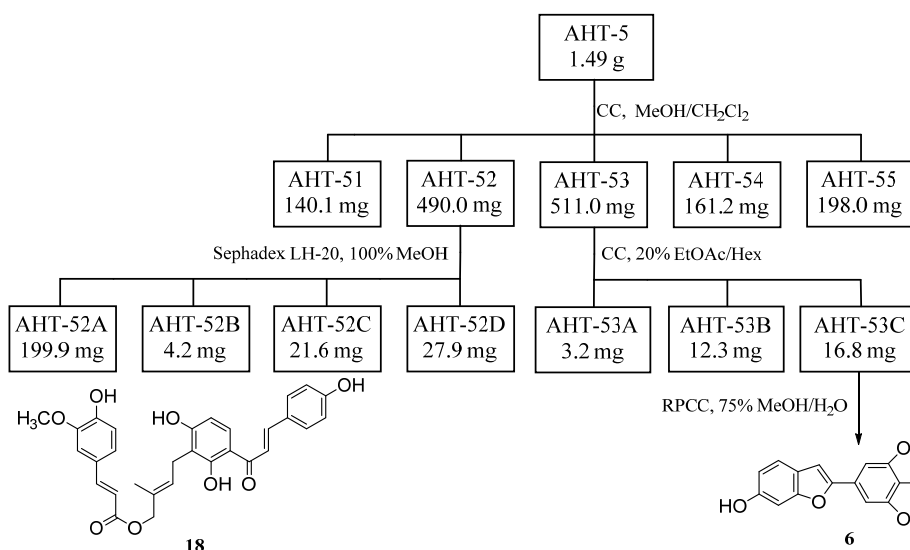
นำส่วนย่อย AHT-2 (ของหนืดสีน้ำตาล, 4.80 กรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย 15 % EtOAc/light petroleum ether ได้ส่วนย่อย 3 ส่วนย่อย (AHT-21–AHT-23) นำส่วนย่อย AHT-22 (ของหนืดสีน้ำตาล, 182.9 มิลลิกรัม) มาแยกอีกครั้งด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 20 % EtOAc/light petroleum ether เป็นตัวชะ ได้ส่วนย่อย 3 ส่วนย่อย (AHT-22A–AHT-22C) ส่วนย่อย AHT-22C เป็นสารบริสุทธิ์ 22 (ของหนืดสีน้ำตาล, 17.9 มิลลิกรัม) สำหรับสาร 24 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.5 มิลลิกรัม) นั้นได้มาจากนำส่วนย่อย AHT-22B (ของหนืดสีน้ำตาล, 32.8 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล และใช้ 15 % EtOAc/light petroleum ether เป็นตัวชะ



ส่วนย่อย AHT-4 (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.58 กรัม) ถูกนำมาทำให้เป็นส่วนย่อยด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น MeOH/CH₂Cl₂ ได้ทั้งหมด 5 ส่วนย่อย (AHT-41–AHT-45) นำส่วนย่อย AHT-42 (ของหนืดสีน้ำตาล, 701.9 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 โดยมีตัวชะเป็น 100 % MeOH ได้ทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (AHT-42A–AHT-42D) นำส่วนย่อย AHT-42B (ของหนืดสีน้ำตาล, 190.5 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย 30 % EtOAc/light petroleum ether ได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร คือ สาร 14 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.2 มิลลิกรัม) และ สาร 25 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 15.2 มิลลิกรัม) แยกส่วนย่อย AHT-42C (ของหนืดสีน้ำตาล, 43.3 มิลลิกรัม) ด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น MeOH/CH₂Cl₂ ได้ทั้งหมด 3 ส่วนย่อย (AHT-42C1–AHT-42C3) สาร 1 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 5.8 มิลลิกรัม) และ สาร 21 (ของหนืดสีเหลือง, 3.2 มิลลิกรัม) ได้จากการนำส่วนย่อย AHT-42C2 (ของหนืดสีน้ำตาล, 13.3 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจลและมี 30 % EtOAc/light petroleum ether เป็นตัวชะ ส่วนย่อย AHT-42D (ของหนืดสีน้ำตาล, 35.6 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น MeOH/CH₂Cl₂ ได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร คือ สาร 2 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 1.3 มิลลิกรัม) และ สาร 16 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 4.6 มิลลิกรัม)

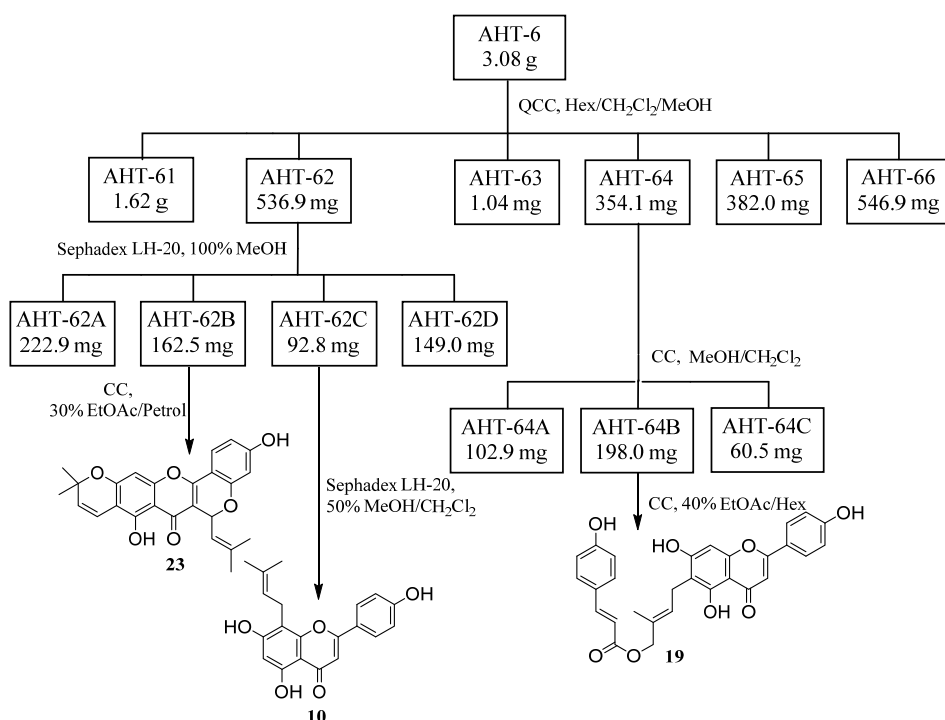


ส่วนย่อย AHT-5 (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.49 กรัม) ถูกทำให้เป็นส่วนย่อยโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล และชะด้วย MeOH/CH₂Cl₂ ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วนย่อย (AHT-51–AHT-55) นำส่วนย่อย AHT-52 (ของหนืดสีน้ำตาล, 490.0 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 โดยมีตัวชะเป็น 100 % MeOH ได้ 4 ส่วนย่อย (AHT-52A–AHT-52D) ส่วนย่อย AHT-52B เป็นสารบริสุทธิ์คือ สาร 18 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 4.2 มิลลิกรัม) ส่วนย่อย AHT-53 (ของหนืดสีน้ำตาล, 511.0 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล โดยใช้ 20 % EtOAc/light petroleum ether เป็นตัวชะ ได้ 3 ส่วนย่อย (AHT-53A–AHT-53C) นำส่วนย่อย AHT-53C (ของหนืดสีน้ำตาล, 16.8 มิลลิกรัม) มาแยกอีกครั้งด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล โดยมี 75 % MeOH/H₂O เป็นตัวชะ ได้สาร 6 (ของหนืดสีน้ำตาล, 7.5 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์

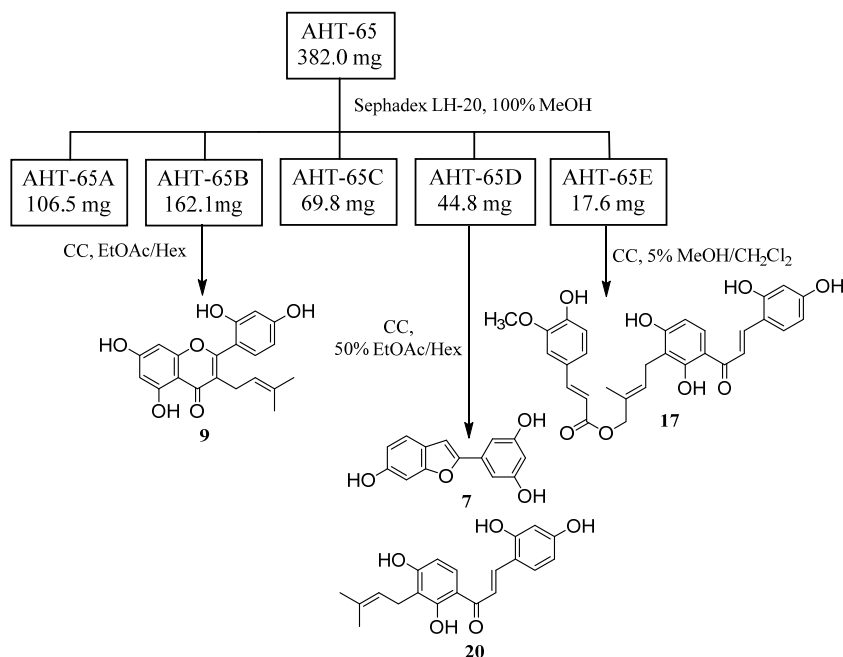


ส่วนย่อย AHT-6 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.08 กรัม) ถูกนำมาแยกด้วย QCC โดยมีตัวชะเป็น hexane เพิ่มซ้ำด้วย dichloromethane และ methanol จนถึง 100 % MeOH ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 6 ส่วนย่อย (AHT-61–AHT-66) นำส่วนย่อย AHT-62 (ของหนืดสีน้ำตาล, 536.9 มิลลิกรัม) มาแยกด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 100 % MeOH เป็นตัวชะ ได้ 4 ส่วนย่อย (AHT-62A–AHT-62D) จากนั้นนำส่วนย่อย AHT-62B (ของหนืดสีน้ำตาล, 162.5 มิลลิกรัม) ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล โดยมีตัวชะเป็น 30 % EtOAc/light petroleum ether ได้สาร 23 (ของหนืดสีน้ำตาล, 4.2 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์ สาร 10 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 6.5 มิลลิกรัม) ได้มาจากการนำส่วนย่อย AHT-62C (ของหนืดสีน้ำตาล, 92.8 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 ซึ่งมี 50 %

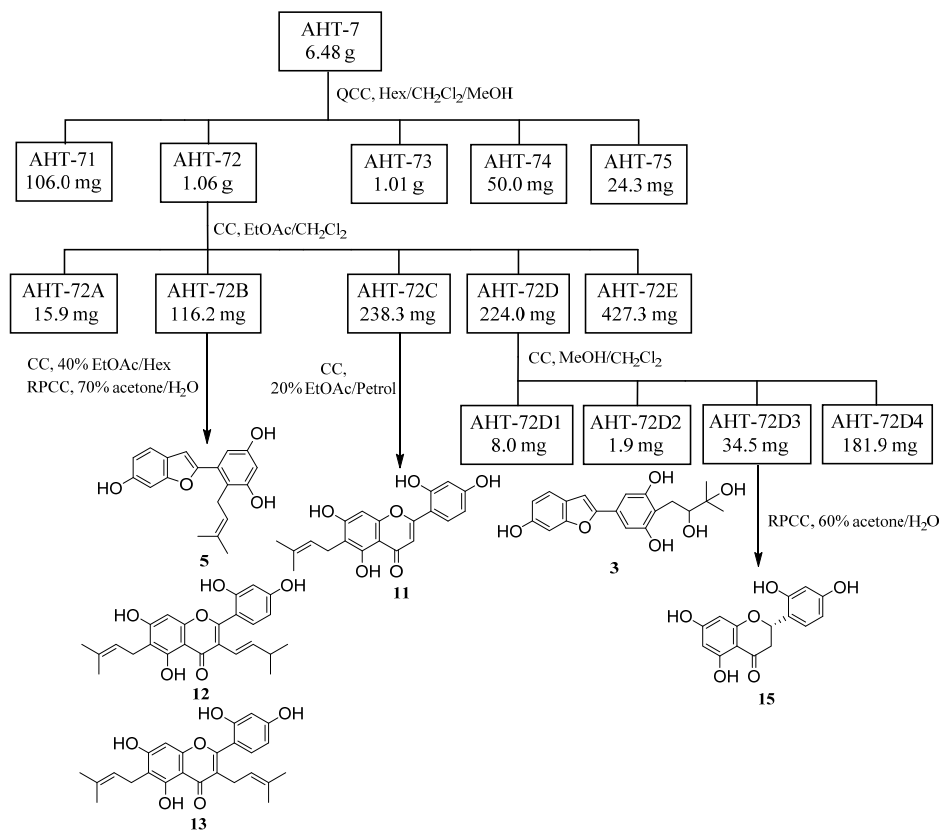
MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวชะ ส่วนย่อย AHT-64 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 354.1 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกให้เป็นส่วนย่อยด้วยซิลิกา เจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น MeOH/CH₂Cl₂ ได้ 3 ส่วนย่อย (AHT-64A–AHT-64C) สาร 19 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 5.8 มิลลิกรัม) ได้มาจากนำส่วนย่อย AHT-64B (ของหนืดสีน้ำตาล, 198.0 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมี 40 % EtOAc/hexane เป็นตัวชะ



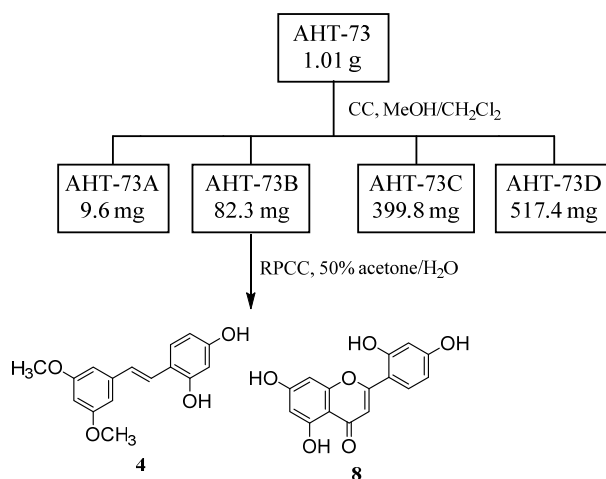
ส่วนย่อย AHT-65 (ของหนืดสีน้ำตาล, 382.0 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ 100 % MeOH เป็นตัวชะ ได้ 5 ส่วนย่อย (AHT-65A–AHT-65E) ส่วนย่อย AHT-65B (ของหนืดสีน้ำตาล, 162.1 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกอีกครั้งด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ใช้ EtOAc/hexane เป็นตัวชะ ใช้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ สาร 9 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 7.3 มิลลิกรัม) สำหรับสาร 7 (ของหนืดสีน้ำตาล, 6.3 มิลลิกรัม) และ สาร 20 (ของหนืดสีน้ำตาล, 2.0 มิลลิกรัม) ได้จากการนำส่วนย่อย AHT-65D (ของหนืดสีน้ำตาล, 44.8 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งใช้ 50 % EtOAc/hexane เป็นตัวชะ และแยกส่วนย่อย AHT-65E (ของหนืดสีน้ำตาล, 17.6 มิลลิกรัม) ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีซิลิกาเจล เป็นตัวอยู่กับที่และมี 5 % MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวชะได้สาร 17 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.2 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์



ส่วนย่อย AHT-7 (ของหนืดสีน้ำตาล, 6.48 กรัม) ถูกทำให้เป็นส่วนย่อยด้วยวิธีการเดียวกับส่วนย่อย AHT-6 ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วน (AHT-71–AHT-75) นำส่วนย่อย AHT-72 (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.06 กรัม) มาแยกต่ออีกครั้งด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีตัวชะเป็น EtOAc/CH₂Cl₂ ได้เป็น 5 ส่วนย่อย (AHT-72A–AHT-72E) ทำการแยกส่วนย่อย AHT-72B (ของหนืดสีน้ำตาล, 116.2 มิลลิกรัม) ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ได้สารบริสุทธิ์ 3 สาร คือ สาร 5 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.6 มิลลิกรัม), 12 (ของหนืดสีน้ำตาล, 6.3 มิลลิกรัม) และ 13 (ของหนืดสีน้ำตาล, 7.3 มิลลิกรัม) ส่วนย่อย AHT-72C (ของหนืดสีน้ำตาล, 238.3 มิลลิกรัม) ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมี 20 % EtOAc/light petroleum ether เป็นตัวชะ ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ สาร 11 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.5 มิลลิกรัม) นำส่วนย่อย AHT-72D (ของหนืดสีน้ำตาล, 224.0 มิลลิกรัม) มาแยกให้เป็นส่วนย่อยด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล โดยมี MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวชะ ได้ 4 ส่วนย่อย (AHT-72D1–AHT-72D4) ส่วนย่อย AHT-72D2 เป็นสารบริสุทธิ์ คือ สาร 3 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 1.9 มิลลิกรัม) นำส่วนย่อย AHT-72D3 (ของหนืดสีน้ำตาล, 34.5 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมี 60 % acetone/H₂O เป็นตัวชะ ได้สาร 15 (ของหนืดสีน้ำตาล, 5.6 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์

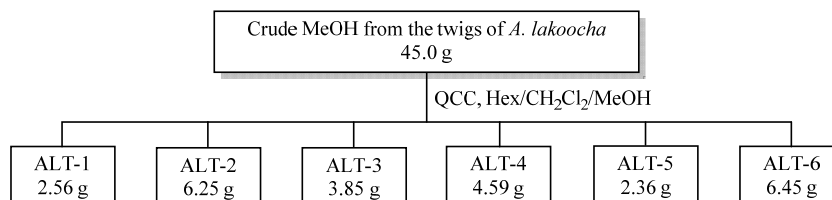


ส่วนย่อย **AHT-73** (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.01 กรัม) มาแยกด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมี $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ เป็นตัวชะ ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (**AHT-73A–AHT-73D**) ส่วนย่อย **AHT-73B** (ของหนืดสีน้ำตาล, 82.3 มิลลิกรัม) ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมี 50% acetone/ H_2O เป็นตัวชะ ได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร คือ สาร **4** (ของหนืดสีเหลือง, 2.3 มิลลิกรัม) และ **8** (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 8.3 มิลลิกรัม)

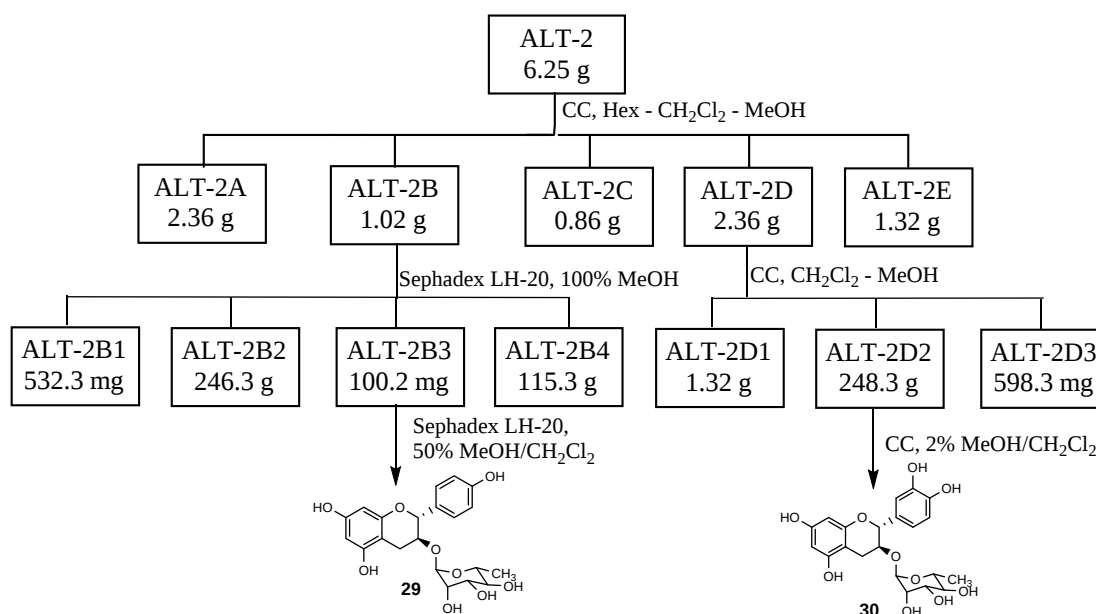


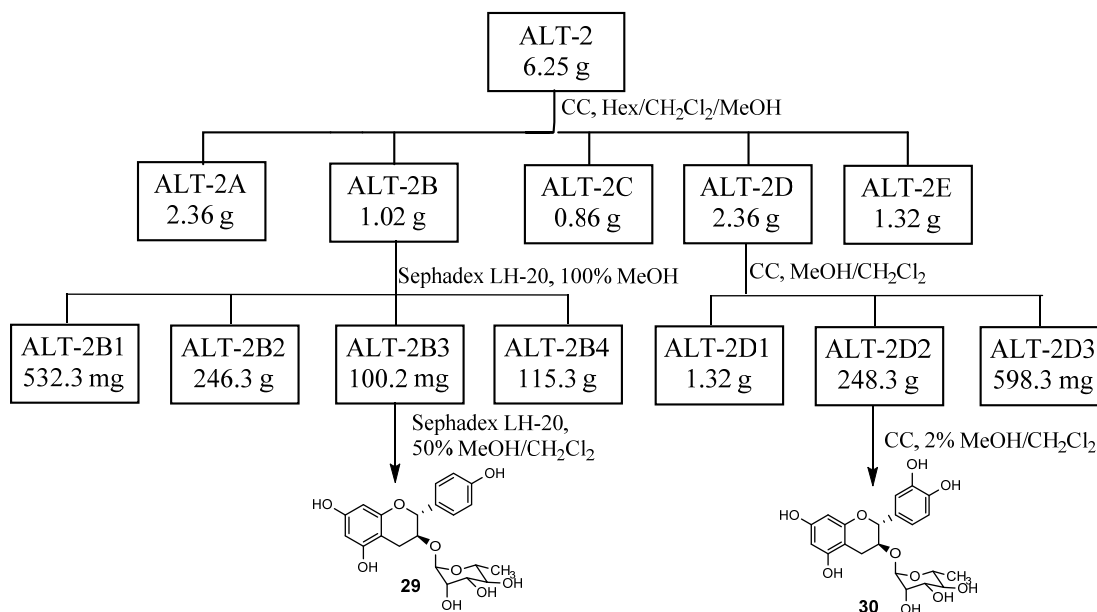
2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งขนุนป่า (*A. lakoocha*)

นำส่วนสกัดหยาบของกิ่งขนุนป่าน้ำหนัก 45.0 กรัม มาแยกด้วย quick column chromatography (QCC) ซึ่งมีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย hexane เพิ่มชั่วด้วย dichloromethane และ methanol จนถึง 100 % methanol ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 6 ส่วน (ALT-1–ALT-6)

