



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพฤษเคมีจากนมแมวป่า

วงศ์ *Annonaceae* และอินทนิลนบก วงศ์ *Lythraceae*

**Chemical Structures and Biological Activities of Phytochemical**

**from *Uvaria cherrevensis* (Annonaceae)**

**and *Lagerstroemia macrocarpa* (Lythraceae)**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ัญวดี ลิ้มธรากุล

พฤษภาคม 2563

สัญญาเลขที่ MRG6180098

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพฤษเคมีจากนมแมวป่า

วงศ์ Annonaceae และอินทนิลบก วงศ์ Lythraceae

Chemical Structures and Biological Activities of Phytochemical from

*Uvaria cherrevensis* (Annonaceae)

and *Lagerstroemia macrocarpa* (Lythraceae)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญวดี ลิ้มธรากุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ: MRG6180098

ชื่อโครงการ: โครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของฟฤทษเคมีจากนมแมวป่า วงศ์ Annonaceae และ  
อินทนิลบก วงศ์ Lythraceae

Chemical Structures and Biological Activities of Phytochemical from *Uvaria cherrevensis*  
(Annonaceae) and *Lagerstroemia macrocarpa* (Lythraceae)

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญวดี ลิ้มธรรากุล

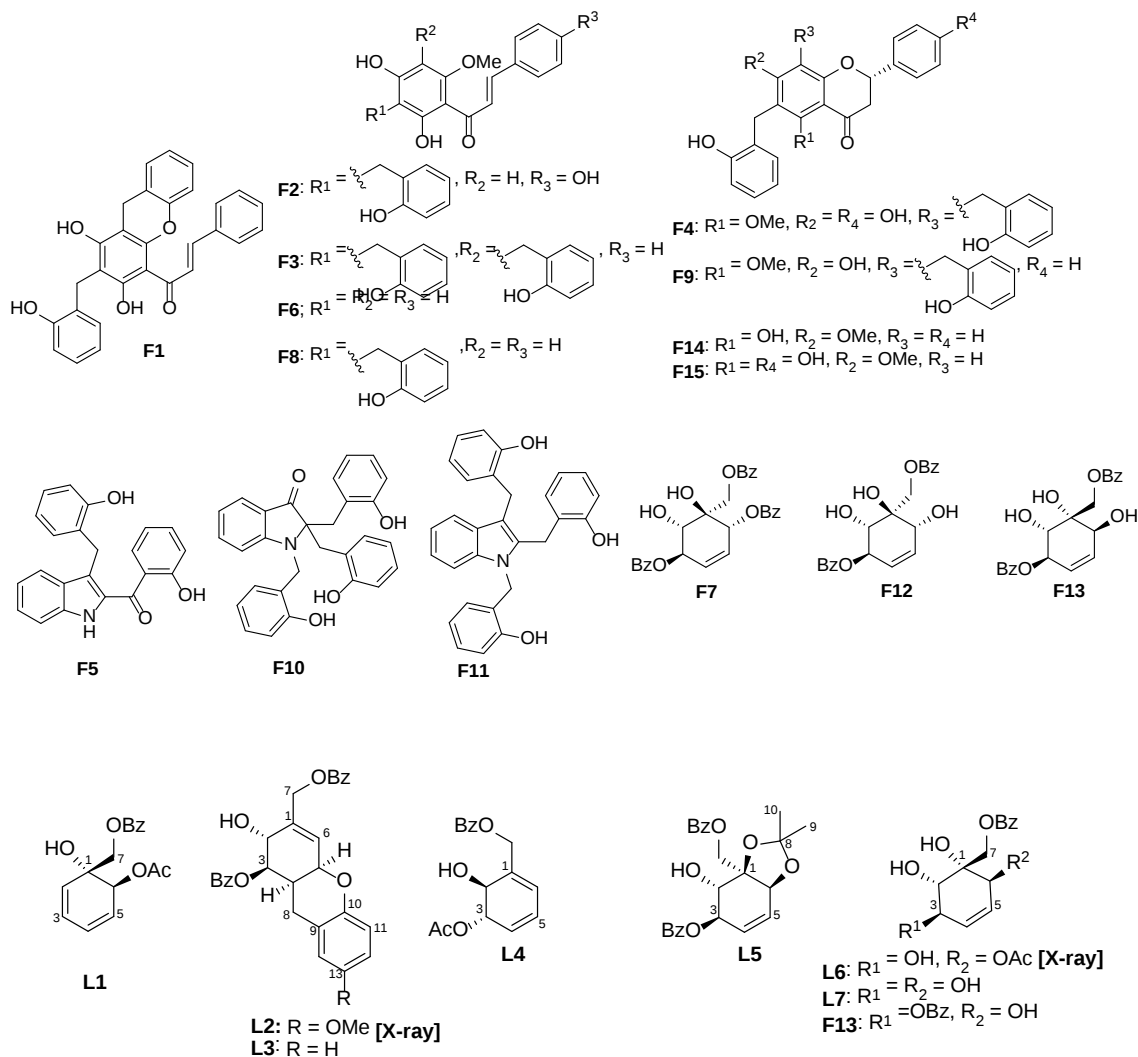
E-mail Address: thunwadee.r@cmu.ac.th, [othunwadee@gmail.com](mailto:othunwadee@gmail.com)