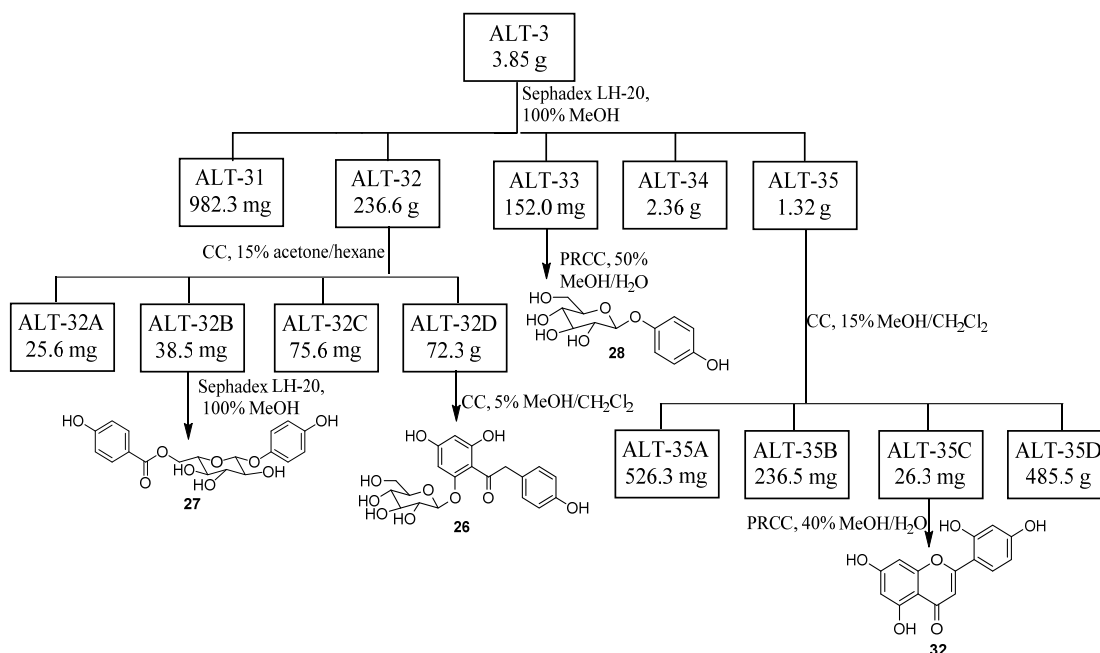


นำส่วนย่อย ALT-2 (ของหนืดสีน้ำตาล, 6.25 กรัม) มาทำให้เป็นส่วนย่อยด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย hexane เพิ่มชั่วด้วย dichloromethane และ methanol จนถึง 100 % MeOH ได้ทั้งหมด 5 ส่วนย่อย (ALT-2A–ALT-2E) นำส่วนย่อย ALT-2B (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.02 กรัม) มาแยกอีกครั้งด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น 100 % MeOH ได้ทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (ALT-2B1–ALT-2B4) นำส่วนย่อย ALT-2B3 (ของหนืดสีเหลือง, 100.2 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 โดยใช้ตัวชะเป็น 50 % MeOH/CH₂Cl₂ ได้สาร 29 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 10.2 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์ นำส่วนย่อย ALT-2D (ของหนืดสีน้ำตาล, 2.36 กรัม) มาทำให้เป็นส่วนย่อยด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ชะด้วย MeOH/CH₂Cl₂ ได้ 3 ส่วนย่อย (ALT-2D1–ALT-2D3) สาร 30 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 12.3 มิลลิกรัม) ได้มาจากการนำส่วนย่อย ALT-2D2 (ของหนืดสีน้ำตาล, 248.3 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ 2 % MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวชะ

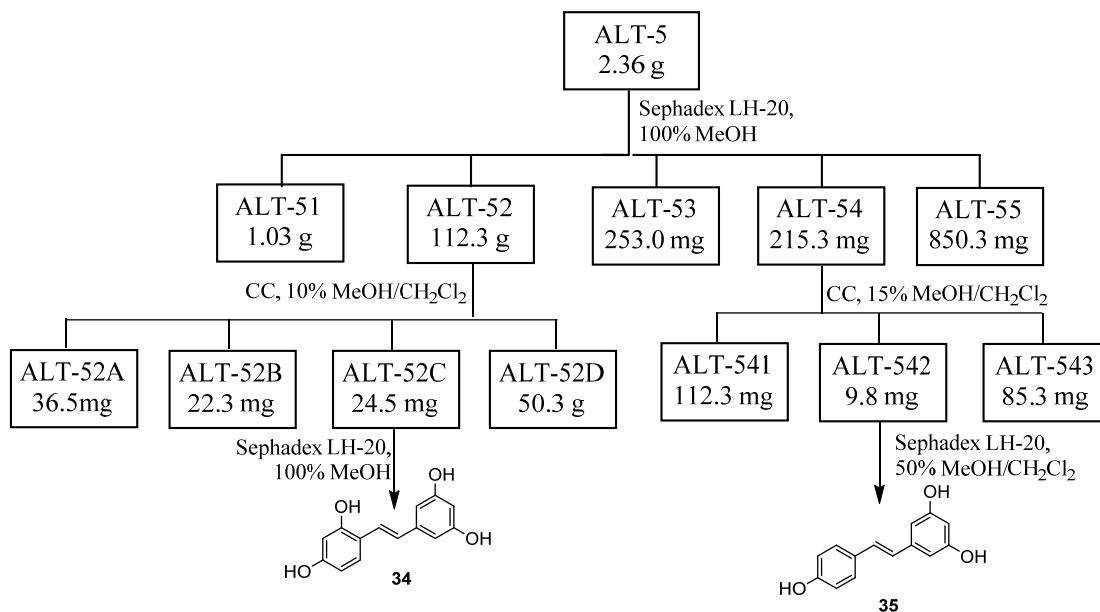




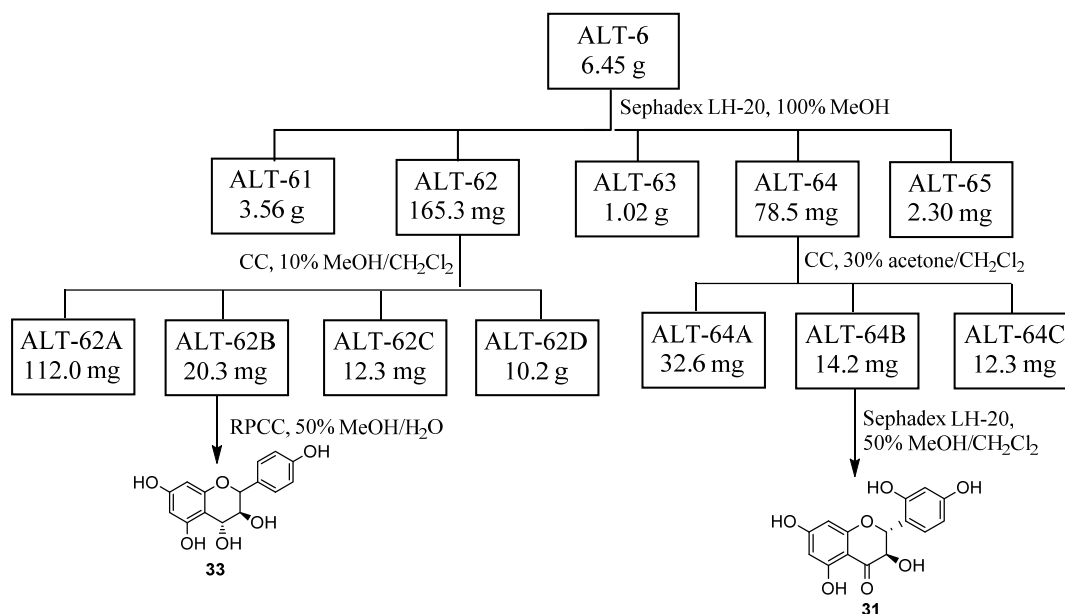
นำส่วนย่อย ALT-3 (ของหนืดสีน้ำตาล, 3.85 กรัม) มาแยกด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมี 100 % MeOH เป็นตัวชะ ได้ 5 ส่วนย่อย (ALT-31–ALT-35) แยกส่วนย่อย ALT-32 (ของหนืดสีน้ำตาล, 236.6 มิลลิกรัม) ด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 15 % acetone/hexane ได้ทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (ALT-32A–ALT-32D) นำส่วนย่อย ALT-32B (ของหนืดสีน้ำตาล, 38.5 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 100% MeOH ได้สาร 27 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 10.2 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์ นอกจากนี้เมื่อนำส่วนย่อย ALT-32D (ของหนืดสีน้ำตาล, 72.3 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ซึ่งมีตัวชะเป็น 5 % MeOH/CH₂Cl₂ ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ สาร 26 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 2.3 มิลลิกรัม) สำหรับ สาร 28 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 14.2 มิลลิกรัม) ได้จากการนำส่วนย่อย ALT-33 (ของหนืดสีน้ำตาล, 152.0 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมี 50 % MeOH/H₂O เป็นตัวชะ นำส่วนย่อย ALT-35 (ของหนืดสีน้ำตาล, 1.32 กรัม) มาทำการแยกอีกครั้งด้วย ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีตัวชะเป็น 15 % MeOH/CH₂Cl₂ ได้ทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (ALT-35A–ALT-35D) นำส่วนย่อย ALT-35C (ของหนืดสีน้ำตาล, 26.3 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมี 40 % MeOH/H₂O เป็นตัวชะ ได้สาร 32 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 3.6 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์



ส่วนย่อย ALT-5 (ของหนีดสีน้ำตาล, 2.36 กรัม) ถูกนำมาทำให้เป็นส่วนย่อยด้วยการนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 ละด้วย 100 % MeOH ได้ 5 ส่วนย่อย (ALT-51–ALT-55) แยกส่วนย่อย ALT-52 (ของหนีดสีน้ำตาล, 112.3 มิลลิกรัม) ด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี มีตัวละเป็น 10 % MeOH/CH₂Cl₂ ได้ 4 ส่วนย่อย (ALT-52A–ALT-52D) นำส่วนย่อย ALT-52C (ของหนีดสีน้ำตาล, 24.5 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 ละด้วย 100 % MeOH ได้สาร 34 (ของหนีดสีเหลือง, 8.3 มิลลิกรัม) เป็นสารบริสุทธิ์ สำหรับสาร 35 (ของหนีดสีเหลือง, 2.1 มิลลิกรัม) นั้น ได้มาจากการนำส่วนย่อย ALT-54 (ของหนีดสีน้ำตาล, 215.3 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มี 15 % MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวละได้ 3 ส่วนย่อย (ALT-541–ALT-543) แล้วนำส่วนย่อย ALT-542 (ของหนีดสีน้ำตาล, 9.8 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 แล้วละด้วย 50 % MeOH/CH₂Cl₂



ทำการแยกส่วนย่อย ALT-6 (ของหนืดสีน้ำตาล, 6.45 กรัม) ด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีตัวชะเป็น 100 % MeOH ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วนย่อย (ALT-61–ALT-65) ส่วนย่อย ALT-62 (ของหนืดสีน้ำตาล, 165.3 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกอีกครั้งด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล ใช้ 10% MeOH/CH₂Cl₂ เป็นตัวชะ ได้ทั้งหมด 4 ส่วนย่อย (ALT-62A–ALT-62D) นำส่วนย่อย ALT-62B (ของหนืดสีน้ำตาล, 20.3 มิลลิกรัม) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยรีเวอร์สเฟส ซิลิกาเจล คอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ 50 % MeOH/H₂O เป็นตัวชะ ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ สาร 33 (ของหนืดสีน้ำตาล, 4.6 มิลลิกรัม) ส่วนย่อย ALT-64 (ของหนืดสีน้ำตาล, 78.5 มิลลิกรัม) ถูกนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล โดยมีตัวชะเป็น 30 % acetone/CH₂Cl₂ ได้ 3 ส่วนย่อย (ALT-64A–ALT-64C) สาร 31 (ของหนืดสีเหลืองอ่อน, 3.6 มิลลิกรัม) ได้มาจากการนำส่วนย่อย ALT-64B (ของหนืดสีน้ำตาล, 14.2 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยด้วย Sephadex LH-20 คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งมีตัวชะเป็น 50% MeOH/CH₂Cl₂



Heterophyllene A (1): pale yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 224 (3.67), 245 (3.21), 275 (2.56), 310 (2.01); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 3420, 1645; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 7.38 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.97 (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.85 (1H, s), 6.81 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.76 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz), 6.64 (1H, d, J = 10.0 Hz), 5.64 (1H, d, J = 10.0 Hz), 1.40 (6H, s); δ_{C} (100 MHz, acetone-*d*₆) 155.6, 154.7, 154.1, 154.0, 153.6 (2C), 151.5, 129.6, 122.8, 121.2, 116.2, 113.8, 112.1, 105.6, 103.9, 101.6, 101.2, 98.2, 76.3, 27.8 (2C)

Heterophyllene B (2): pale yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 226 (2.47), 248 (2.21), 265 (2.01); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 3400, 1667; δ_{H} (400 MHz, acetone-*d*₆) 7.39 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.96 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.95 (1H, s), 6.93 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.81 (1H, dd, J = 8.4, 2.1 Hz), 6.72 (1H, d, J = 16.4 Hz), 6.71 (1H, dd, J = 16.4, 6.4 Hz), 2.44 (1H, m), 1.09 (6H, d, J = 6.4 Hz); δ_{C} (100 MHz, acetone-*d*₆) 157.4 (2C), 156.8 (2C), 155.4, 142.1, 130.0, 122.7 (2C), 122.0, 119.1, 113.3, 104.1 (2C), 102.1, 98.5, 34.0, 23.3 (2C)

Heterophyllene C (3): pale yellow gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +48.2 (c 0.53, CHCl₃); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 232 (2.41), 252 (2.31), 271 (2.01), 313 (1.89); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 3410, 1677; δ_{H} (400 MHz, acetone-*d*₆) 7.39 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.98 (1H, s), 6.97 (1H, d, J = 2.1 Hz), 6.91 (2H, s), 6.80 (1H, dd, J = 8.4, 2.1 Hz), 3.63 (1H, dd, J = 9.6, 2.0 Hz), 3.24 (1H, dd, J = 14.0, 2.0 Hz), 2.57 (1H, dd, J = 14.0, 9.6 Hz) 1.26 (3H, s), 1.25 (3H, s); δ_{C} (100 MHz, acetone-*d*₆) 157.2 (2C), 155.9 (2C), 155.3, 130.1, 121.9, 120.0, 113.1 (2C), 104.6 (2C), 101.7, 98.4, 81.2, 72.6, 26.8, 26.0, 25.0

Heterophyllene D (4): yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 228 (3.24), 300 (2.76), 334 (2.21); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3389, 1640; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.43 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.42 (1H, d, J = 17.2 Hz), 7.01 (1H, d, J = 17.2 Hz), 6.69 (2H, d, J = 2.4 Hz), 6.45 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.40 (1H, dd, J = 8.8, 2.4 Hz), 6.35 (1H, d, J = 2.4 Hz), 3.80 (6H, s); δ_{C} (100 MHz, acetone- d_6) 162.1 (2C), 159.2, 157.0, 141.7, 128.6, 126.3, 125.1, 117.1, 108.4, 104.8 (2C), 103.5, 117.1, 99.8, 55.6 (2C)

Demethylmoracin I (5): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 212 (4.13), 310 (3.56); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3388, 2918, 1614; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.42 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.98 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.81 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz), 6.79 (1H, s), 6.74 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.50 (1H, d, J = 2.4 Hz), 5.18 (1H, t, J = 5.6 Hz), 3.50 (2H, d, J = 5.6 Hz), 1.67 (3H, s), 1.64 (3H, s)

Moracin C (6): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 214 (4.42), 319 (4.38); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3329, 2912, 1622; δ_{H} (400 MHz, MeOD- d_4) 7.33 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.87 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.83 (1H, d, J = 0.8 Hz), 6.77 (2H, brs), 6.72 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz), 5.26 (1H, t, J = 7.2 Hz), 3.32 (2H, d, J = 7.2 Hz), 1.78 (3H, s), 1.67 (3H, s)

Moracin M (7): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 214 (4.12), 316 (3.97); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3427, 2916, 1629; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.41 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.04 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.98 (1H, s), 6.85 (2H, d, J = 2.4 Hz), 6.81 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz), 6.36 (1H, t, J = 2.4 Hz)

Norartocarpetin (8): pale yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 214 (4.25), 259 (3.91), 285 (3.85), 350 (3.99); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3141, 2918, 1606; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.14 (1H, s), 7.83 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.07 (1H, s), 6.62 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.56 (1H, dd, J = 8.8, 2.4 Hz), 6.50 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.23 (1H, d, J = 1.8 Hz)

Albanin A (9): pale yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 214 (3.95), 264 (3.59), 281 (3.55); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3321, 2914, 1635, 1014; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.16 (1H, s), 7.19 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.56 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.51 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz), 6.32 (1H, d, J = 2.2 Hz), 6.24 (1H, d, J = 2.2 Hz), 5.11 (1H, t, J = 7.0 Hz), 3.10 (1H, d, J = 7.0 Hz), 1.56 (3H, s), 1.42 (3H, s)

Licoflavone C (10): pale yellow gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 214 (3.89), 276 (3.55), 332 (3.57); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3365, 2918, 1602, 1454; δ_{H} (400 MHz,

acetone- d_6) 13.40 (1H, s), 7.94 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.04 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.65 (1H, s), 6.63 (1H, s), 5.29 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 3.37 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.79 (3H, s), 1.66 (3H, s)

Artocarpesin (11): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 212 (4.33), 271 (3.79), 331 (3.84); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3332, 2904, 1608, 1577; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 13.30 (1H, s), 7.73 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.98 (1H, s), 6.48 (2H, s), 6.43 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 5.18 (1H, t, $J = 6.4$ Hz), 3.21 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.72 (3H, s), 1.62 (3H, s)

Norartocarpin (12): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 211 (4.30), 270 (4.25), 319 (3.94); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3340, 2912, 1614, 1562; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 14.11 (1H, s), 7.23 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.80 (1H, dd, $J = 16.0, 6.8$ Hz), 6.67 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 6.60 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.55 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.44 (1H, s), 5.16 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 3.15 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 2.48 (1H, m), 1.60 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.13 (6H, d, $J = 6.8$ Hz)

Cudraflavone C (13): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 212 (4.32), 258 (3.96), 312 (3.69); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3313, 2914, 1612, 1566; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.44 (1H, s), 7.17 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.56 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.50 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 6.39 (1H, s), 5.27 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 5.12 (1H, t, $J = 6.8$ Hz), 3.35 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 3.10 (1H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.77 (3H, s), 1.64 (3H, s), 1.56 (3H, s), 1.42 (3H, s)

Artocarpin (14): brown gum; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 200 (4.33), 267 (4.07), 330 (3.80); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3369, 2951, 1631, 1614; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 13.49 (1H, s), 7.13 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.63 (1H, dd, $J = 18.0, 6.8$ Hz), 6.51 (1H, d, $J = 18.0$ Hz), 6.51 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.50 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.32 (1H, s), 5.10 (1H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.83 (3H, s), 3.10 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 2.43 (1H, m), 1.57 (3H, s), 1.39 (3H, s), 1.07 (6H, d, $J = 6.8$ Hz)

Steppogenin (15): brown gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{27}$ -21.6 (c 0.13, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 211 (4.22), 288 (3.98); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3325, 2912, 1622, 1519; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 12.22 (1H, s), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.43 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 5.97 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 5.95 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 5.71 (1H, dd, $J = 12.8, 2.8$ Hz), 3.18 (1H, dd, $J = 17.2, 13.8$ Hz), 2.71 (1H, dd, $J = 17.2, 2.4$ Hz)

Artocarpanone (16): pale yellow gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{27}$ -5.4 (c 0.19, Acetone); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 211 (4.36), 286 (4.10); IR (neat) $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 3305, 2916, 1631,

1452; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 12.17 (1H, s), 7.31 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.47 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.43 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.05 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.02 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 5.72 (1H, dd, $J = 13.2, 2.8$ Hz), 3.84 (3H, s), 3.20 (1H, dd, $J = 17.2, 2.8$ Hz), 2.73 (1H, dd, $J = 17.2, 2.8$ Hz)

Isogemichalcone C (17): brown gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 215 (4.02), 322 (3.80), 385 (3.65); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3329, 2916, 1679, 1597; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 14.23 (1H, s), 8.23 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.92 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.80 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.69 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.36 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.16 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.52 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.46 (1H, s), 6.44 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 5.58 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 3.91 (3H, s), 3.51 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.96 (2H, s), 1.75 (3H, s)

Artocarmitin B (18): pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 210 (4.67), 335 (4.54), 362 (4.50); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3361, 2914, 1597, 1510; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 14.08 (1H, s), 8.01 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.84 (1H, d, $J = 15.0$ Hz), 7.80 (1H, d, $J = 15.0$ Hz), 7.73 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 7.16 (1H, dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz), 6.93 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.56 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.44 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 5.58 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 4.95 (1H, s), 3.92 (3H, s), 3.50 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 1.75 (1H, s)

Artocarmin B (19): pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 213 (4.53), 272 (4.07), 316 (4.12); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3425, 2916, 1620, 1082; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.35 (1H, s), 7.92 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.54 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.01 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.63 (2H, s), 6.35 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 5.67 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 4.54 (2H, s), 3.44 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.81 (3H, s)

Morachalcone A (20): brown gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 212 (4.50), 306 (3.91), 382 (4.06); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3400, 2916, 1604, 1458; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 14.19 (1H, s), 8.21 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 7.88 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.80 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 8.6$ Hz), 6.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.52 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.43 (1H, dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz), 5.26 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.35 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.74 (3H, s), 1.64 (3H, s)

Brosimone I (21): yellow gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{29} +144.9$ (c 0.15, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 214 (4.37), 266 (4.11), 368 (4.11); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3269, 2918, 1614, 1560,

1454; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 13.27 (1H, s), 7.64 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.56 (1H, brd, $J = 8.4$ Hz), 6.49 (1H, s), 6.40 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 6.38 (1H, brs), 6.24 (1H, d, $J = 9.6$ Hz), 6.21 (1H, dd, $J = 17.0, 7.0$ Hz), 5.42 (1H, d, $J = 9.6$ Hz), 2.20 (1H, m), 1.95 (3H, s), 1.68 (3H, s), 1.14 (6H, d, $J = 6.4$ Hz)

Cycloartocarpin (22): brown gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{29} +125.0$ (c 0.32, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 212 (4.36), 269 (3.98), 369 (3.98); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3377, 2918, 1697, 1610, 1548, 1442; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 13.42 (1H, s), 7.64 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.70 (1H, dd, $J = 16.2, 7.0$ Hz), 6.57 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.53 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.44 (1H, s), 6.42 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.26 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 5.42 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 3.93 (3H, s), 2.47 (1H, m), 1.95 (3H, s), 1.68 (3H, s), 1.11 (6H, d, $J = 6.4$ Hz)

Cudraflavone A (23): brown gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{29} +172.8$ (c 0.11, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 213 (4.57), 293 (4.36), 368 (4.27); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3350, 2916, 1618, 1558, 1456; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 13.03 (1H, s), 7.65 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.71 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.70 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 6.41 (1H, brs), 6.37 (1H, s), 6.25 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 5.60 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 5.42 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 1.97 (3H, s), 1.70 (3H, s), 1.46 (6H, s)

Cudraflavone B (24): brown gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 212 (4.68), 280 (4.49), 336 (4.15); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3400, 2916, 1610, 1456; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.57 (1H, s), 7.20 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.67 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 6.56 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.51 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.27 (1H, s), 5.74 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 5.11 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 3.11 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.57 (3H, s), 1.45 (6H, s), 1.42 (3H, s)

Artogomezianone (25): pale yellow gum; $[\alpha]_{\text{D}}^{29} +6.3$ (c 0.16, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 210 (4.45), 275 (4.36), 318 (4.02); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3282, 2929, 1633, 1610, 1448; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 13.82 (1H, s), 7.31 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.72 (1H, dd, $J = 16.0, 7.2$ Hz), 6.66 (1H, s), 6.54 (1H, dd, $J = 16.0, 2.4$ Hz), 6.53 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz), 6.52 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 4.81 (1H, s), 4.67 (1H, s), 4.38 (1H, m), 3.96 (3H, s), 2.78 (1H, dd, $J = 13.8, 5.0$ Hz), 2.58 (1H, dd, $J = 13.8, 8.4$ Hz), 2.43 (1H, m), 1.57 (3H, s), 1.08 (6H, d, $J = 8.6$ Hz)

Compound 26: pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 224 (2.23), 235 (2.20), 243 (1.69); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3400, 1671; δ_{H} (400 MHz, MeOD- d_4) 7.08 (2H, d, J

= 8.6 Hz), 6.70 (2H, d, J = 8.6 Hz), 6.14 (1H, d, J = 2.0 Hz), 5.93 (1H, d, J = 2.0 Hz), 5.06 (1H, d, J = 7.2 Hz), 3.92 (1H, dd, J = 12.2, 2.0 Hz), 3.74 (1H, dd, J = 12.0, 5.2 Hz), 3.48 (1H, dd, J = 7.2, 6.4 Hz), 3.47 (1H, dd, J = 7.0, 6.4 Hz), 3.44 (1H, m), 3.42 (1H, dd, J = 7.2, 7.0 Hz), 2.88 (2H, brd, J = 1.2 Hz); δ_{C} (100 MHz, MeOD- d_4) 206.1, 168.1, 162.4 (3C), 134.0, 130.4 (2C), 116.1 (2C), 102.0, 97.9, 97.6, 96.4, 78.5, 78.4, 74.8, 71.1, 62.4, 31.0

Breynioside A (27): pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 229 (3.12), 230 (2.25), 241 (1.13); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3411, 1674; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.94 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.96 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.93 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.70 (2H, d, J = 8.8 Hz), 4.82 (1H, d, J = 7.6 Hz), 4.72 (1H, dd, J = 11.7, 2.2 Hz), 4.31 (1H, dd, J = 11.7, 7.6 Hz), 3.81 (1H, m), 3.56 (1H, m), 3.52 (1H, m), 3.47 (1H, m)

Arbutin (28): pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 223 (2.32), 235 (1.36); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3420, 1600, 1512; δ_{H} (400 MHz, MeOD- d_4) 6.98 (2H, d, J = 9.2 Hz), 6.71 (2H, d, J = 9.2 Hz), 4.75 (1H, d, J = 7.2 Hz), 3.90 (1H, dd, J = 12.0, 1.2 Hz), 3.71 (1H, dd, J = 12.2, 4.4 Hz), 3.44 (1H, brd, J = 4.4 Hz), 3.43 (1H, brs), 3.42 (1H, brs), 3.39 (1H, d, J = 3.2 Hz)

(+)-Afzelecchin-3- O - α -L-rhamnopyranoside (29): pale yellow gum; λ_{max} nm (log ϵ) 223 (1.89), 237 (1.42); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3390, 16140, 1533; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.27 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.85 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.05 (1H, d, J = 2.4 Hz), 5.90 (1H, d, J = 2.4 Hz), 4.70 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.28 (1H, d, J = 1.2 Hz), 3.99 (1H, dd, J = 8.2, 2.6 Hz), 3.69 (1H, dq, J = 9.4, 6.2 Hz), 3.57 (1H, dd, J = 9.6, 3.2 Hz), 3.49 (1H, dd, J = 3.2, 12 Hz), 3.33 (1H, t, J = 9.6 Hz), 2.96 (1H, dd, J = 16.0, 8.8 Hz), 2.65 (1H, dd, J = 16.0, 5.6 Hz), 1.21 (3H, d, J = 6.2 Hz)

(+)-Catechin-3- O - α -L-rhamnopyranoside (30): pale yellow gum; λ_{max} nm (log ϵ) 225 (2.02), 235 (1.56); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3391, 1610, 1523; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 6.93 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.82 (1H, d, J = 8.0 Hz), 6.77 (1H, dd, J = 8.0, 1.8 Hz), 6.04 (1H, d, J = 2.4 Hz), 5.90 (1H, d, J = 2.4 Hz), 4.67 (1H, d, J = 8.4 Hz), 4.34 (1H, brs), 3.98 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz), 3.69 (1H, dd, J = 9.2, 6.0 Hz), 3.59 (1H, brs), 3.57 (1H, brs), 3.34 (1H, t, J = 9.4 Hz), 2.92 (1H, dd, J = 16.0, 5.6 Hz), 2.65 (1H, dd, J = 16.0, 8.4 Hz), 1.21 (3H, d, J = 6.0 Hz)

Dihydromorin (31): pale yellow gum; λ_{max} nm (log ϵ) 230 (2.85), 241 (1.63); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3401, 1635; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 11.74 (1H, s), 7.32 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.47 (1H, d, J = 1.2 Hz), 6.43 (1H, dd, J = 8.4, 1.2 Hz), 5.98 (1H, d, J = 2.4 Hz), 5.93 (1H, d, J = 2.4 Hz), 5.49 (1H, d, J = 11.6 Hz), 4.87 (1H, d, J = 11.6 Hz)

Norartocarpetin (32): pale yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 214 (4.12), 270 (3.36), 320 (3.01); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3300, 2945, 1633, 1610; δ_{H} (400 MHz, MeOD- d_4) 7.78 (d, J = 8.8 Hz), 7.14 (1H, s), 6.46 (1H, dd, J = 8.8, 2.4 Hz), 6.42 (2H, d, J = 2.4 Hz), 6.19 (1H, d, J = 2.4 Hz)

(+)-Leucopelargonidin (33): brown gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 211 (4.22), 288 (3.98); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3325, 2912, 1622; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 8.33 (1H, s), 8.16 (1H, s), 7.87 (1H, s), 7.28 (2H, d, J = 8.6 Hz), 6.77 (2H, d, J = 8.6 Hz), 6.03 (1H, brs), 5.95 (1H, brs), 5.13 (1H, brs), 4.70 (1H, brs), 3.98 (1H, brs)

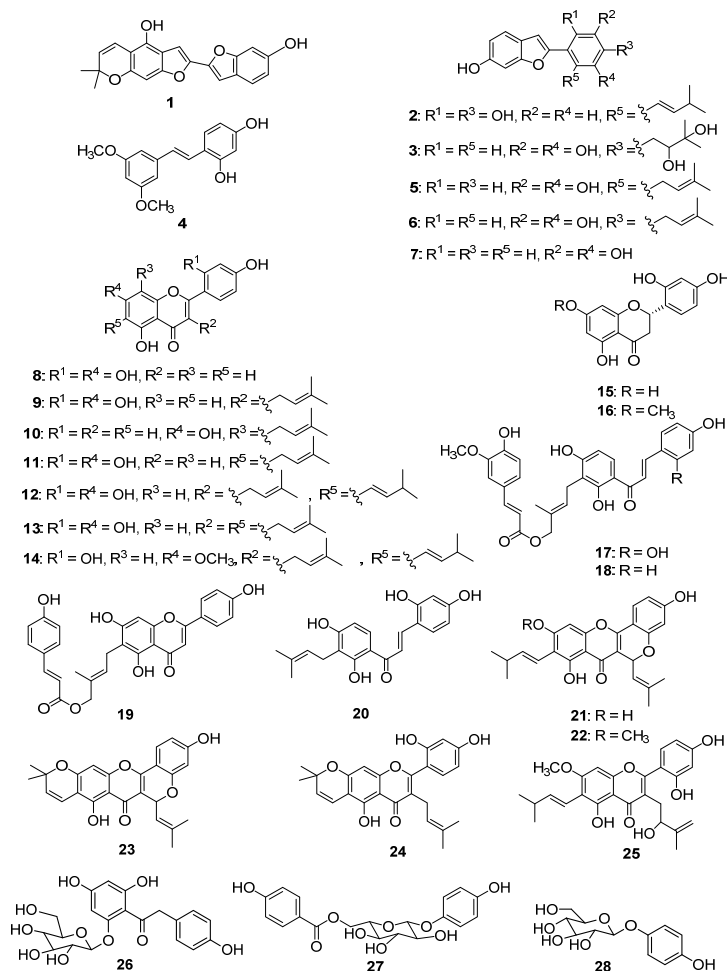
Oxyresveratrol (34): yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 230 (3.12), 308 (2.45), 335 (2.01); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3375, 1629; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.40 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.33 (1H, d, J = 16.4 Hz), 6.89 (1H, d, J = 16.4 Hz), 6.53 (2H, d, J = 2.4 Hz), 6.44 (1H, d, J = 2.4 Hz), 6.39 (1H, dd, J = 8.8, 2.4 Hz), 6.25 (1H, t, J = 2.4 Hz)

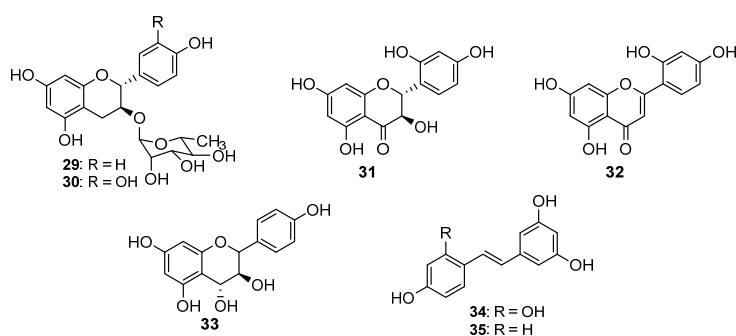
Trans-resveratrol (35): yellow gum; UV (MeOH) λ_{max} nm (log ϵ) 232 (3.22), 310 (2.32), 337 (1.89); IR (neat) ν_{max} cm^{-1} : 3305, 1613; δ_{H} (400 MHz, acetone- d_6) 7.41 (2H, d, J = 8.6 Hz), 7.01 (1H, d, J = 16.0 Hz), 6.88 (1H, J = 16.0 Hz), 6.84 (2H, d, J = 8.6 Hz), 6.53 (2H, d, J = 2.0 Hz), 6.27 (t, J = 2.0 Hz)

4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกิ่งของขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) และขนุนป่า (*A. lakoocha*) ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนกิ่งของขนุน (*A. heterophyllus*) ได้ทั้งหมด 25 สาร โดยเป็นสารใหม่ 4 สาร ได้แก่ heterophyllenes A-C (1-4) และสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วจำนวน 21 สาร คือ demethylmoracin I (5), moracin C (6), moracin M (7), norartocarpetin (8), albanin A (9), licoflavone C (10), artocarpesin (11), norartocarpin (12), cudraflavone C (13), artocarpin (14), steppogenin (15), artocarpanone (16), isogemichalcone C (17), artocarmitin (18), artocarmin B (19), morachalcone A (20), brosimone I (21), cycloartocarpin (22), cudraflavones A (23) และ B (24) และ artogomezianone (25)

สำหรับสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากกิ่งของขนุนป่า (*A. lakoocha*) สามารถแยกได้ทั้งหมด 10 สาร โดยเป็นสารใหม่ 1 สาร คือ สาร 26 และ สารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วอีก 9 สาร คือ breynioside A (27), arbutin (28), (+)-afzelecchin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (29), (+)-catechin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (30), dihydromorin (31), norartocarpetin (32), (+)-leucopelargonidin (33), oxyresveratrol (34) และ *trans*-resveratrol (35) วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ทั้งหมดที่ได้ด้วยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีโดยเฉพาะ 1D และ 2D NMR สเปกโทรสโกปี





จากนั้นทำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB), เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7), เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cell) ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นไปดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากกิ่งขนุนและขนุนป่า

Compound	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μ M)			
	KB	MCF-7	NCI-H187	Vero
1	30.77 $\pm$ 0.32	—	18.73 $\pm$ 0.43	9.62 $\pm$ 1.70
3	—	12.56 $\pm$ 1.45	—	38.45 $\pm$ 3.56
6	—	—	28.67 $\pm$ 0.49	—
10	—	—	31.73 $\pm$ 1.01	38.24 $\pm$ 0.32
12	18.45 $\pm$ 3.78	10.04 $\pm$ 1.02	14.78 $\pm$ 3.21	9.95 $\pm$ 0.23
14	13.57 $\pm$ 0.12	17.56 $\pm$ 0.03	14.21 $\pm$ 2.21	14.19 $\pm$ 2.38
16	—	—	—	49.72 $\pm$ 2.32
17	16.67 $\pm$ 0.21	28.52 $\pm$ 2.51	29.84 $\pm$ 2.01	15.16 $\pm$ 0.11
18	33.59 $\pm$ 4.32	21.89 $\pm$ 2.32	31.31 $\pm$ 4.55	11.31 $\pm$ 0.18
19	—	—	37.45 $\pm$ 2.12	32.51 $\pm$ 0.23
21	22.30 $\pm$ 0.20	37.91 $\pm$ 0.31	23.40 $\pm$ 1.23	23.49 $\pm$ 1.10
22	—	—	44.20 $\pm$ 2.23	—
24	25.78 $\pm$ 0.02	34.65 $\pm$ 0.34	35.51 $\pm$ 1.23	29.32 $\pm$ 1.12
25	19.39 $\pm$ 0.21	—	21.12 $\pm$ 0.34	37.02 $\pm$ 1.00
Ellipticine ^a	13.48	/	10.96	2.85
Doxorubicin ^a	1.95	15.44	0.15	/
Tamoxifen ^a	/	23.12	/	/

^a Reference compounds for cytotoxicity assay. — = Inactive. / = No test performed.

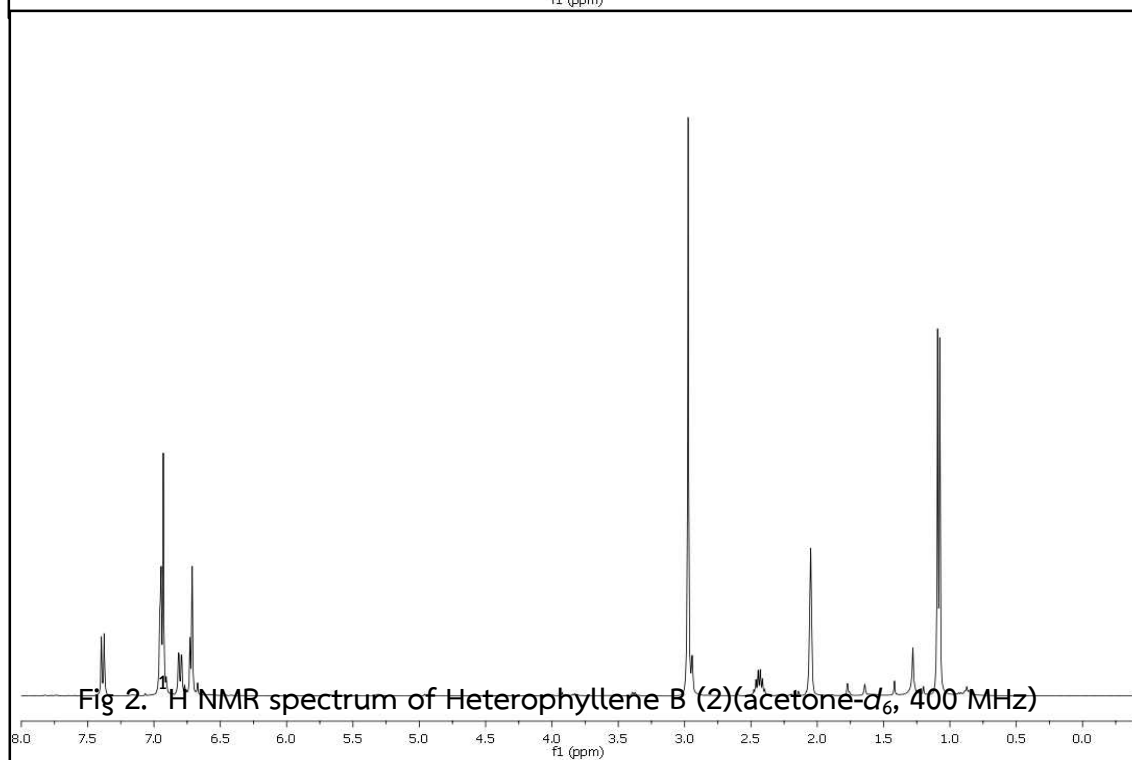
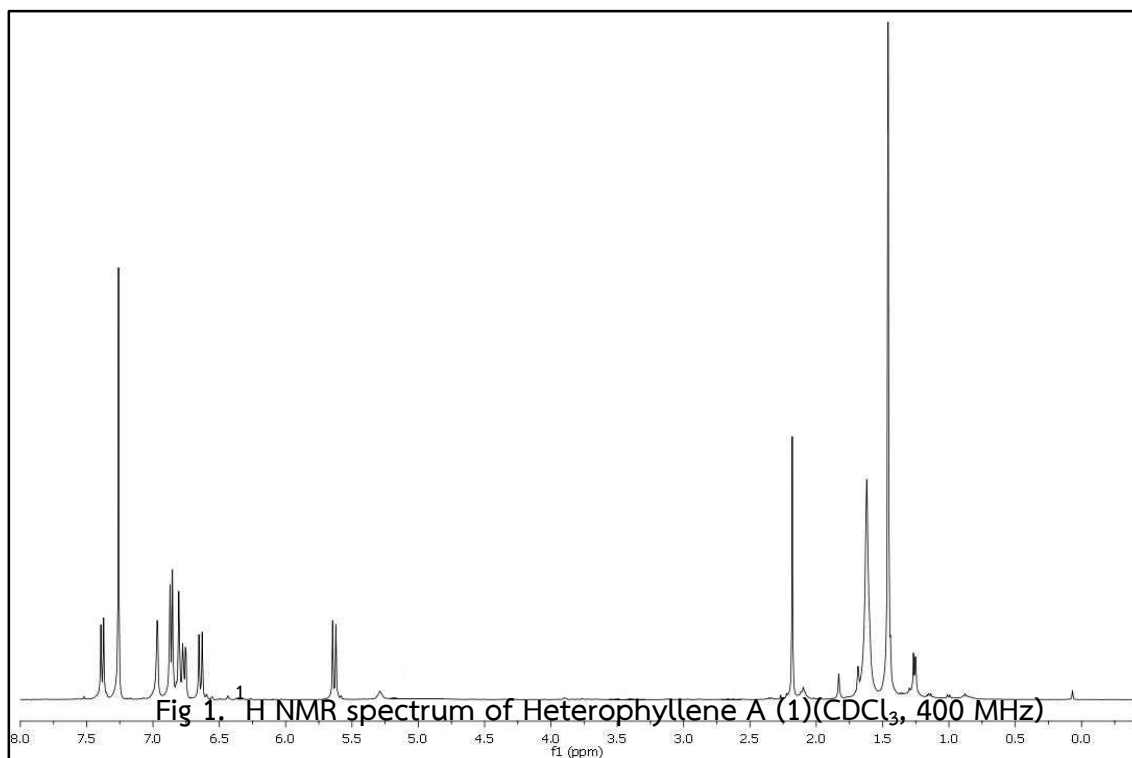
จากการทดสอบ สาร 1, 12, 17, 18, 21, 24 และ 25 แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB cell line) ในระดับปานกลางถึงอ่อน ด้วยค่า IC_{50} ในช่วง 16.67-33.59 μM ขณะที่สาร 14 แสดงฤทธิ์ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 13.57 μM ซึ่งใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน ellipticine สาร 3 และ 12 มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7 cell line) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 12.56 และ 10.04 μM ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าสารมาตรฐาน doxorubicin นอกจากนั้นสาร 6 และ 22 แสดงฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187 cell line) เพียงชนิดเดียว ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 28.67 และ 44.20 μM ตามลำดับ และไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ สำหรับความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ นั้น สาร 1 และ 12 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 9.62 และ 9.95 μM ตามลำดับ ในขณะที่สารอื่นๆ แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ด้วยค่า IC_{50} ในช่วง 11.31-49.72 μM

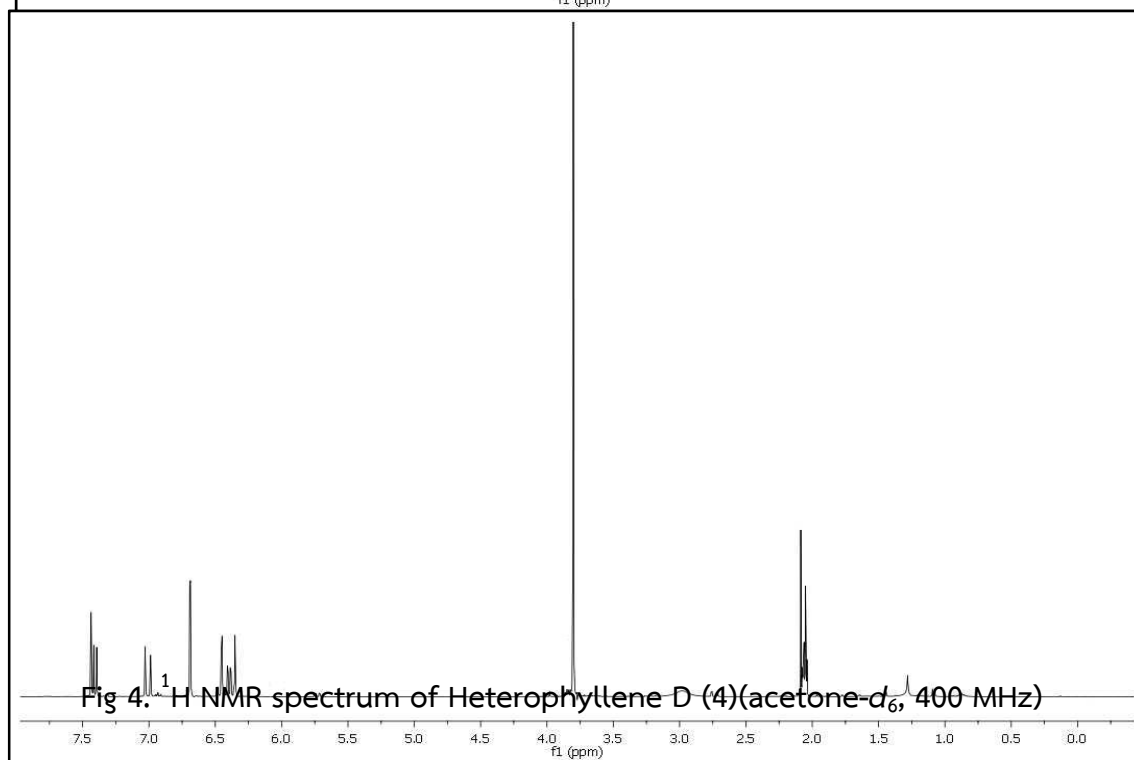
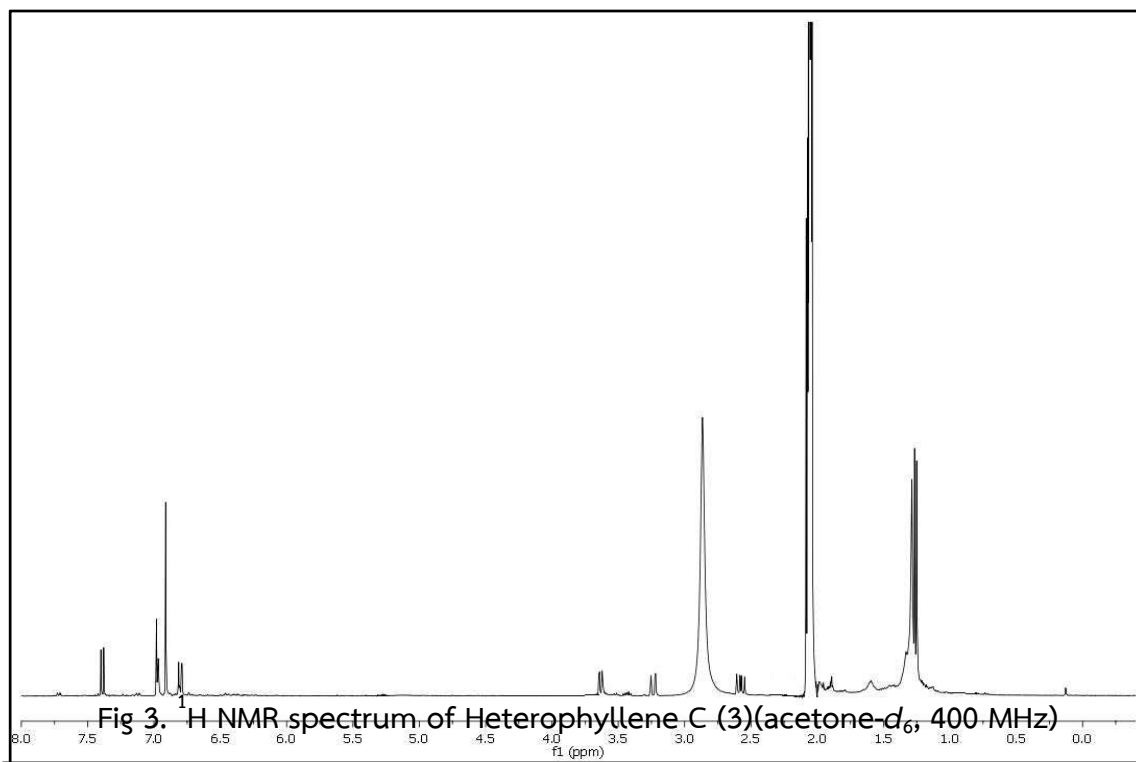
ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