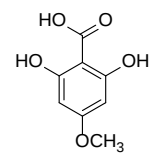
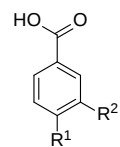
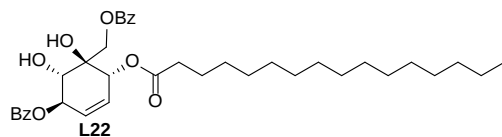
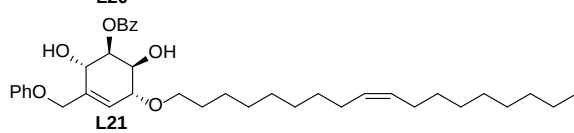
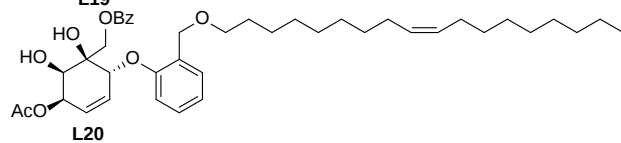
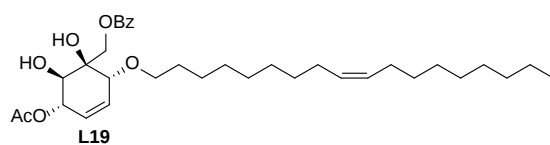
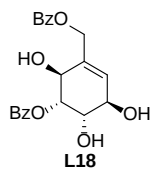
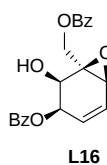
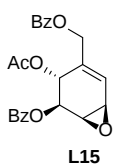
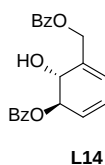
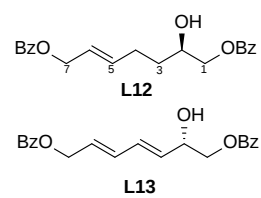
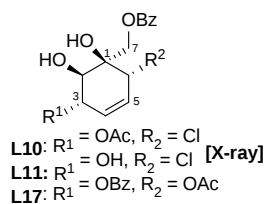
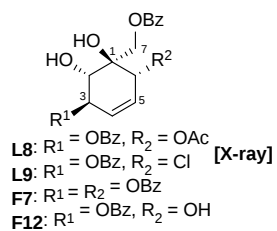
ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (2 พฤษภาคม 2561 – 1 พฤษภาคม 2563)

คำหลัก: *Uvaria cherrevensis*, *Lagerstromia macrocarpa*, antimalarial activity, cytotoxicity