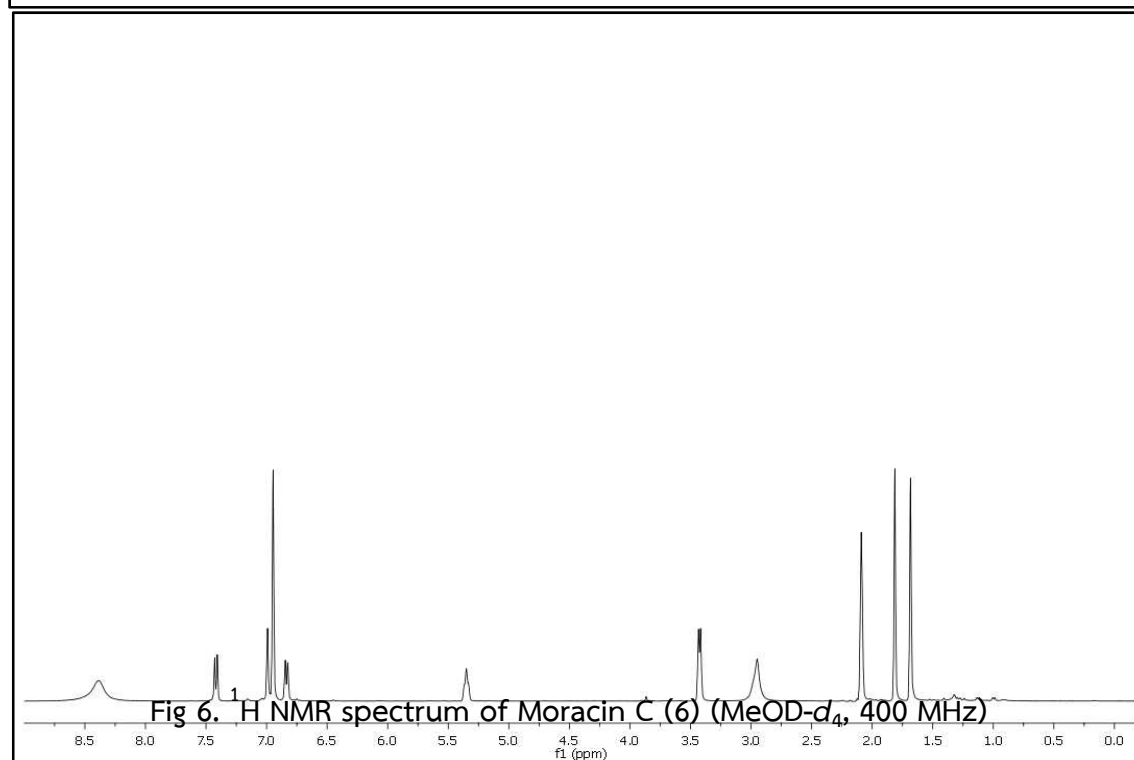
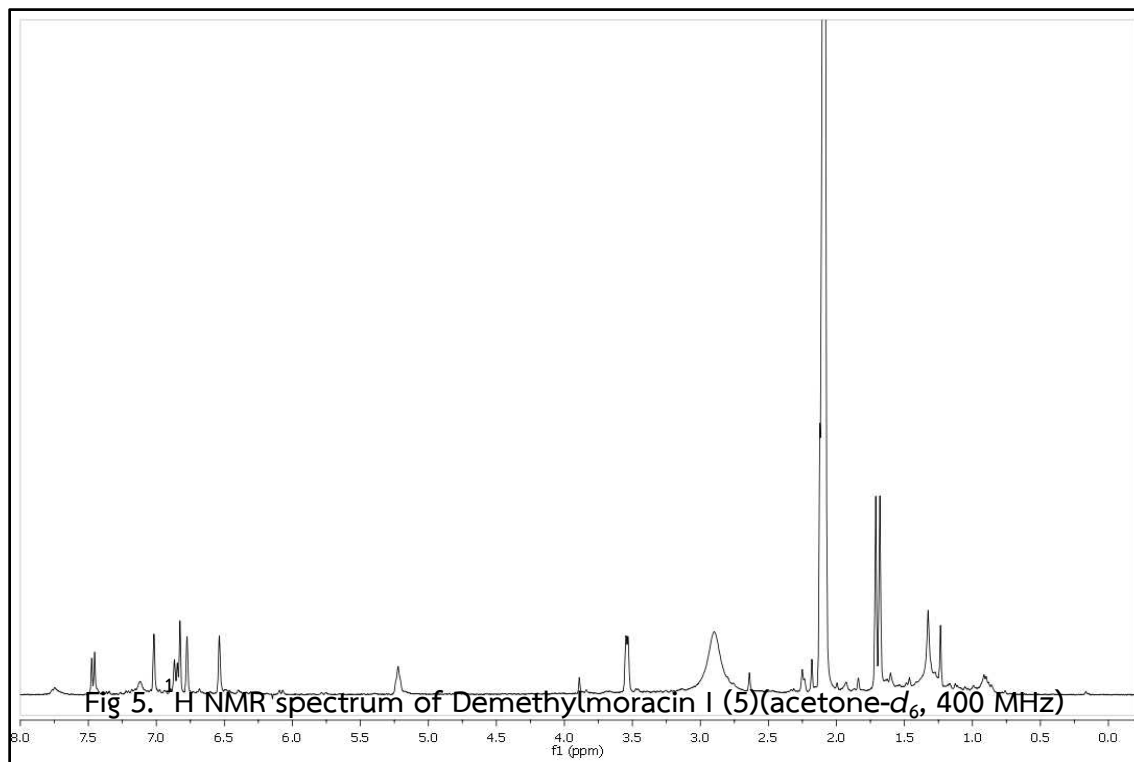
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากกิ่งของขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) และขนุนป่า (*A. lakoocha*) เป็นสกัด แยก และวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี จากนั้นนำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจศึกษา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB), เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และ เซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) พบสารบริสุทธิ์บางสารที่แยกได้นั้น แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งต่างๆ ในระดับที่อ่อนถึงปานกลาง ซึ่งอาจจะใช้ข้อมูลเหล่านี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน หรือสังเคราะห์สารใหม่ที่มีโครงสร้างพื้นฐานมาสารจำพวกนี้ เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นหรือเป็นยาในการรักษาโรคต่อไป

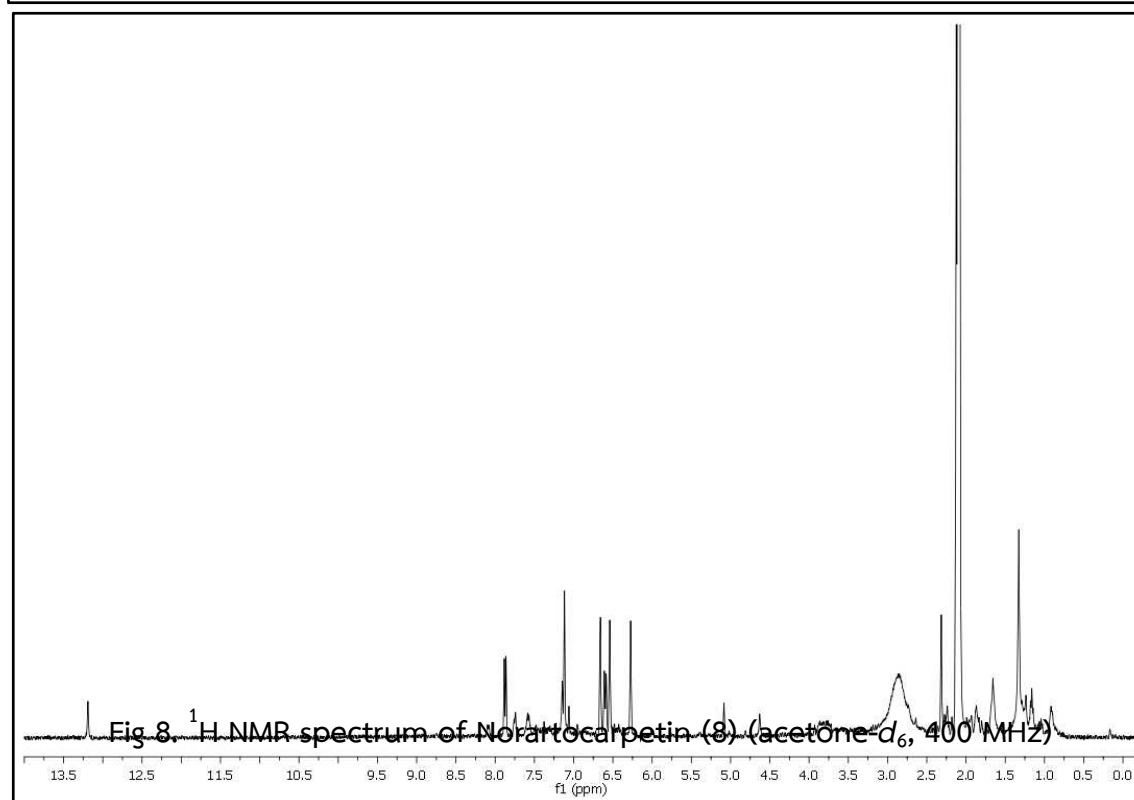
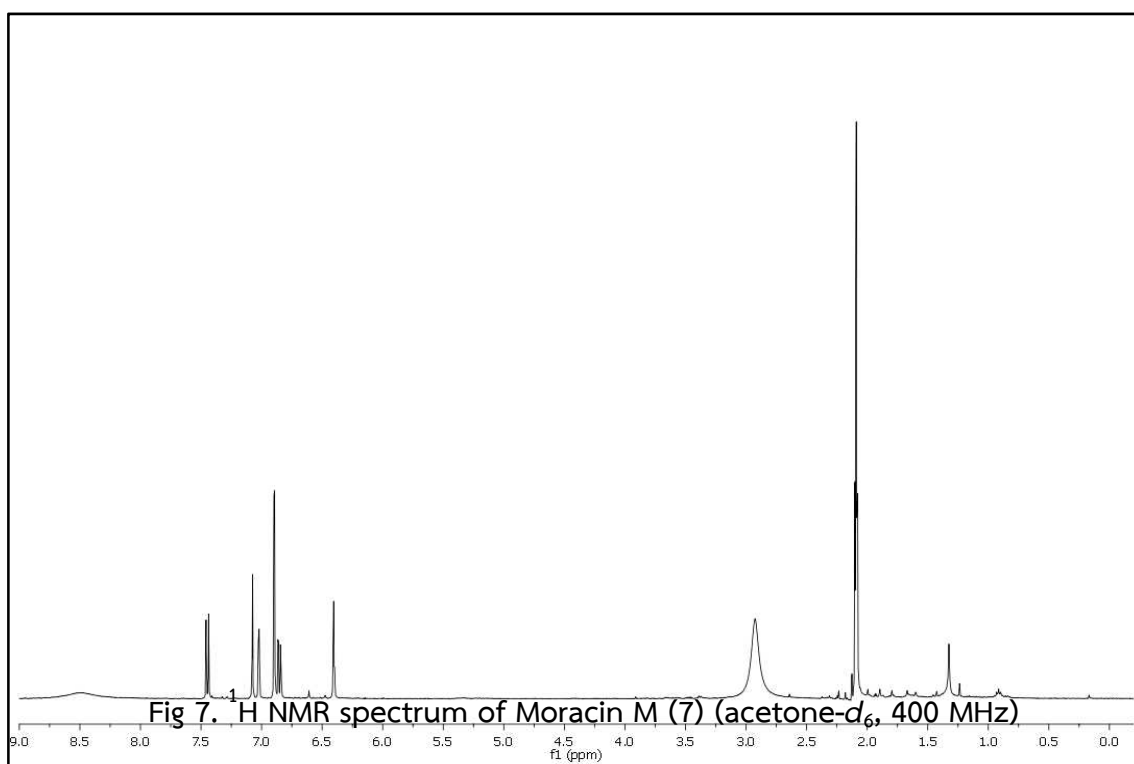
5. ภาคผนวก

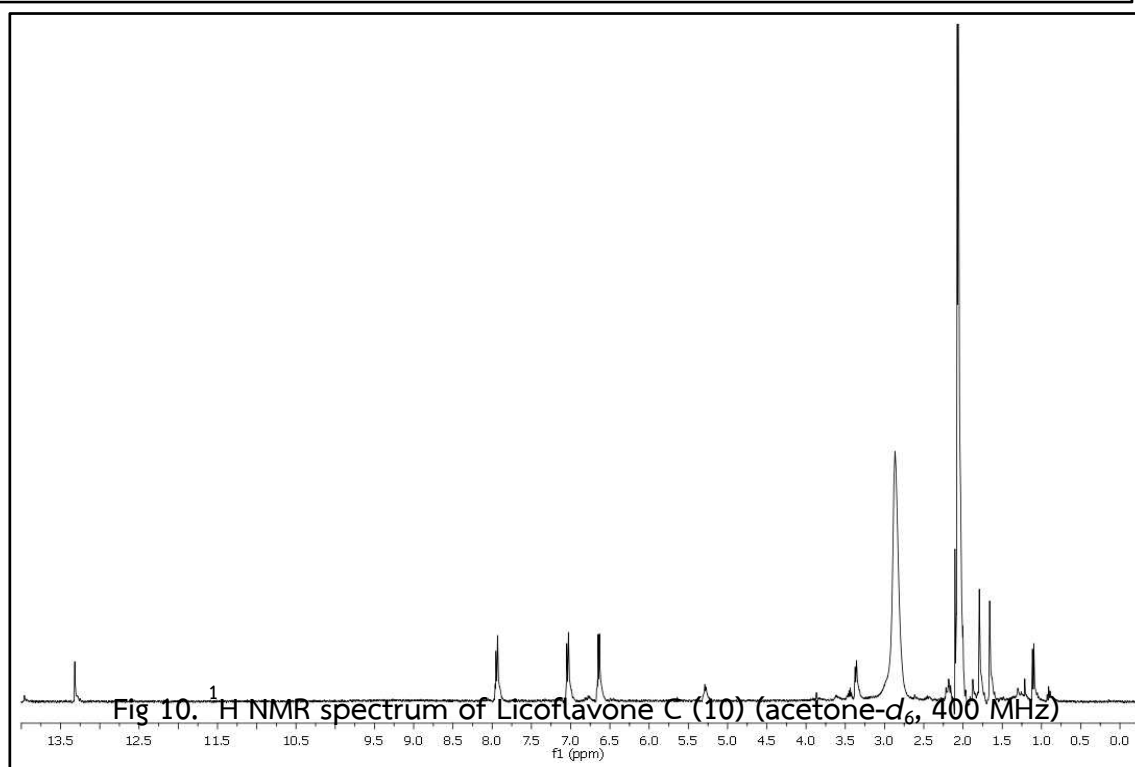
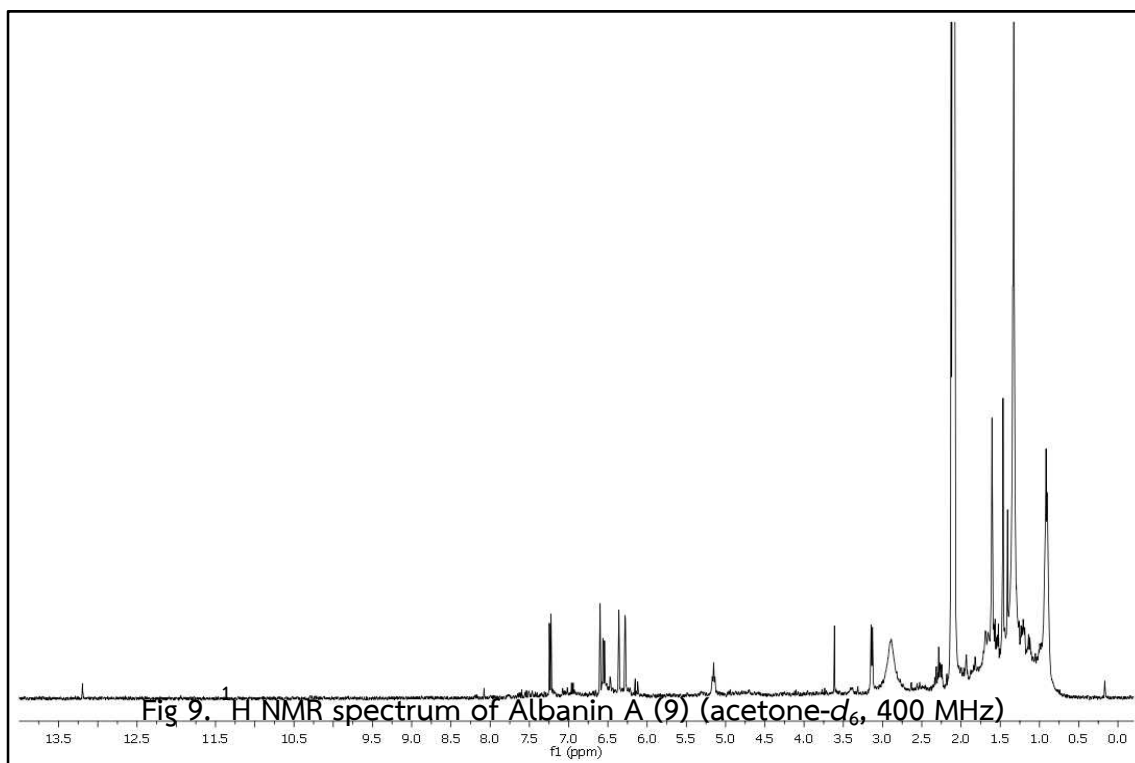
¹H NMR spectrum ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมด

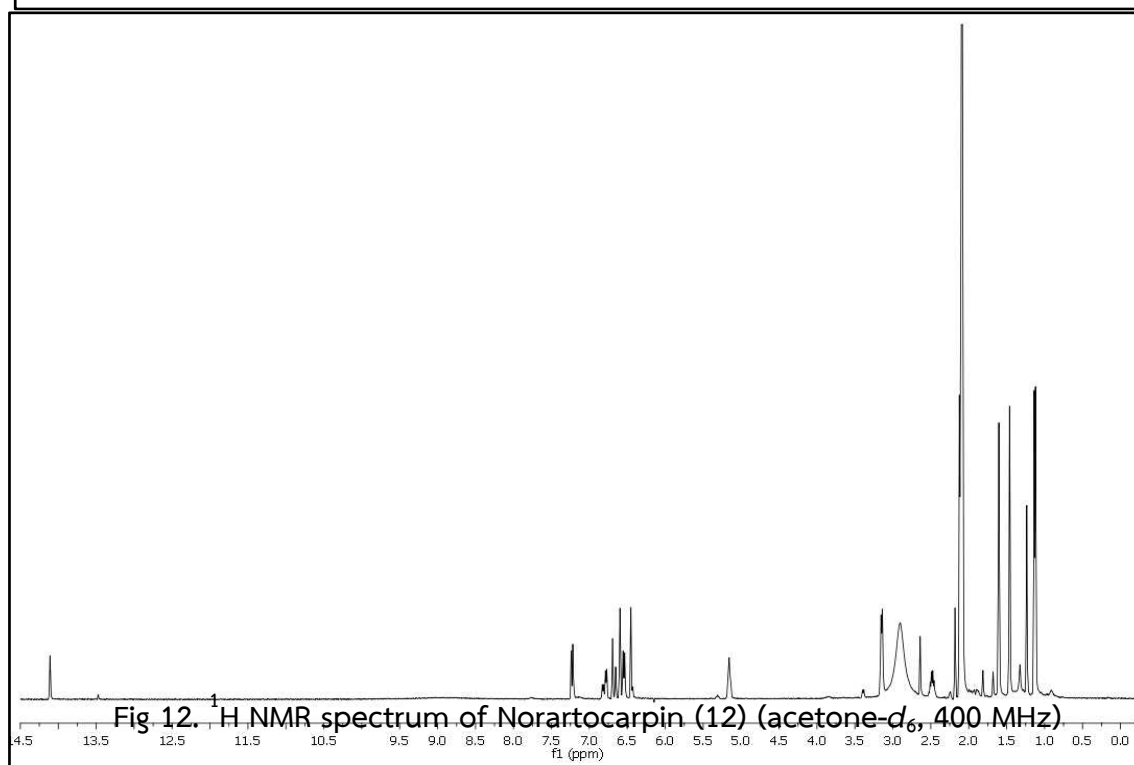
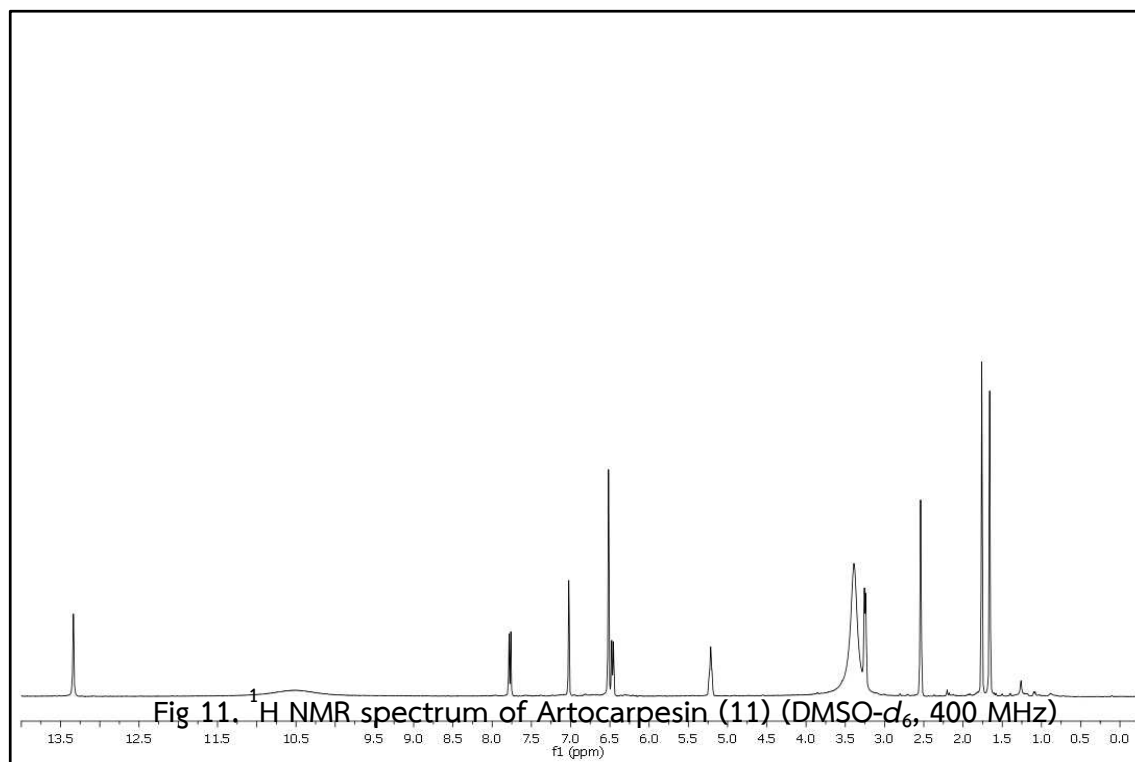


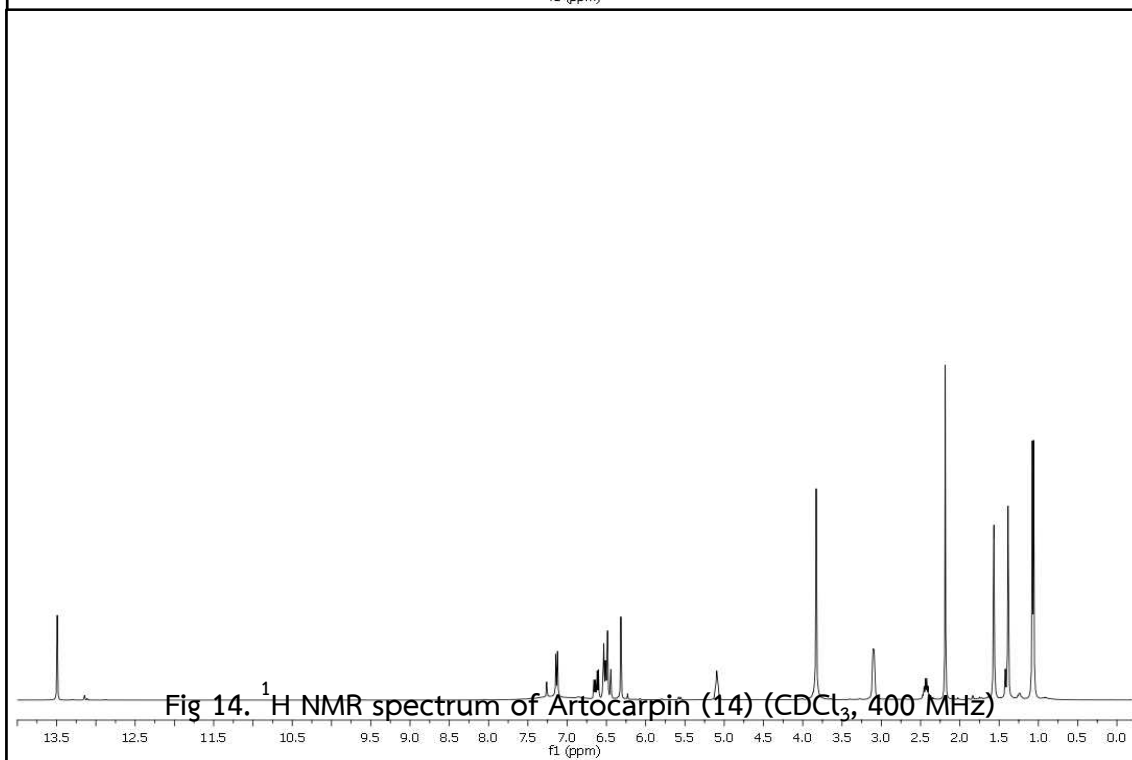
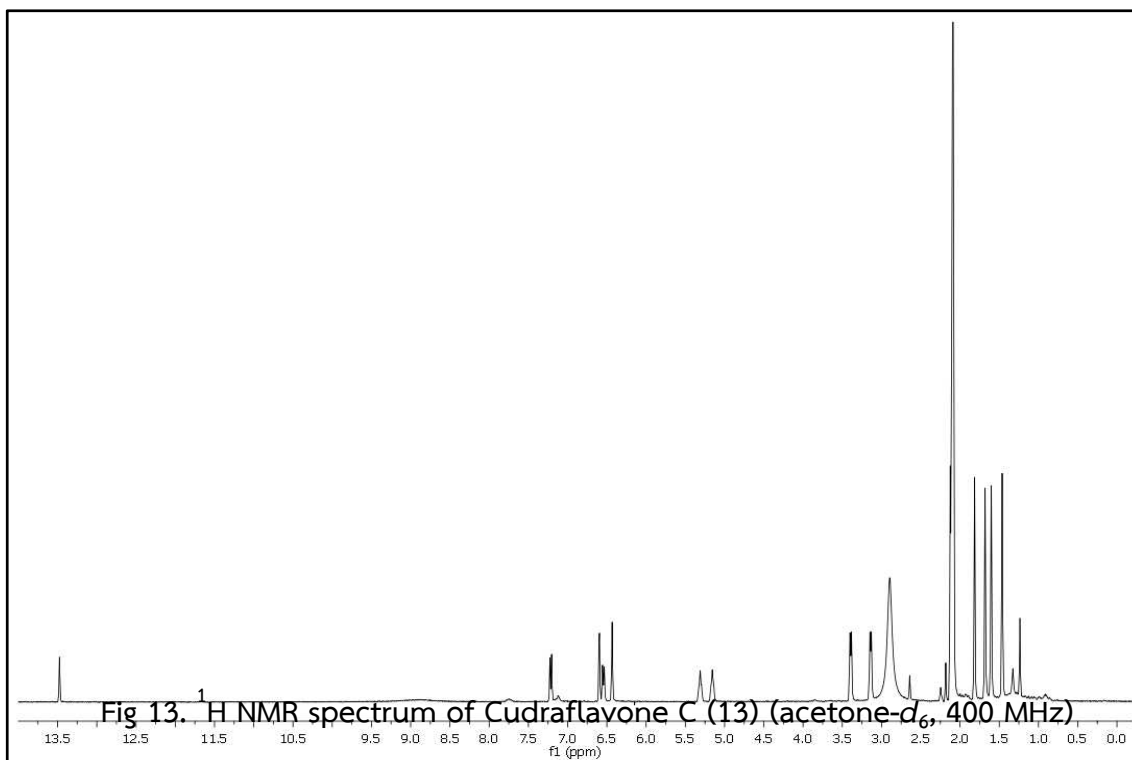


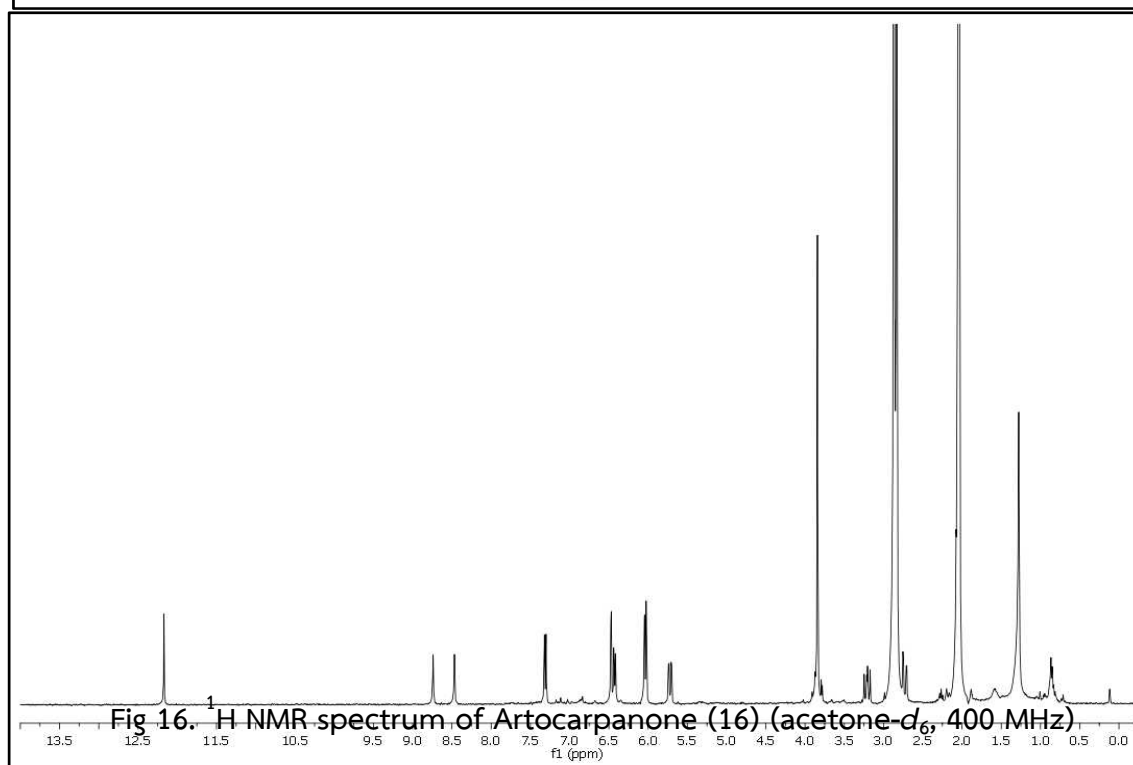
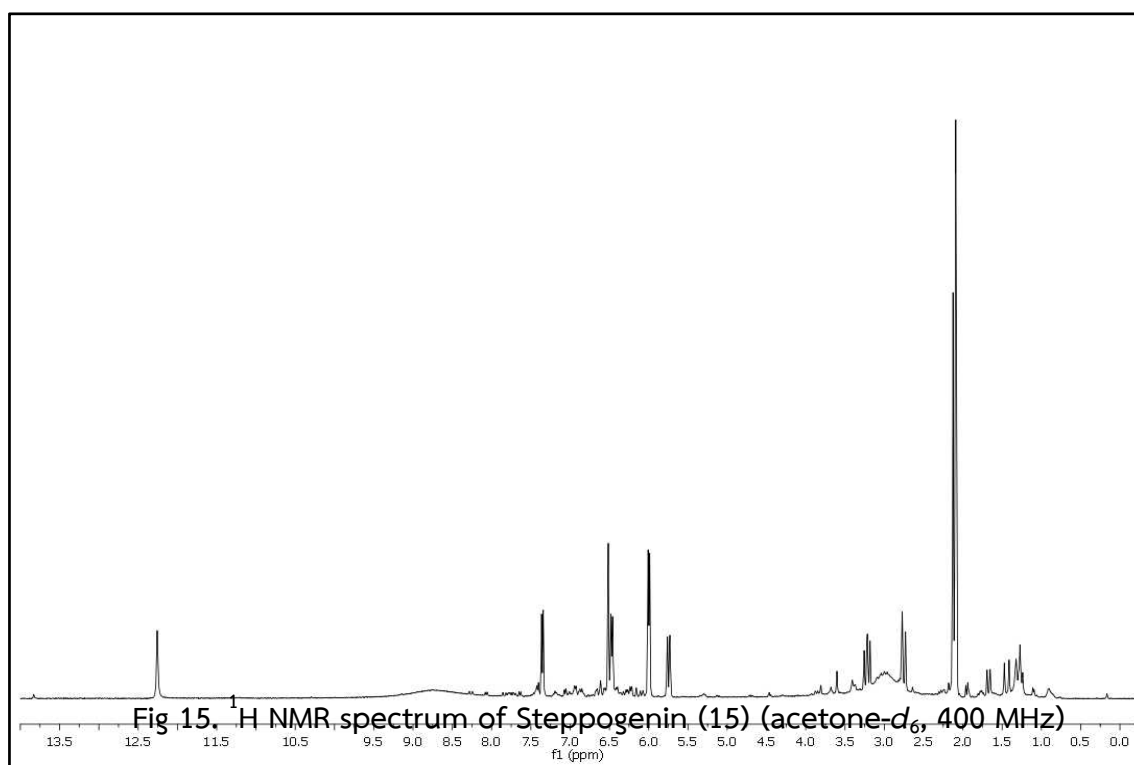


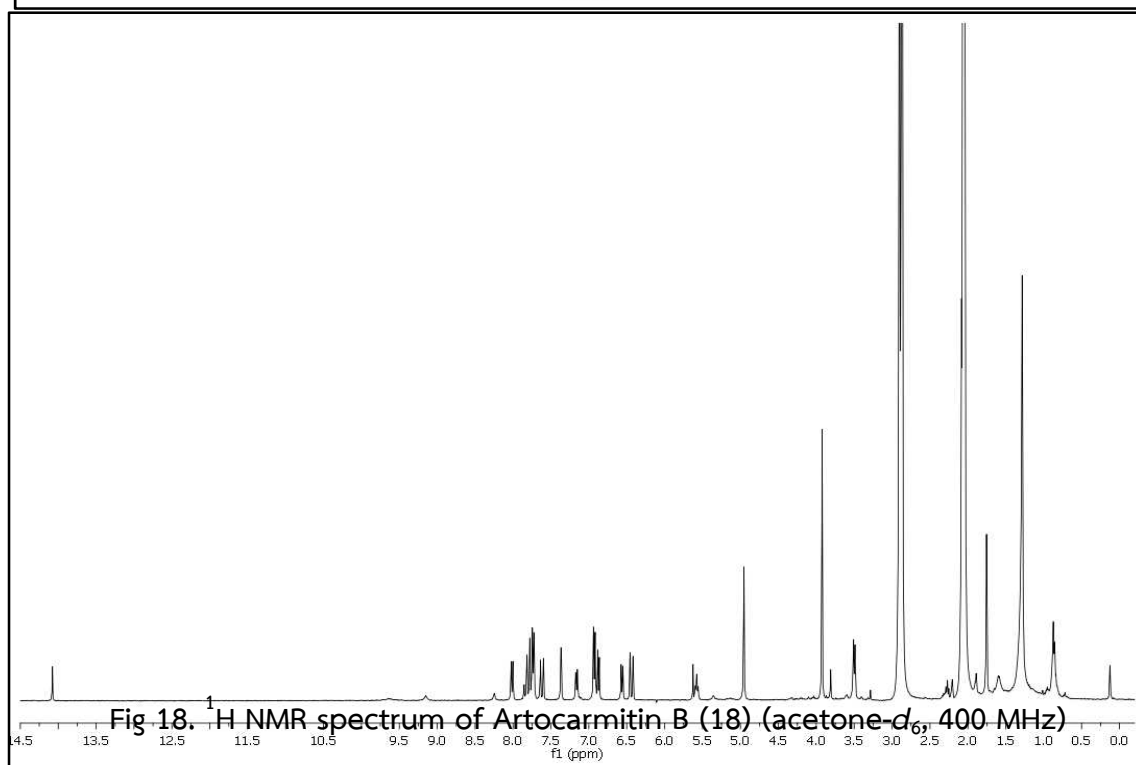
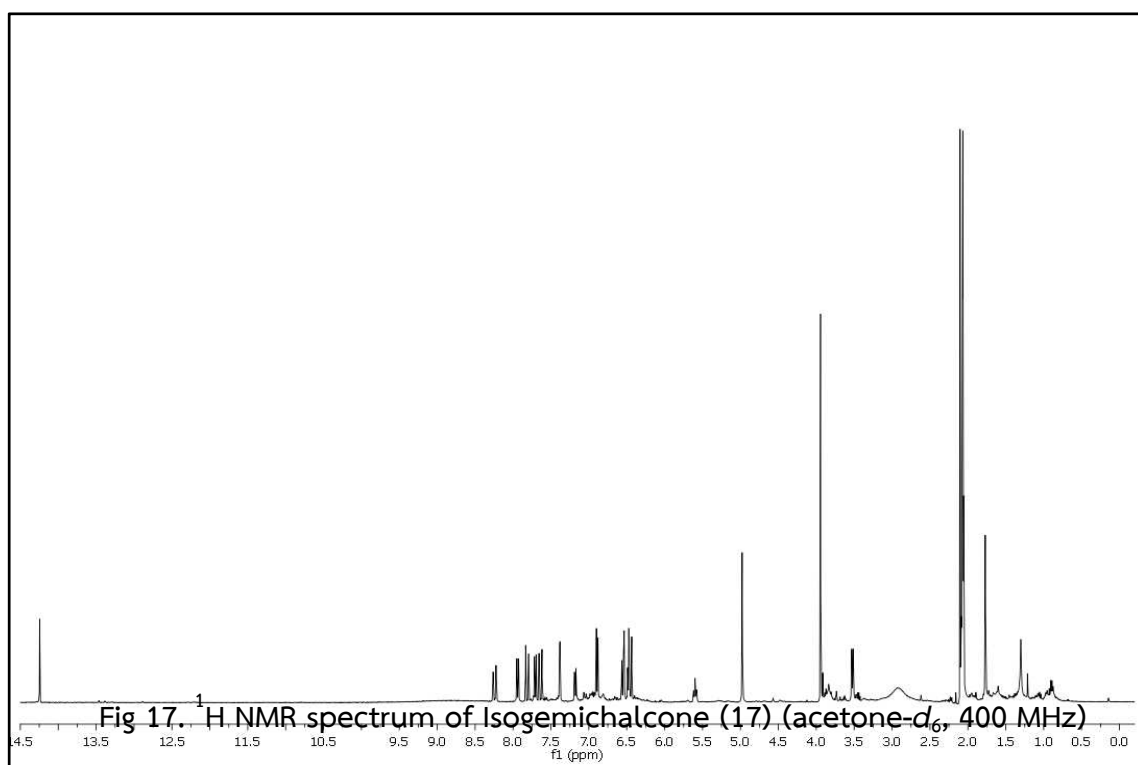


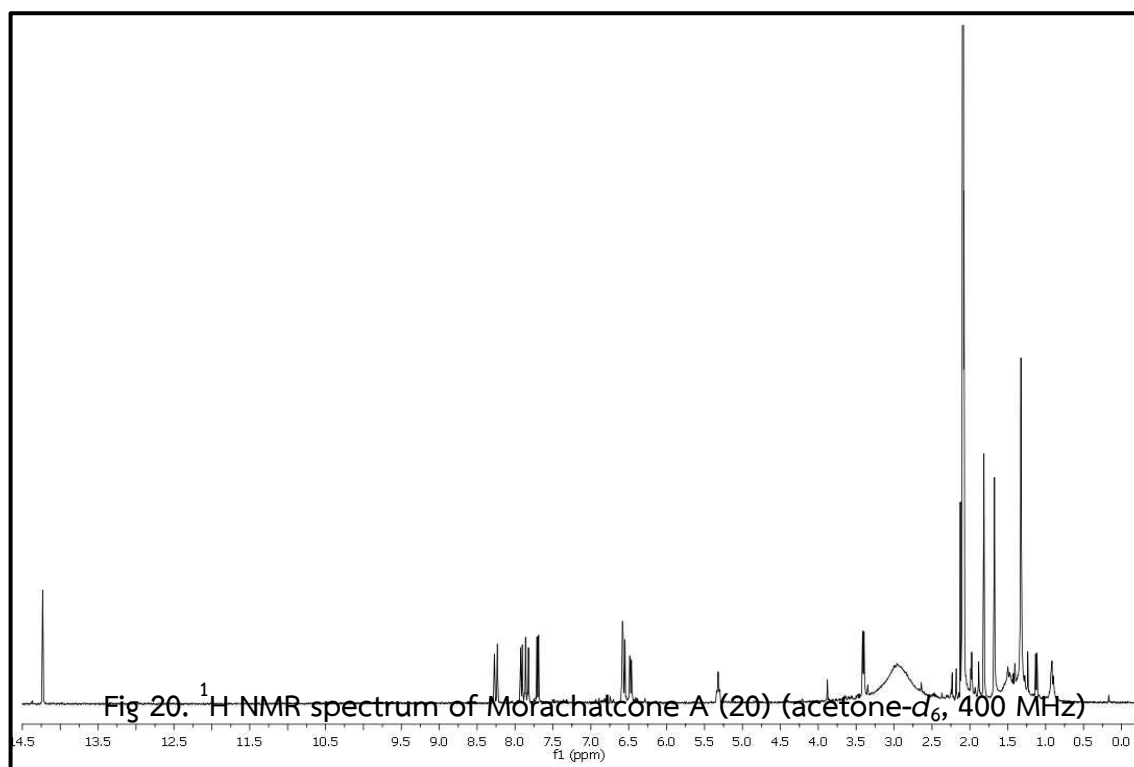
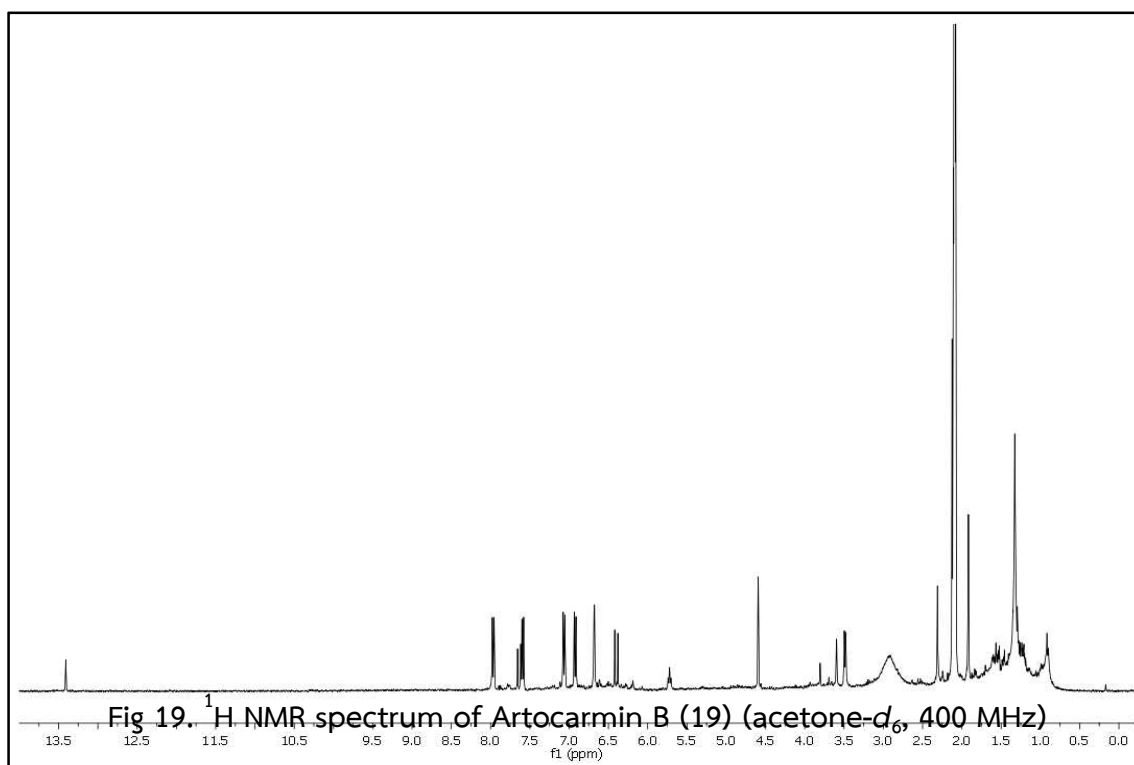