## บทคัดย่อ

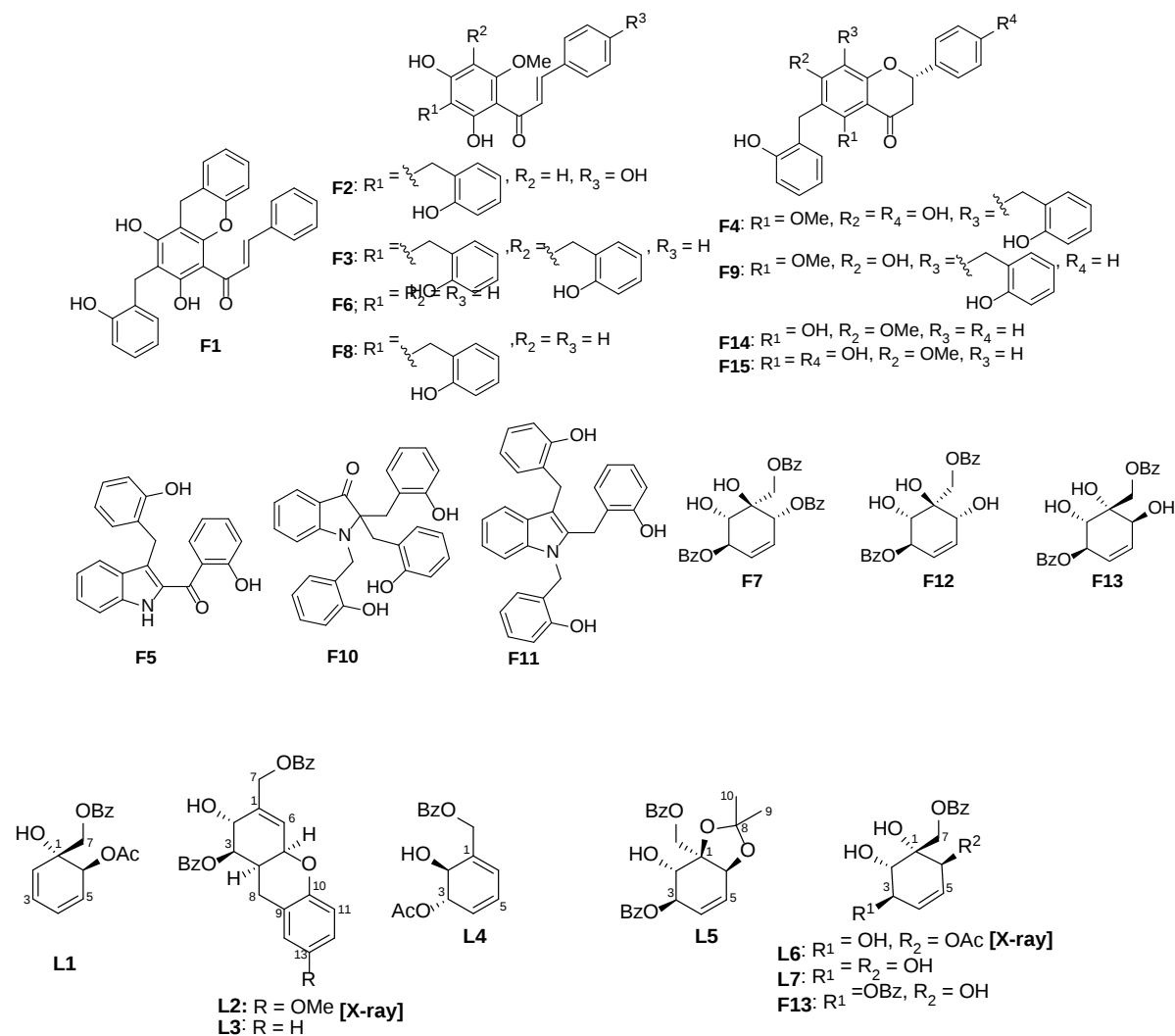
การศึกษาพิษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากต้นนมแมวป่าและต้นอินทนิลบก ทำการแยกสารโดยอาศัยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้จำนวน 41 สาร ซึ่งเป็นสารใหม่จำนวน 19 สาร (F1-F4, L1-L12 และ L19-L21) และสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วอีกจำนวน 22 สาร พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี โดยเฉพาะ 1D และ 2D NMR สารบริสุทธิ์ที่แยกได้บางส่วนแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรียและแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก

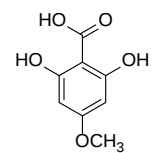
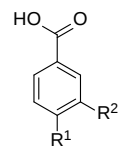
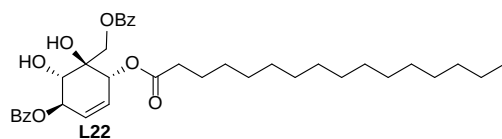
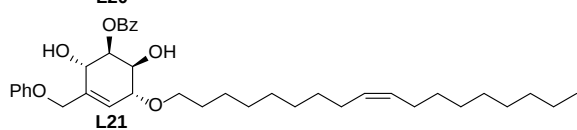
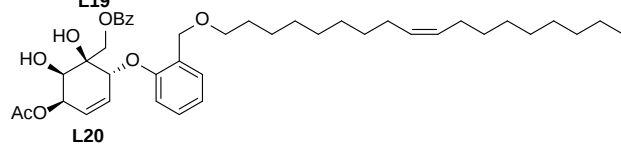
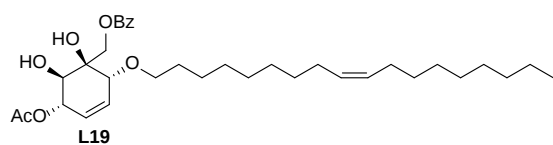
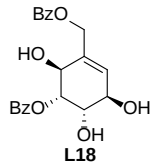
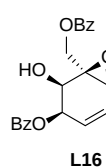
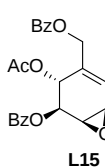
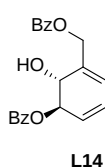
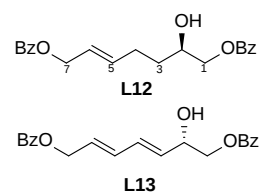
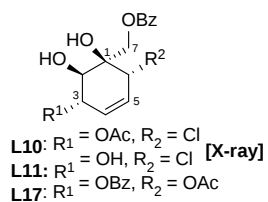
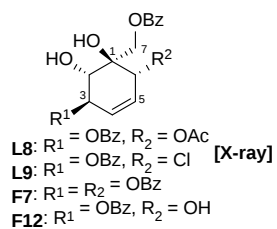