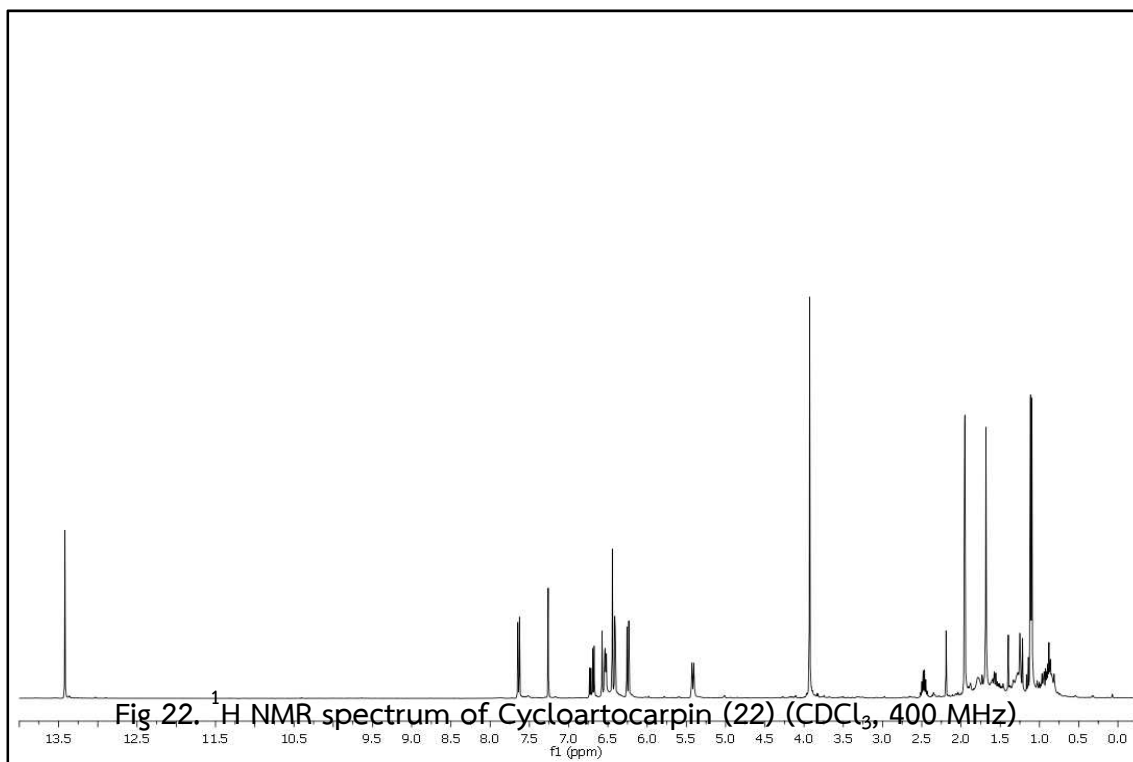
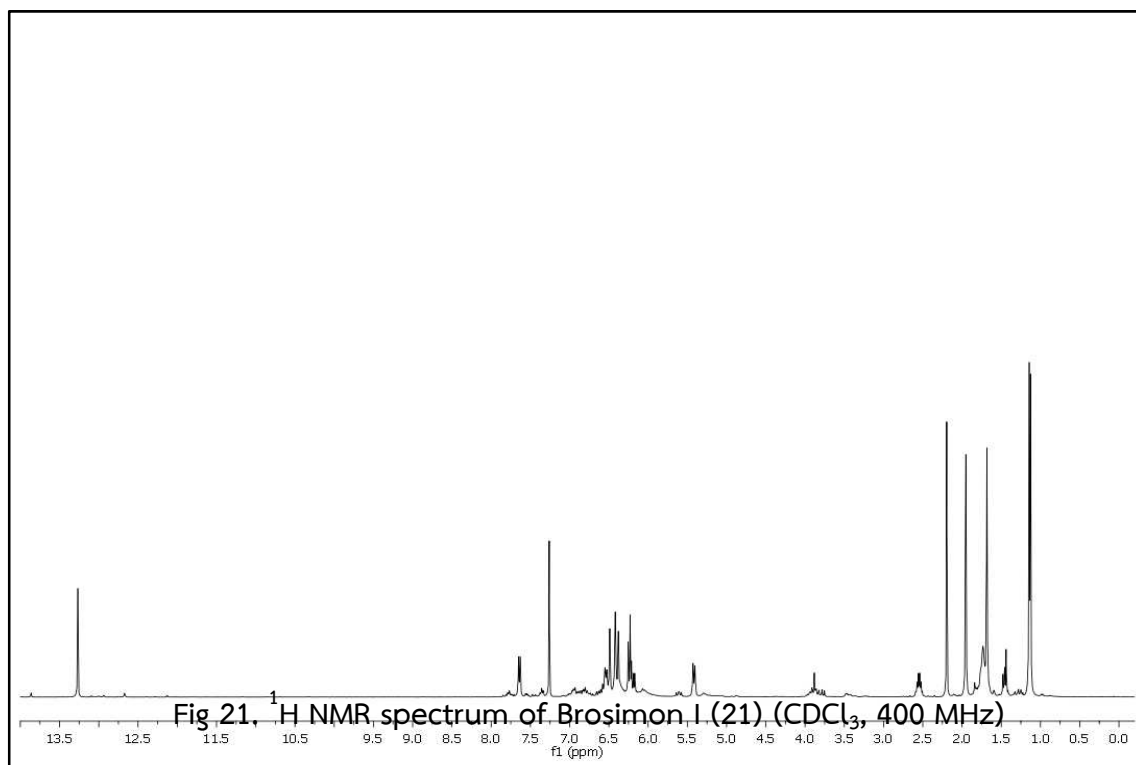


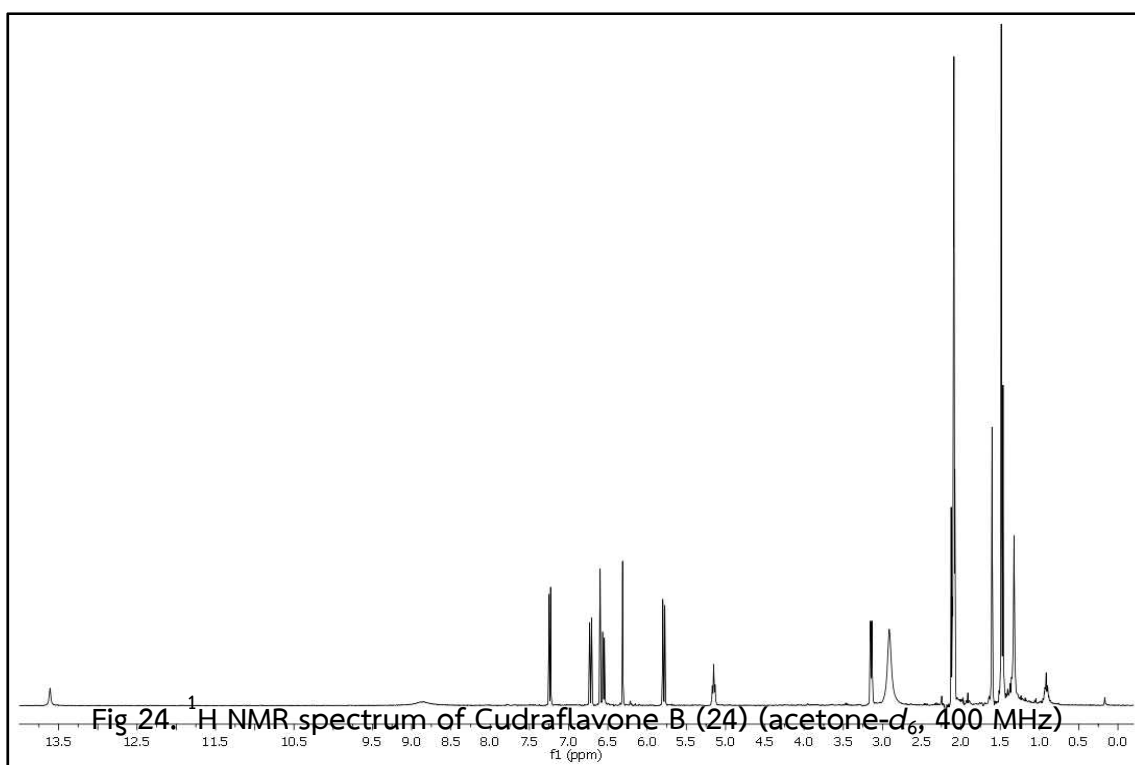
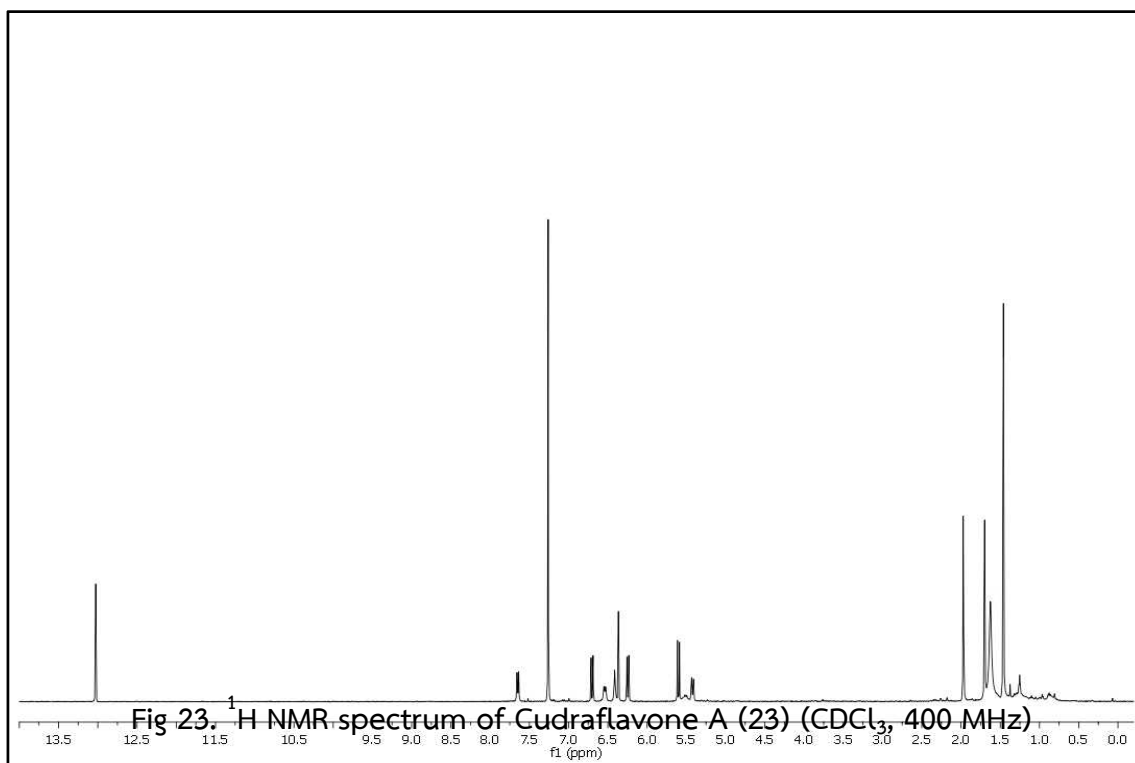


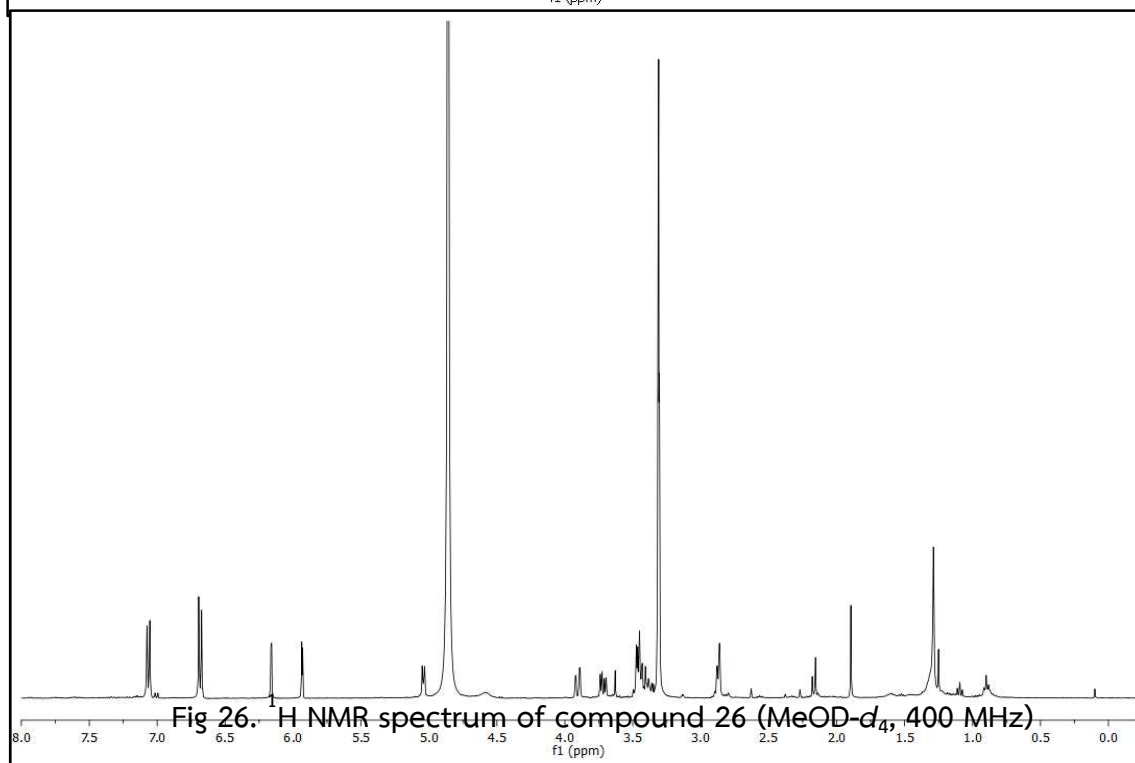
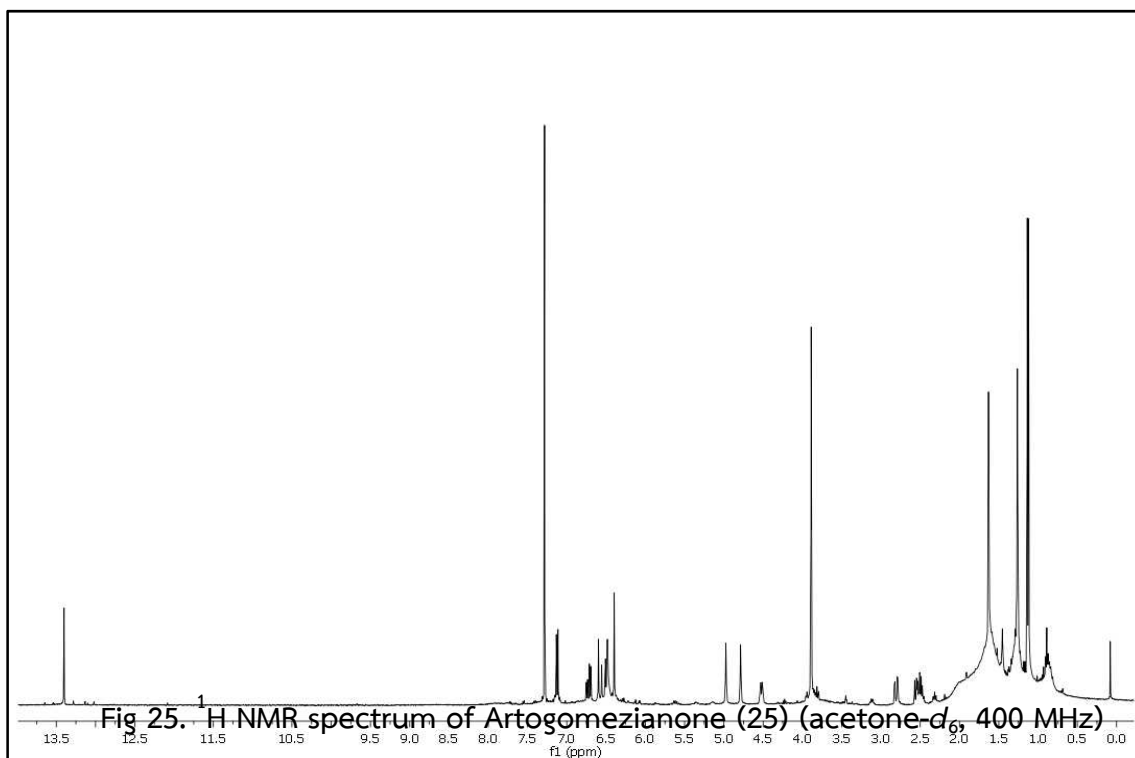


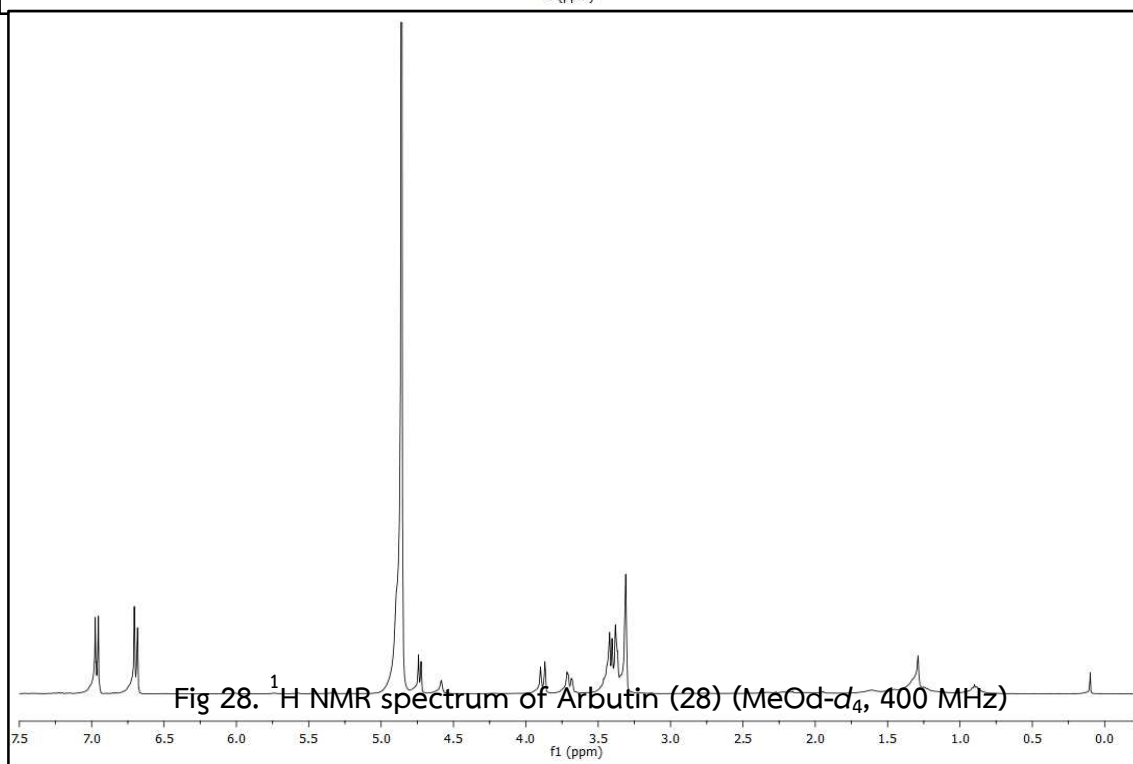
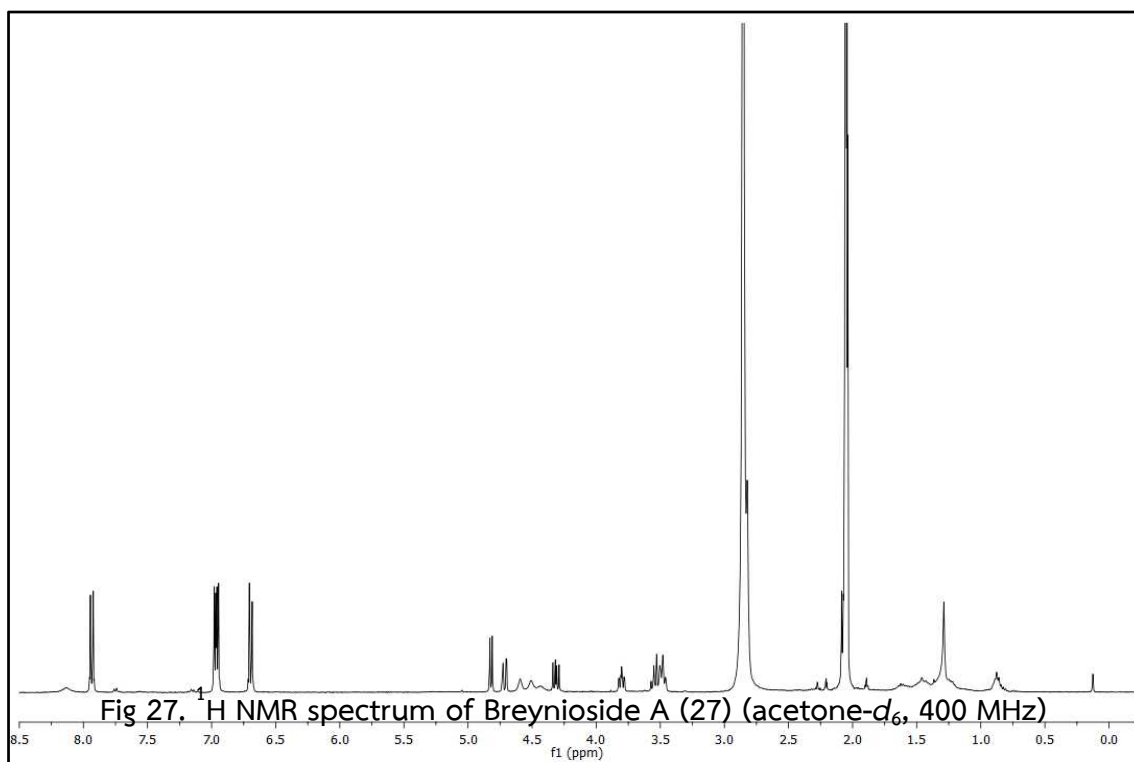