## Abstract

The phytochemical investigation and biological activity of the extracts from *Uvaria cherrevensis* and *Lagerstroemia macrocarpa* led to the isolation of 41 compounds including 19 new (**F1-F4**, **L1-L12** and **L19-L21**) and 22 known compounds by using chromatographic techniques. The structures of isolated compounds were characterized by spectroscopic techniques especially 1D and 2D NMR. Some of these compounds exhibited antimalarial activity and cytotoxicity against oral cancer cell line.





## วัตถุประสงค์

1. เพื่อสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีจากต้นนมแมวป่า (ผลและใบ) และต้นอินทนิบบก (กิ่ง เปลือก ใบ และผล)
2. วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากต้นนมแมวป่าและต้นอินทนิบบก
3. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากต้นนมแมวป่าและต้นอินทนิบบก

## ระเบียบวิธีวิจัย

1. เก็บพืชที่จำทำการศึกษา แยกส่วนและตัดให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก ทำให้แห้ง
2. สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน
3. ทำการกรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะลดความดัน เพื่อที่จะได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอล
4. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิดที่จะทำการศึกษา
5. ทำการแยกส่วนสกัดหยาบให้เป็นส่วนย่อย
6. ทำบริสุทธิ์ส่วนย่อย โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบต่าง ๆ อาทิ คอลัมน์โครมาโทกราฟี โครมาโทกราฟีแผ่นหนา หรือการตกผลึก
7. วิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้ โดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี ทั้ง UV IR NMR MS หรือ X-Ray crystallography
8. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ เช่น ฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรีย หรือฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (ทั้งนี้ขึ้นกับสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณมากพอ)

## ผลการทดลอง

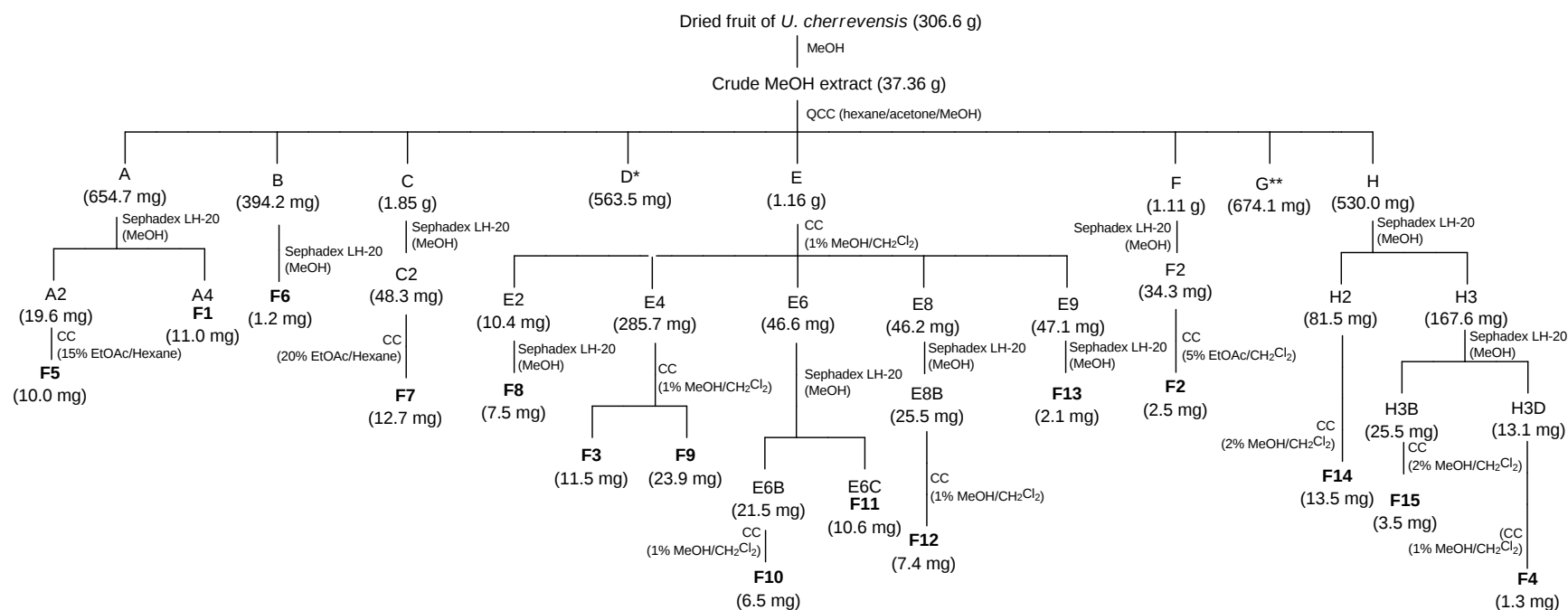
### 1. การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากต้นนมแมวป่า

#### 1.1 ส่วนผล

ผลนมแมวป่าแห้ง 306.6 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 3 ลิตรเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะลดความดัน ได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอลของผลนมแมวป่า 37.36 กรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้ม นำส่วนสกัดหยาบเมทานอลมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick Column Chromatography) ะด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจากนั้นเพิ่มขั้วด้วยอะซิโตน และเมทานอลตามลำดับ ได้ 8 ส่วน (A-H) นำส่วน A (654.7 มิลลิกรัม) มาแยกต่อด้วย Sephadex LH-20 ะด้วยเมทานอล ได้ 4 ส่วนย่อย (A1-A4) ส่วนย่อย A2 (19.6 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โร

มาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 15% เอทิลอะซิเตดในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ uvarindole C (**F5**) น้ำหนัก 10.0 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Muhammad, I., *et al.*, 1985) ส่วนย่อย A4 นำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenone A (**F1**) น้ำหนัก 11.0 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ส่วน B (394.2 มิลลิกรัม) นำไปแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cardmonin (**F6**) น้ำหนัก 1.2 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (Voon, F.-L., *et al.*, 2017) แยกส่วน C (1.85 กรัม) ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (C1-C3) ส่วนย่อย C2 (48.3 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 20% เอทิลอะซิเตดในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ ferrudiol (**F7**) น้ำหนัก 12.7 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (Wirasathien, L., *et al.*, 2006) ส่วน E (1.16 กรัม) แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 10 ส่วนย่อย (E1-E10) ทำส่วนย่อย E2 (10.4 มิลลิกรัม) ให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (**F8**) น้ำหนัก 7.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (Wirasathien, L., *et al.*, 2006) ส่วนย่อย E4 (285.7 มิลลิกรัม) แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือ cherrevenone (**F3**) น้ำหนัก 11.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลืองและ 5-O-methyldichamanetine (**F9**) น้ำหนัก 23.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (El-Sholy, H.N., *et al.*, 1979) นำส่วนย่อย E6 น้ำหนัก 46.6 มิลลิกรัม มาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 4 ส่วนย่อย (E6A-E6D) ทำส่วนย่อย E6B (21.5 มิลลิกรัม) ให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ uvarindole D (**F10**) น้ำหนัก 6.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Muhammad, I., *et al.*, 1985) ส่วนย่อย E6C นำไประเหยตัวทำละลายออกได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ uvarindole A (**F11**) น้ำหนัก 10.6 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Muhammad, I., *et al.*, 1985) ส่วนย่อย E8 (46.2 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (E8A-E8C) ทำส่วนย่อย E8B (25.5 มิลลิกรัม) ให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ ellipeiopsol B (**F12**) น้ำหนัก 7.4 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (Kijjoa, A., *et al.*, 2002) ส่วนย่อย E9 (47.1 mg) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ zeylenol (**F13**) น้ำหนัก 2.1 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Wirasathien, L., *et al.*, 2006) ส่วน F (1.11 กรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (F1-F3) ส่วนย่อย F2 (34.3 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 5% เอทิลอะซิเตดในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ

cherrevenone B (**F2**) น้ำหนัก 2.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง ส่วน H (530.0 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 4 ส่วนย่อย (H1-H4) ส่วนย่อย H2 (81.5 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 2% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ 7-O-methylisochamanetine (**F14**) น้ำหนัก 13.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง (Anam, E.M., 1994) ส่วนย่อย H3 (167.6 มิลลิกรัม) แยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 5 ส่วนย่อย (H3A-H3E) ทำส่วนย่อย H3B (25.5 มิลลิกรัม) ให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 2% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ *epi*-methylphelligrin (**F15**) น้ำหนัก 3.5 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Wu, C.-S., *et al.*, 2011) ส่วนย่อย H3D (13.1) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenone D (**F4**) น้ำหนัก 1.3 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (ดังแผนภาพ1)