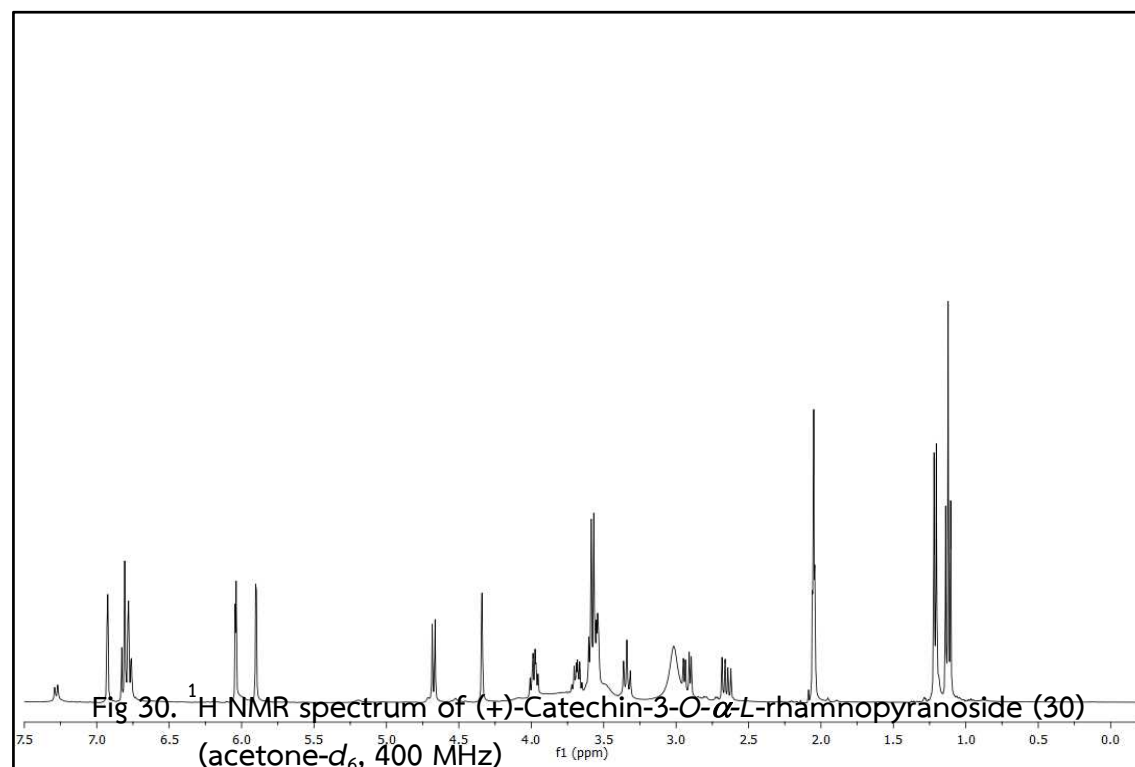
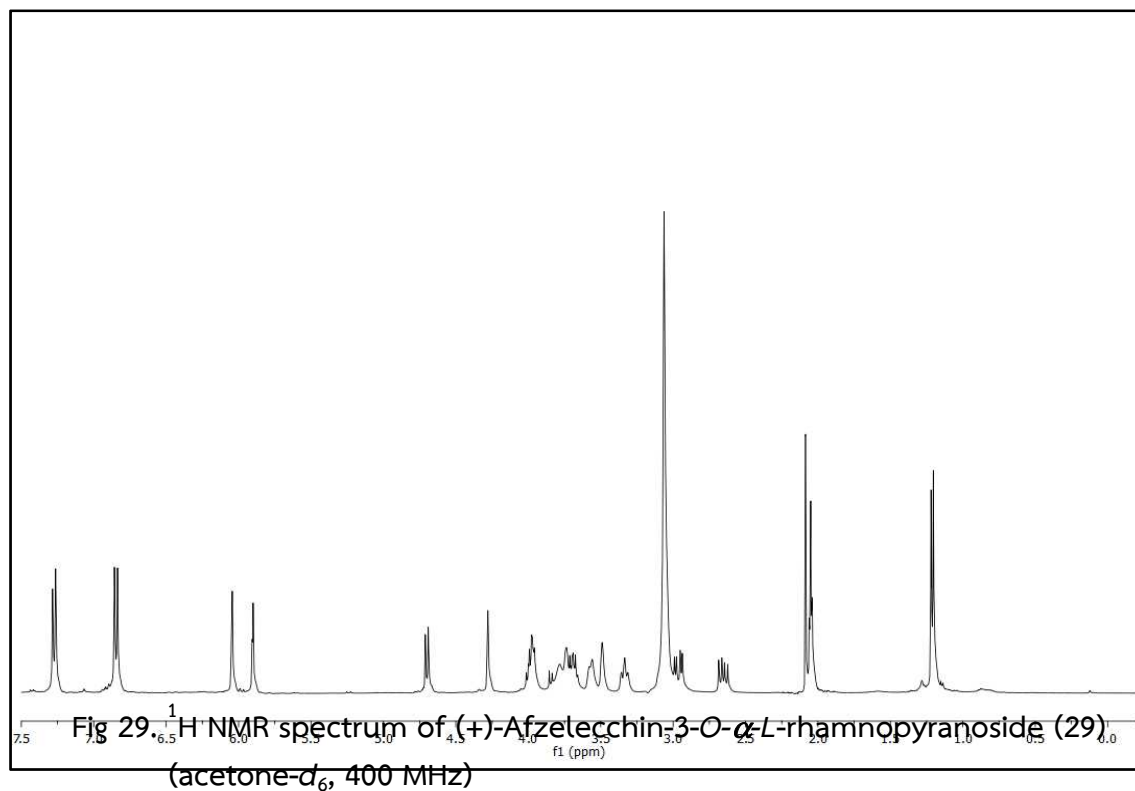


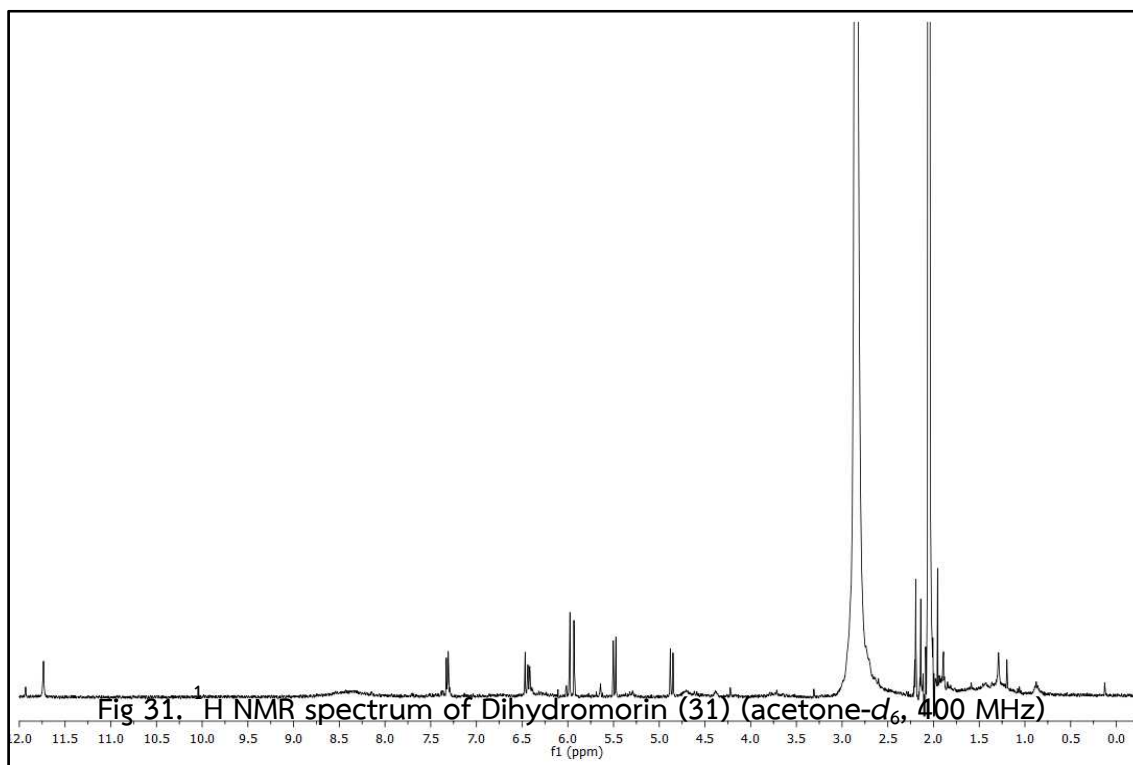


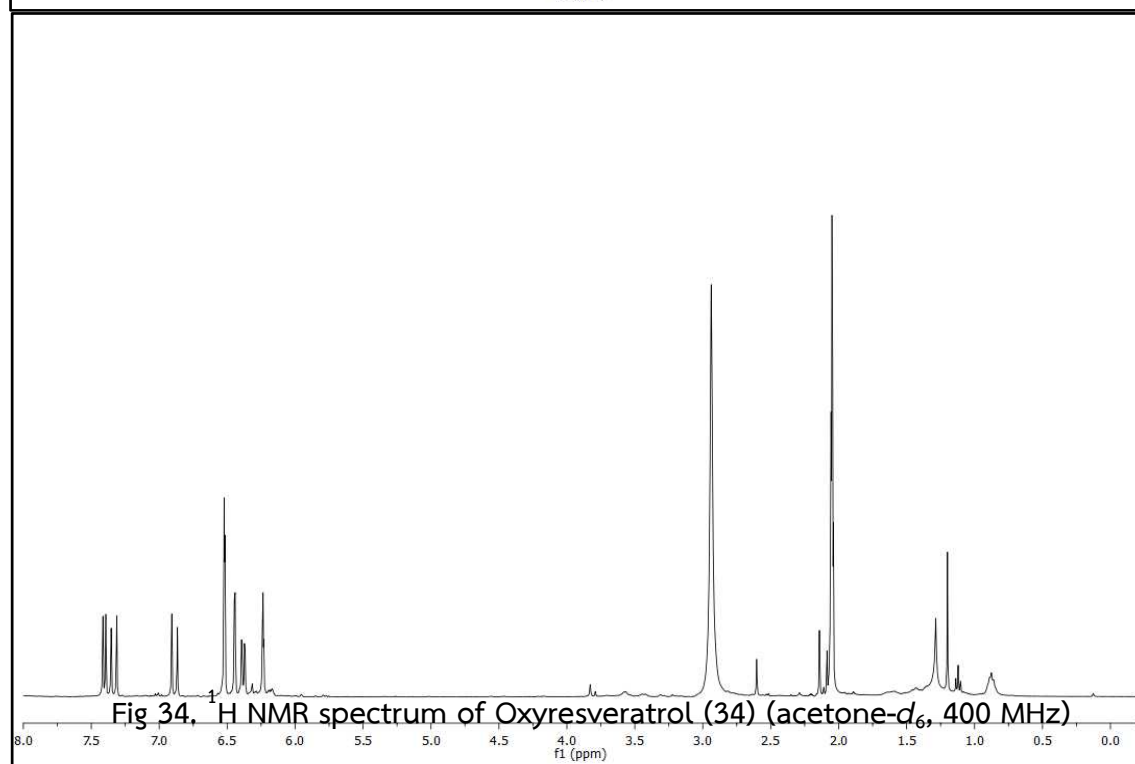
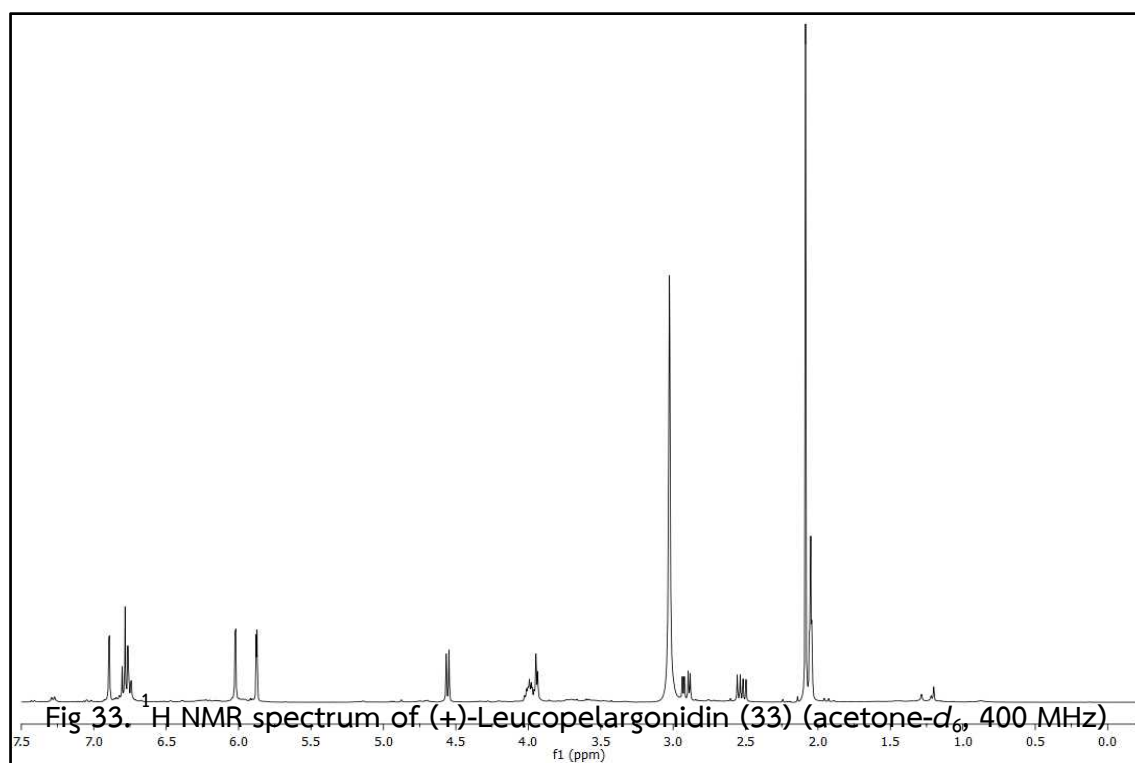


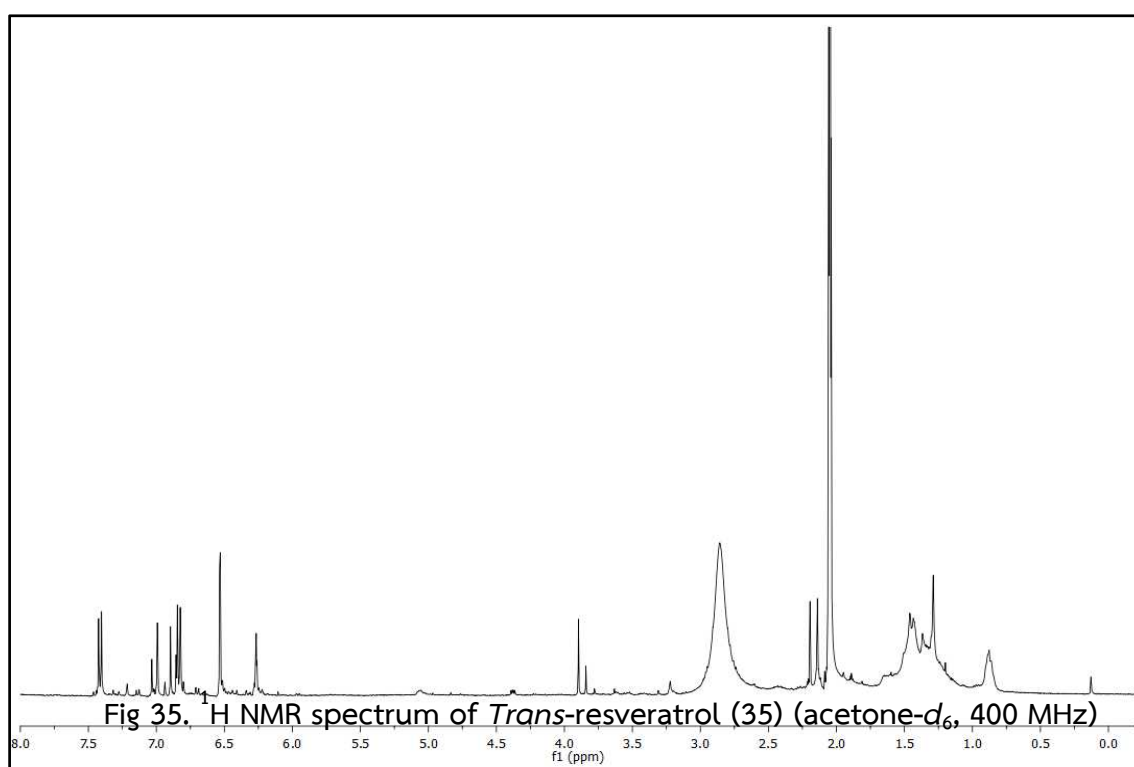














Cytotoxic arylbenzofuran and stilbene derivatives from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*



Sirada Boonyaketgosa^{a,b}, Vatcharin Rukachaisirikul^c, Souwalak Phongpaichit^d, Kongkiat Trisuwan^{a,*}

^a Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^b Graduate School, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^c Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

^d Department of Microbiology and Natural Product Research Center of Excellence, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 February 2017

Revised 2 March 2017

Accepted 7 March 2017

Available online 9 March 2017

Keywords:

Artocarpus heterophyllus

Arylbenzofuran

Stilbene

Cytotoxic activity

ABSTRACT

Four new natural products, including three arylbenzofurans named heterophyllenes A–C (1–3), and one stilbene named heterophyllene D (4), together with twenty-one known compounds were isolated from the twigs of *Artocarpus heterophyllus* and their structures elucidated by spectroscopic methods, mainly 1D and 2D NMR spectroscopy. The cytotoxic activity of selected compounds against KB, MCF-7 and NCI-H187 cell lines was evaluated. Heterophyllene C (3) exhibited cytotoxicity against the MCF-7 cell line with an IC₅₀ value of 12.56 μM. Additionally, the known compounds norartocarpin and artocarpin showed cytotoxic activity against MCF-7 and KB cell lines with IC₅₀ values of 10.04 and 13.57 μM, respectively. Both compounds also displayed cytotoxicity against the NCI-H187 cell line with values of 14.78 and 14.21 μM, respectively.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Artocarpus heterophyllus (jackfruit), belonging to the family Moraceae, is widely distributed in tropical regions of Asia including Thailand, Sri Lanka, China and Vietnam. Many parts of *A. heterophyllus* have been used as traditional medicines for alleviating asthma (roots), diarrhea (seeds), and relieving wounds (leaves).^{1,2} *A. heterophyllus* is a rich source of phenolic compounds, flavonoids, stilbenoids and arylbenzofurans possessing antibacterial, anti-malarial and anti-inflammatory activities.^{1,3} Herein, we describe the isolation and structural determination of chemical constituents from the methanol extract of twigs from *A. heterophyllus* which exhibited cytotoxic activity against oral human carcinoma (KB), human breast cancer (MCF-7) and lung cancer (NCI-H187) cell lines with IC₅₀ values of 20.3, 21.5 and 34.4 μg/mL, respectively. Purification of the methanol extract led to the isolation of four new natural products; three arylbenzofurans, heterophyllenes A (1), B (2) and C (3), and one stilbene, heterophyllene D (4), along with twenty-one known compounds, demethylmoracin I (5),⁴ moracin C (6),⁵ moracin M (7),⁶ norartocarpin (8),⁷ albanin A (9),⁸ licoflavone C (10),⁹ 5,7,2',4'-tetrahydroxy-6-[3''-methylbut-3''-enyl]-flavone (11),¹⁰ norartocarpin (12),¹¹ cudraflavone C (13),¹² artocarpin (14),¹³ steppogenin (15),¹⁴ artocarpanone (16),¹⁵ isogemichalcone C (17),⁴ artocarmitin (18),¹⁶ artocarmin B (19),¹⁶ morachalcone A (20),¹⁷ brosimone I (21),¹⁸ cycloartocarpin

(22),¹⁴ cudraflavones A (23)¹⁵ and B (24)¹⁴ and artogomezianone (25).¹³ The cytotoxic activity of selected compounds was evaluated against KB, MCF-7, NCI-H187 and non-tumorigenic Vero (African green monkey kidney fibroblast) cell lines.

The isolated compounds 1–25 (Fig. 1) were purified from the methanolic crude extract using various chromatographic techniques (ESI) and their structures determined by spectroscopic data (IR, UV, 1D and 2D NMR, and MS). For known compounds, the structures were confirmed by comparison of their ¹H and ¹³C NMR data with those previously reported in the literature.

Heterophyllene A (1) was obtained as a pale yellow gum with the molecular formula C₂₁H₁₆O₅ assigned from HRESI-TOFMS. The UV spectrum displayed maximum absorption bands at λ_{max} 224, 245, 275 and 310 nm, suggesting the presence of a benzofuran chromophore,¹⁹ while the IR spectrum showed absorption bands for hydroxy and double bond functional groups at 3420 and 1645 cm^{−1}, respectively. The ¹H NMR spectrum (Table 1) showed signals for the three aromatic protons of a 1,2,4-trisubstituted benzene ring [δ_H 7.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H)], three singlet aromatic protons [δ_H 6.97, 6.87, 6.85, each s, 1H] and a dimethylchromene ring [δ_H 6.64 and 5.64, each d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 1.40 (s, 6H)]. Compound 1 displayed carbon resonances for eleven quaternary (δ_C 155.6, 154.7, 154.1, 154.0, 153.6 (2C), 151.5, 122.8, 113.8, 101.2, 76.3), eight methine (δ_C 129.6, 121.2, 116.2, 112.1, 105.6, 103.9, 101.6, 98.2) and two methyl [δ_C 27.8 (2C)] carbons in the ¹³C NMR and DEPT

* Corresponding author.