\* Fraction D was a mixture of fractions C and E

\*\* Fraction G was a mixture of fractions F and H

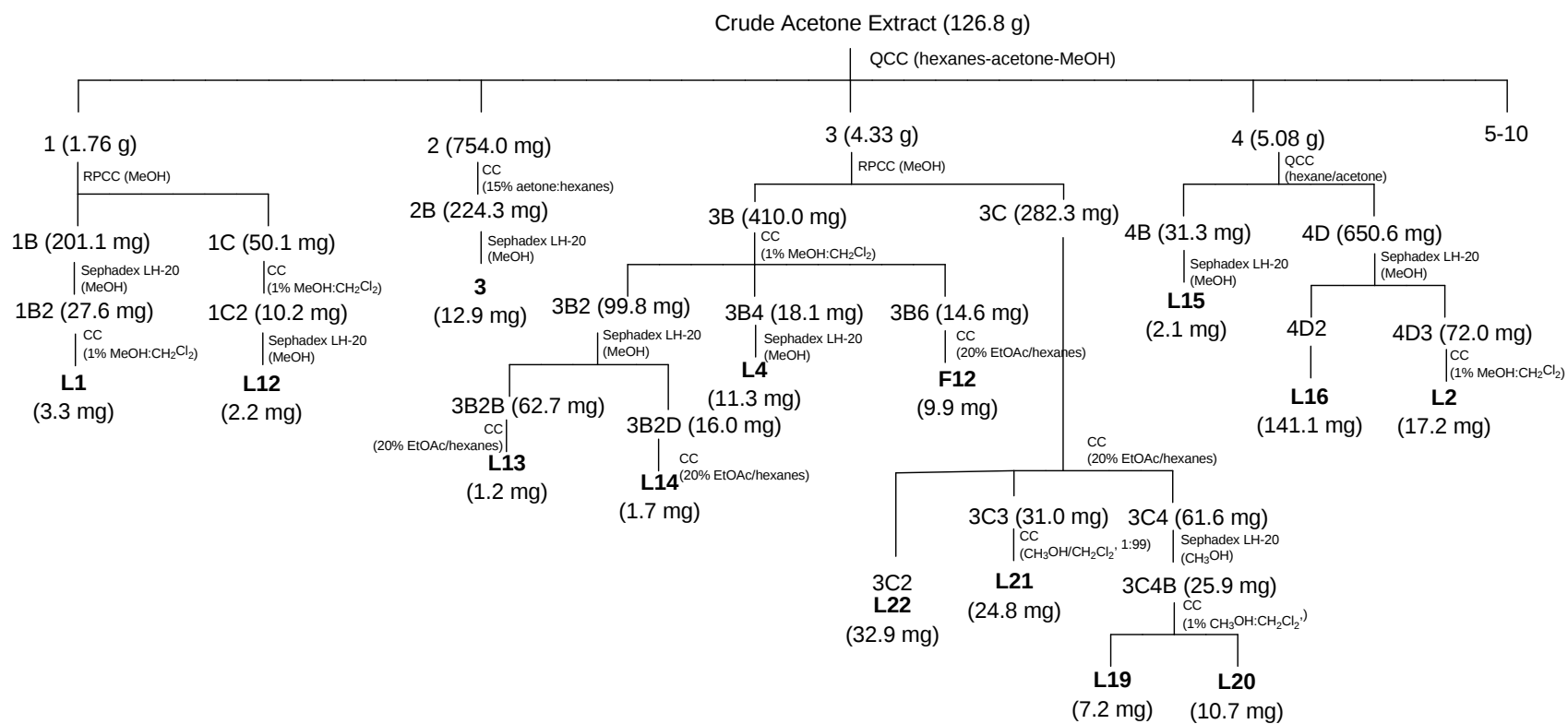
แผนภาพ 1 การแยกสารบริสุทธิ์จากผลของต้นนมแมวป่า

## 1.2 ส่วนใบ

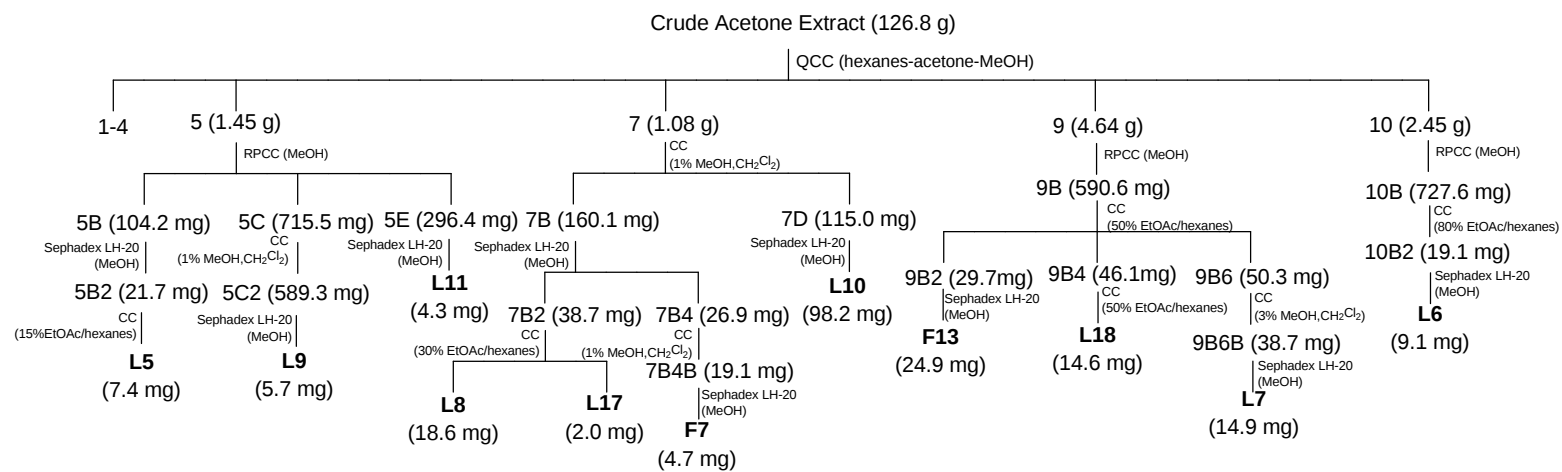
ใบแห้งของต้นนมแมวป่า 1.30 กิโลกรัม สกัดด้วยเมทานอล 3 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะลดความดัน ได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอลของใบต้นนมแมวป่า มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้ม ละลายส่วนสกัดหยาบที่ได้ในอะซิโตน 500 มิลลิลิตร จากนั้นกรองและทำการระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะลดความดัน ได้ส่วนสกัดหยาบอะซิโตนหนัก 126.8 กรัม ส่วนสกัดหยาบที่ได้นำไปแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick Column Chromatography) ด้วยเฮกเซนเพิ่มขั้วด้วยอะซิโตนและเมทานอล ได้ 10 ส่วน (1-10) ส่วน 1 (1.76 กรัม) นำมาแยกด้วย Reverse Phase Column Chromatography (RPCC) ด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (1A-1C) ส่วนย่อย 1B (201.1 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล และนำ 1B2 (27.6 มิลลิกรัม) ทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol A (**L1**) น้ำหนัก 3.3 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล ส่วนย่อย 1C (50.1 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 3 ส่วนย่อย (1C1-1C3) ส่วนย่อยที่ 1C2 (10.2 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol L (**L12**) น้ำหนัก 2.2 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง ส่วน 2 (754.0 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 15% อะซิโตนในเฮกเซน ได้ 3 ส่วนย่อย (2A-2C) ส่วนย่อย 2B (224.3 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol C (**L3**) น้ำหนัก 12.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล ส่วน 3 (4.33 กรัม) แยกด้วย RPCC ด้วยเมทานอลได้ 3 ส่วนย่อย (3A-3C) ส่วนย่อย 3B (410.0 มิลลิกรัม) นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 7 ส่วนย่อย (3B1-3B7) ส่วนย่อย 3B2 (99.8 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้ 5 ส่วนย่อย (3B2A-3B2E) ส่วนย่อย 3B2B (62.7 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 20% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ uvamalol F (**L13**) น้ำหนัก 1.2 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Wang, S., *et al.*, 2003) ส่วนย่อย 3B2D (16.0 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 20% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ (–)-1,6-desoxypipoxide (**L14**) น้ำหนัก 1.7 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Schult, G., *et al.*, 1982) ส่วนย่อย 3B4 (18.1 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol D (**L4**) น้ำหนัก 11.3 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล ส่วนย่อย 3B6 (14.6 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 20% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ ellipseiopsol B (**F12**) น้ำหนัก 9.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Kijjoa, A.,