E-mail addresses: kongkiat.t@cmu.ac.th, kongkiat.t@hotmail.com (K. Trisuwan).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.03.020>

0040-4039/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

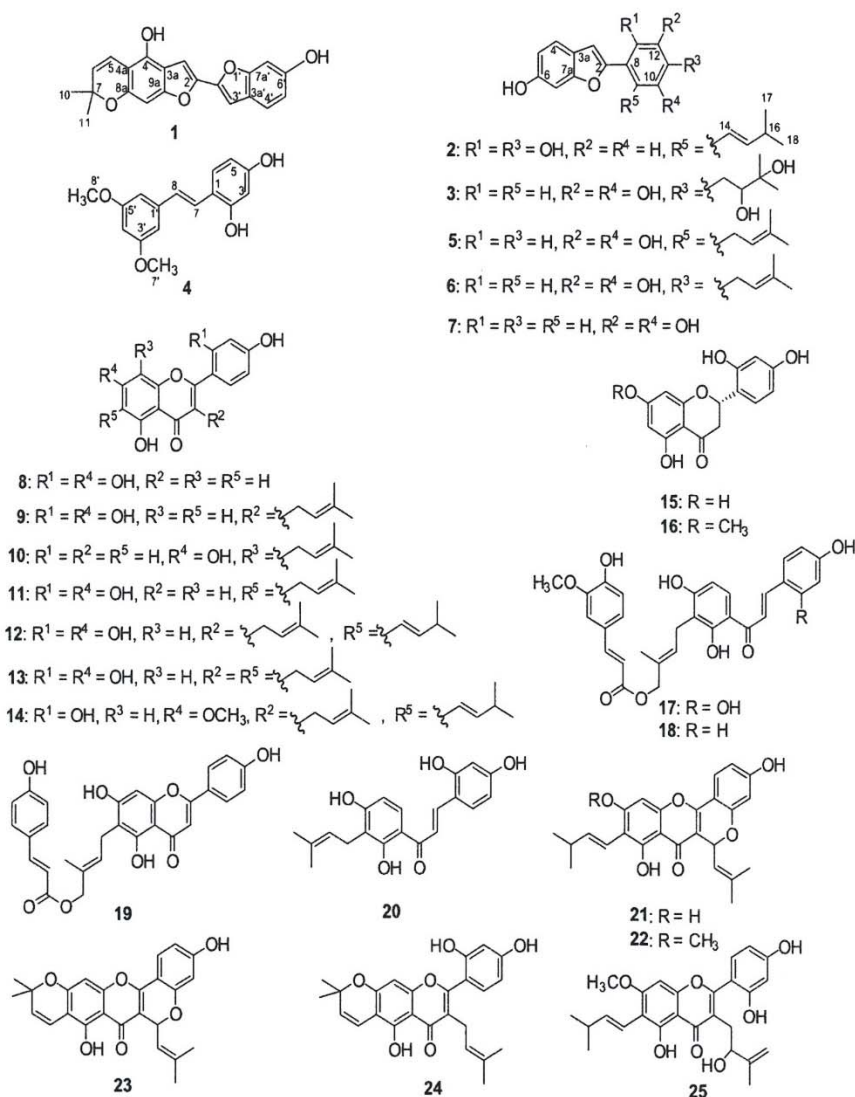
Fig. 1. Structures of compounds 1–25 isolated from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*.

Table 1
 1H (400 MHz, $CDCl_3$) and ^{13}C NMR data (100 MHz, $CDCl_3$) of heterophyllene A (1).

Position	δ_H (J in Hz)	δ_C (type)	HMBC
2		154.1 (C)	
3	6.87, s	105.6 (CH)	2, 3a, 4, 9a, 2'
3a		113.8 (C)	
4		151.5 (C)	
4a		101.2 (C)	
5	6.64, d (10.0)	116.2 (CH)	4, 4a, 7, 8a
6	5.64, d (10.0)	129.6 (CH)	7, 10
7		76.3 (C)	
8a		154.0 (C)	
9	6.85, s	101.6 (CH)	3a, 4a, 9a
9a		154.7 (C)	
10	1.40, s	27.8 (CH_3)	6, 7, 11
11	1.40, s	27.8 (CH_3)	6, 7, 10
2'		153.6 (C)	
3'	6.97, s	98.2 (CH)	2', 3a', 7a'
3a'		122.8 (C)	
4'	7.38, d (8.4)	121.2 (CH)	3', 3a', 6', 7a'
5'	6.76, dd (8.4, 2.0)	112.1 (CH)	3a', 6', 7a'
6'		155.6 (C)	
7'	6.81, d (2.0)	103.9 (CH)	3a', 5', 6', 7a'
7a'		153.6 (C)	

135 spectra (Table 1). Three aromatic protons resonating at δ_H 7.38, 6.81 and 6.76 were assigned as H-4', H-7' and H-5', respectively, on the basis of their multiplicities and coupling constants. H-4' showed HMBC correlations (Fig. 2) with C-3' (δ_C 98.2), C-3a' (δ_C 122.8), C-6' (δ_C 155.6) and C-7a' (δ_C 153.6), H-7' was correlated with C-3a', C-6' and C-7a', and H-3' showed HMBC correlations with C-2' (δ_C 153.6), C-3a' and C-7a'. These data together with the chemical shifts of C-2a', C-6' and C-7a' helped construct a 2-substituted benzofuran moiety with a hydroxy group at C-6', supporting the benzofuran chromophore observed in the UV spectrum. The aromatic proton resonating at δ_H 6.87 was assigned as H-3 and showed HMBC cross peaks with C-2 (δ_C 154.1), C-3a

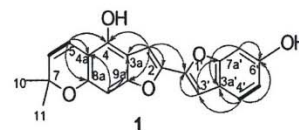


Fig. 2. Selected COSY (bold line) and HMBC (dashed line) correlations for 1.

(δ_{C} 113.8), C-4 (δ_{C} 151.5) and C-9a (δ_{C} 154.7). The remaining singlet aromatic proton at δ_{H} 6.85 was then assigned as H-9 on the basis of HMBC correlations with C-3a, C-4a (δ_{C} 101.2) and C-9a. The lower field olefinic proton of the dimethylchromene ring, H-5 (δ_{H} 6.64), displayed HMBC correlations with C-4, C-4a and C-8a (δ_{C} 154.0). These data established the 2-substituted benzofuran subunit with a hydroxy group at C-4 and a dimethylchromene ring which was fused to C-4a and C-8a with an ether linkage at C-8a. The HMBC correlation between H-3 of this benzofuran subunit and C-2' of the other benzofuran moiety indicated that the two benzofuran subunits were linked between C-2 and C-2'. Therefore, heterophyllene A was identified to have structure 1.

Heterophyllene B (**2**) was isolated as a pale yellow gum with the molecular formula $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_4$ from HRESI-TOFMS. The UV spectrum displayed absorption bands at λ_{max} 226, 248 and 265 nm whereas the IR spectrum showed hydroxyl and double bond functional groups at 3400 and 1667 cm^{-1} , respectively. The ^1H and ^{13}C NMR spectral data of **2** (Table 2) consisted of signals for a 2-substituted-6-hydroxy benzofuran moiety [δ_{H} 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.81 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), δ_{C} 157.4, 156.8, 155.4, 122.7, 122.0, 113.3, 104.1, 102.1]. Additionally, the ^1H NMR spectrum showed signals for a *trans*-3-methyl-1-butenyl subunit [δ_{H} 6.72 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 6.71 (dd, J = 16.4, 6.4 Hz, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.09 (d, J = 6.4 Hz, 6H)] and two *meta*-coupled aromatic protons (δ_{H} 6.96 and 6.90, each d, J = 2.0 Hz, 1H). The presence of the *trans*-3-methyl-1-butenyl subunit was confirmed by ^1H - ^1H COSY correlations (Fig. 3) between the methine proton, H-16 (δ_{H} 2.44), the methyl groups, H₃-17 and H₃-18 (δ_{H} 1.09), and one of the *trans*-coupled olefinic protons, H-15 (δ_{H} 6.71). The *trans*-3-methyl-1-butenyl subunit was attached at the C-9 (δ_{C} 130.0) position of the benzene ring according to HMBC correlations (Fig. 3) of the butenyl subunits *trans*-olefinic proton, H-14 (δ_{H} 6.72), with C-8 (δ_{C} 122.7), C-9 and C-10 (δ_{C} 98.5). The *meta*-coupled aromatic proton resonating at δ_{H} 6.96 was assigned as H-10 due to its HMQC correlation with C-10. Thus, the remaining *meta*-coupled aromatic proton at δ_{H} 6.90 was attributed to H-12 which displayed HMBC correlations with C-11 (δ_{C} 156.8) and C-13 (δ_{C} 157.4). The hydroxy groups were identified as substituents at C-11 and C-13 according to their chemical shifts. The HMBC correlation between H-3 (δ_{H} 6.95) of the benzofuran subunit and C-8 of the tetrasubstituted benzene ring was used to construct the 2-arylbenzofuran. Consequently, compound **2** was identified as a new arylbenzofuran derivative.

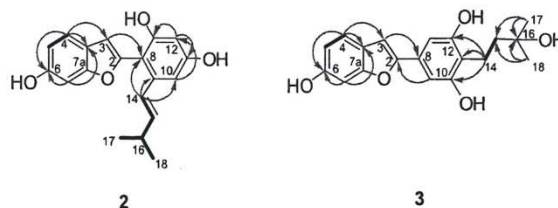


Fig. 3. Selected COSY (bold line) and HMBC (—) correlations for **2** and **3**.

Heterophyllene C (**3**) was isolated as a pale yellow gum with the molecular formula $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_6$ from HRESI-TOFMS. The UV, IR and ^1H NMR spectra of **3** were similar to those of moracin C (**6**)⁵ except for the replacement of signals for the 3-methyl-2-butenyl subunit in **6** with those of a 2,3-dihydroxy-3-methylbutyl subunit [δ_{H} 3.63 (dd, J = 9.6, 2.0 Hz, 1H), 3.24 (dd, J = 14.0, 2.0 Hz, 1H), 2.57 (dd, J = 14.0, 9.6 Hz, 1H), 1.26 and 1.25, each s, 3H] in **3** (Table 2). This subunit was confirmed by ^1H - ^1H COSY correlations (Fig. 3) between the nonequivalent methylene protons, H_{ab}-14 (δ_{H} 3.24 and 2.57), and the oxymethine proton, H-15 (δ_{H} 3.63), as well as HMBC correlations (Fig. 3) of the methyl groups, H₃-17 (δ_{H} 1.26) and H₃-18 (δ_{H} 1.25), with C-15 (δ_{C} 81.2) and C-16 (δ_{C} 72.6). Attachment of the 2,3-dihydroxy-3-methylbutyl subunit at C-11 (δ_{C} 113.1) was supported by HMBC cross peaks of H_{ab}-14 with C-10 (δ_{C} 157.2), C-11 and C-12 (δ_{C} 157.2). Consequently, **3** was identified as a new arylbenzofuran derivative.

Heterophyllene D (**4**) was obtained as a yellow gum with the molecular formula $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ from HRESI-TOFMS. The UV spectrum displayed absorption bands at λ_{max} 228, 300 and 334 nm while the IR spectrum showed hydroxy (3389 cm^{-1}) and double bond (1640 cm^{-1}) functional groups. The ^1H NMR spectrum displayed characteristic signals for the three aromatic protons of a 1,2,4-trisubstituted benzene ring [δ_{H} 7.43 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.40 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H)], three aromatic protons of a 1,3,5-trisubstituted benzene ring [δ_{H} 6.69 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 6.35 (d, J = 2.4 Hz, 1H)], *trans*-coupled olefinic protons (δ_{H} 7.42 and 7.01, each d, J = 17.2 Hz, 1H) and two methoxy groups (δ_{H} 3.80, s, 6H). The ^{13}C NMR and DEPT 135 spectra showed thirteen carbon signal resonances for sixteen carbons; six quaternary (δ_{C} 162.1 (2C), 159.2, 157.0, 141.7, 117.1), eight methine (δ_{C} 128.6, 126.3, 125.1, 108.4, 104.8 (2C), 103.5, 99.8) and two methoxy (δ_{C} 55.6 (2C)) carbons. Three aromatic protons resonating at δ_{H} 7.43,

Table 2
 ^1H (400 MHz, acetone- d_6) and ^{13}C NMR data (100 MHz, acetone- d_6) of heterophyllenes B (**2**) and C (**3**).

Position	2		3	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} (type)	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} (type)
2		155.4 (C)		155.9 (C)
3	6.95, s	102.1 (CH)	6.98, s	98.4 (CH)
3a		122.7 (C)		120.0 (C)
4	7.39, d (8.4)	122.0 (CH)	7.39, d (8.4)	121.9 (CH)
5	6.81, dd (8.4, 2.0)	113.3 (CH)	6.80, dd (8.4, 2.1)	113.1 (CH)
6		157.4 (C)		155.9 (C)
7	6.93, d (2.0)	104.1 (CH)	6.97, d (2.1)	101.7 (CH)
7a		156.8 (C)		155.3 (C)
8		122.7 (C)		130.1 (C)
9		130.0 (C)	6.91, s	104.6 (CH)
10	6.96, d (2.0)	98.5 (CH)		157.2 (C)
11		156.8 (C)		113.1 (C)
12	6.90, d (2.0)	104.1 (CH)		157.2 (C)
13		157.4 (C)	6.91, s	104.6 (CH)
14	6.72, d (16.4)	119.1 (CH)	a: 3.24, dd (14.0, 2.0) b: 2.57, dd (14.0, 9.6) 3.63, dd (9.6, 2.0)	26.8 (CH ₂)
15	6.71, dd (16.4, 6.4)	142.1 (CH)		81.2 (CH)
16	2.44, m	34.0 (CH)		72.6 (C)
17	1.09, d (6.4)	23.3 (CH ₃)	1.26, s	26.0 (CH ₃)
18	1.09, d (6.4)	23.3 (CH ₃)	1.25, s	25.0 (CH ₃)

Table 3
Cytotoxic activity of selected compounds.

Compound	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μ M)			
	KB	MCF-7	NCI-H187	Vero
1	30.77 $\pm$ 0.32	–	18.73 $\pm$ 0.43	9.62 $\pm$ 1.70
3	–	12.56 $\pm$ 1.45	–	38.45 $\pm$ 3.56
6	–	–	28.67 $\pm$ 0.49	–
10	–	–	31.73 $\pm$ 1.01	38.24 $\pm$ 0.32
12	18.45 $\pm$ 3.78	10.04 $\pm$ 1.02	14.78 $\pm$ 3.21	9.95 $\pm$ 0.23
14	13.57 $\pm$ 0.12	17.56 $\pm$ 0.03	14.21 $\pm$ 2.21	14.19 $\pm$ 2.38
16	–	–	–	49.72 $\pm$ 2.32
17	16.67 $\pm$ 0.21	28.52 $\pm$ 2.51	29.84 $\pm$ 2.01	15.16 $\pm$ 0.11
18	33.59 $\pm$ 4.32	21.89 $\pm$ 2.32	31.31 $\pm$ 4.55	11.31 $\pm$ 0.18
19	–	–	37.45 $\pm$ 2.12	32.51 $\pm$ 0.23
21	22.30 $\pm$ 0.20	37.91 $\pm$ 0.31	23.40 $\pm$ 1.23	23.49 $\pm$ 1.10
22	–	–	44.20 $\pm$ 2.23	–
24	25.78 $\pm$ 0.02	34.65 $\pm$ 0.34	35.51 $\pm$ 1.23	29.32 $\pm$ 1.12
25	19.39 $\pm$ 0.21	–	21.12 $\pm$ 0.34	37.02 $\pm$ 1.00
Ellipticine ^a	13.48	/	10.96	2.85
Doxorubicin ^a	1.95	15.44	0.15	/
Tamoxifen ^a	/	23.12	/	/

^a Reference compounds for cytotoxicity assay. – = Inactive. / = No test performed.

6.45 and 6.40 were assigned as H-6, H-3 and H-5, respectively, according to their multiplicities, coupling constants and HMBC correlations; H-3/C-1 (δ_C 117.1), C-2 (δ_C 157.0), C-4 (δ_C 159.2) and C-5 (δ_C 108.4); H-5/C-1, C-3 (δ_C 103.5) and C-4; H-6/C-1 and C-4. The substituents at C-2 and C-4 were identified as hydroxy groups on the basis of their chemical shifts. One of the *trans*-olefinic protons, H-7 (δ_H 7.42), showed HMBC cross peaks with C-1, C-2 and C-6 (δ_C 125.1) of the 1,2,4-trisubstituted benzene ring while the other one, H-8 (δ_H 7.01), was correlated with C-1' (δ_C 141.7), C-2' (δ_C 104.8) and C-6' (δ_C 104.8) of the 1,3,5-trisubstituted benzene ring. Two equivalent aromatic protons (δ_H 6.69) were attributed to H-2' and H-6' according to their HMQC correlations with C-2' and C-6'. Accordingly, the remaining aromatic proton (δ_H 6.35) was assigned as H-4' on the basis of the coupling constants. Thus, the equivalent methoxy groups, H₃-7' and H₃-8' (δ_H 3.80), were located at C-3' (δ_C 162.1) and C-5' (δ_C 162.1). Consequently, **4** was identified as 3',5'-dimethoxy-2,4-dihydroxystilbene,²⁰ a 3',5'-dimethyl ether derivative of oxyresveratrol²¹ which was previously obtained by synthesis.

All of the isolated compounds, except for **4**, **8**, **13** and **23** which were obtained in insufficient amounts, were tested for cytotoxic activity against KB,²² MCF-7,²² NCI-H187²² and non-tumorigenic Vero cells²³ (Table 3). Compounds **2**, **5**, **7**, **9**, **11**, **15** and **20** were inactive against all cell lines. Compounds **1**, **12**, **17**–**18**, **21** and **24**–**25** displayed moderate to weak cytotoxic activity against the KB cell line with IC₅₀ values in the range of 16.67–33.59 μ M, while compound **14** with an IC₅₀ value of 13.57 μ M showed comparable activity to that of the standard drug ellipticine. Compounds **3** and **12** exhibited cytotoxicity against the MCF-7 cell line with IC₅₀ values of 12.56 and 10.04 μ M, respectively, whereas the other compounds showed weaker activity with IC₅₀ values in the range of 17.56–37.91 μ M. Most of the tested compounds were weakly active against the NCI-H187 cell line (18.73–44.20 μ M) whereas compounds **12** and **14** displayed moderate activity with IC₅₀ values of 14.78 and 14.21 μ M, respectively. Furthermore, compounds **6** and **22** showed selective cytotoxicity against the NCI-H187 cell line with IC₅₀ values of 28.67 and 44.20 μ M, respectively, and were noncytotoxic to the Vero cell line. Regarding cytotoxicity against the Vero cell line, compounds **1** and **12** displayed moderate activity with IC₅₀ values of 9.62 and 9.95 μ M, respectively, while the other compounds were inactive with IC₅₀ values in the range of 11.31–49.72 μ M.

The major components isolated from *Artocarpus heterophyllus* were flavonoids and stilbenoids which are common metabolites

produced by *Artocarpus* plants.³ Four new natural products, three arylbenzofurans and one stilbene, together with twenty-one known compounds were isolated from the twigs of *A. heterophyllus*. The isolated compounds exhibited cytotoxicity against KB, MCF-7, NCI-H187 and Vero cell lines.

Acknowledgments

S.B. thanks the Science Achievement Scholarship of Thailand and the Graduate School, Chiang Mai University for a scholarship and financial support. V.R. thanks the Thailand Research Fund for the TRF-NSFC collaborative research grant (Grant No. DBG5980001). K.T. thanks the Thailand Research Fund for the TRF Grant for New Researcher (Grant No. MRG5980004), the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), the Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University for partial support and the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) for cytotoxic activity testing.

A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.03.020>.

Reference

- Khan MR, Omoloso AD, Kihara M. *Fitoterapia*. 2003;74:501–505.
- Maia JGS, Andrade EHA, Zoghbi MGB. *Food Chem*. 2004;85:195–197.
- Jagtap UB, Bapat VA. *J Ethnopharmacol*. 2010;129:142–166.
- Lee D, Bhat KPL, Fong HHS, Farnsworth NR, Pezzuto JM, Kinghorn DA. *J Nat Prod*. 2001;64:1286–1293.
- Matsuyama S, Kuwahara Y, Nakamura S, Suzuki T. *Agric Biol Chem*. 1991;55:1333–1341.
- Zhang M, Chen M, Zhang H-Q, Sun S, Xia B, Wu F-H. *Fitoterapia*. 2009;80:475–477.
- Jeong SH, Ryu YB, Curtis-Long MJ, et al. *J Agric Food Chem*. 2009;57:1195–1203.
- Ma J-P, Qiao X, Pan S, Shen H, Zhu G-F, Hou A-J. *J Asian Nat Prod Res*. 2010;12:586–592.
- Kajiyama K, Demizu S, Hiraga Y, et al. *J Nat Prod*. 1992;55:1197–1203.
- Lee S-J, Wood AR, Maier CG-A, Dixon RA, Mabry TJ. *Phytochemistry*. 1998;49:2573–2577.
- Zhang W-J, Wu J-F, Zhou P-P, Wang Y, Hou A-J. *Tetrahedron*. 2013;69:5850–5858.
- Boonphong S, Baramée A, Kittakoop P, Puangsombat P. *Chiang Mai J Sci*. 2007;34:339–344.

13. Likhitwitayawuid K, Chaiwiriya S, Sritularak B, Lipipun V. *Chem Biodivers.* 2006;3:1138–1143.
14. Zheng Z-P, Cheng K-W, To JT-K, Li H, Wang M. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52:1530–1538.
15. Wei B-L, Weng J-R, Chiu P-H, Hung C-F, Wang J-P, Lin C-N. *J Agric Food Chem.* 2005;53:3867–3871.
16. Nguten NT, Nguyen MHK, Nguyen HX, Bui NKN, Nguyen MTT. *J Nat Prod.* 2012;75:1951–1955.
17. Zhang X, Hu X, Hou A, Wang H. *Biol Pharm Bull.* 2009;32:86–90.
18. Yu M-H, Zhao T, Yan G-R, Yang H-X, Wang H-Y, Hou A-J. *Chem Biodivers.* 2012;9:394–402.
19. Trisuwan K, Rukachaisirikul V, Kaewpet M, et al. *J Nat Prod.* 2011;74:1663–1667.
20. Li Y-Q, Song Q-L, Chen P-P, Zhao W-J, Wang S-S. *Chem Res Chin Univ.* 2006;22:742–746.
21. Sun H-Y, Xiao C-F, Cai Y-C, et al. *Chem Pharm Bull.* 2010;58:1492–1496.
22. O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. *Eur J Biochem.* 2000;267:5421–5426.
23. Hunt L, Jordan M, De Jesus M, Wurm FM. *Biotechnol Bioeng.* 1999;65:201–205.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่ได้คิดไว้ในสัญญาโครงการ

➤ ผลงานวิจัยที่ได้ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง

ผู้แต่ง: Sirada Boonyaketguson, Vatcharin Rukachaisirikul, Souwalak Phongpaichit, **Kongkiat Trisuwan**

ชื่อเรื่อง: Cytotoxic arylbenzofuran and stilbene derivatives from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*

ชื่อวารสาร: *Tetrahedron Letters* (IF 2.391)

ปี: 2017 เล่มที่: 58 หน้า: 1585-1589

➤ ผลงานวิจัยที่กำลังเตรียมต้นฉบับ จำนวน 1 เรื่อง

ผู้แต่ง: Sirada Boonyaketguson, Vatcharin Rukachaisirikul, Souwalak Phongpaichit, **Kongkiat Trisuwan**

ชื่อเรื่อง: Acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic flavonoids from the twigs of *Artocarpus lakoocha*

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- เชิงวิชาการ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากกิ่งขนุนและขนุนป่า พบว่าพืชเหล่านี้ผลิตสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้หลากหลายชนิดที่มีโครงสร้างน่าสนใจและแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับที่น่าพอใจ ซึ่งอาจนำไปสู่การนำสารที่ได้นี้มาพัฒนาเป็นยารักษาโรคหรือนำมาเป็นความรู้พื้นฐานในการวิจัยด้านนี้ต่อไป รวมทั้งยังการกระตุ้นให้มีการศึกษาหรือการทำงานวิจัยในพืชที่พบได้ในท้องถิ่นมากขึ้น

3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)

➤ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ

การประชุมวิชาการ “นักวิจัยรุ่นใหม่...พบ...เมธีวิจัยอาวุโส สกว.” ครั้งที่ 17

(TRF-OHEC Annual Congress 2018 (TOAC 2018) ระหว่างวันที่ 10-12 มกราคม พ.ศ. 2561 ณ โรงแรมเดอะรีเจ้นท์ ซะอ่ำ บีช รีสอร์ท จังหวัดเพชรบุรี

ซึ่งนำเสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์ในหัวข้อ Cytotoxic arylbenzofuran and stilbene derivatives from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*