*et al.*, 2002) ส่วนย่อย 3C (282.3 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 20% เอทิลอะซิเตดในเฮกเซน ได้ 5 ส่วนย่อย (3C1-3C5) ทำการระเหยตัวทำละลายออกจากส่วนย่อย 3C2 ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ dulcisene A (**L22**) น้ำหนัก 32.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (Kaweetripob, W., *et al.*, 2015) ส่วนย่อย 3C3 (31.0 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol O (**L21**) น้ำหนัก 24.8 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ส่วนย่อย 3C4 (61.1 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (3C4A-3C4C) ส่วนย่อย 3C4B (25.9 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือ cherrevenol M (**L19**) น้ำหนัก 7.2 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวและ cherrevenol N (**L20**) น้ำหนัก 10.7 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดใสไม่มีสี ส่วน 4 (5.08 กรัม) แยกด้วย QCC ชะด้วยเฮกเซนเพิ่มขั้วด้วยอะซิโตน ได้ 5 ส่วนย่อย (4A-4E) ส่วนย่อย 4B (31.3 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ uvaridapoxide A (**L15**) น้ำหนัก 2.1 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Awale, S., *et al.*, 2012) ส่วนย่อย 4D (650.6 มิลลิกรัม) แยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 4 ส่วนย่อย (4D1-4D4) ส่วนย่อย 4D2 นำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ (1*R*,2*R*,3*R*,6*S*)-pipoxide (**L16**) น้ำหนัก 141.4 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Shi, Y.-N., *et al.*, 2016) ส่วนย่อย 4D3 (72.0 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol B (**L2**) น้ำหนัก 17.2 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของผลึกใสไม่มีสี ส่วน 5 (1.45 กรัม) แยกด้วย RPCC ชะด้วยเมทานอล ได้ 6 ส่วนย่อย (5A-5F) ส่วนย่อย 5B (104.2 มิลลิกรัม) ทำให้แยกต่อด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (5B1-5B3) ส่วนย่อย 5B2 (21.7 มิลลิกรัม) แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 15% เอทิลอะซิเตดในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol E (**L5**) น้ำหนัก 7.4 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ส่วนย่อย 5C (715.5 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 3 ส่วนย่อย (5C1-5C3) ส่วนย่อย 5C2 (589.3 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol I (**L9**) น้ำหนัก 5.7 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ส่วนย่อย 5E (296.4 มิลลิกรัม) แยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol K (**L11**) น้ำหนัก 4.3 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ส่วน 7 (1.08 กรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 5 ส่วนย่อย (7A-7E) ส่วนย่อย 7B (160.1 มิลลิกรัม) แยกด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้ 5 ส่วนย่อย (7B1-7B5) ส่วนย่อย 7B2 (38.7 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 30% เอทิลอะซิ

เตตโนเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือ cherrevenol H (**L8**) น้ำหนัก 18.6 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี และ (–)-6-acetylzeylenol (**L17**) น้ำหนัก 2.0 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Stevenson, P., *et al.*, 2007) ส่วนย่อย 7B4 (26.9 มิลลิกรัม) แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 1% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 3 ส่วนย่อย (7B4A-7B4C) ส่วนย่อย 7B4B ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ ferrudiol (**F7**) น้ำหนัก 4.7 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล (Wirasathien, L., *et al.*, 2006) ส่วนย่อย 7D (115.0 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol J (**L10**) น้ำหนัก 98.2 มิลลิกรัม ลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี ส่วน 9 (4.64 กรัม) นำมาแยกด้วย RPCC ได้ 3 ส่วนย่อย(9A-9C) ส่วนย่อย 9B (590.6 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 50% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้ 7 ส่วนย่อย (9B1-9B7) ส่วนย่อย 9B2 (29.7 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ zeylenol (**F13**) น้ำหนัก 24.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Kijjoa, A., *et al.*, 2007) ส่วนย่อย 9B4 (46.1 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 50% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ piperenol A (**L18**) น้ำหนัก 14.6 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Taneja, S. C., *et al.*, 1991) ส่วนย่อย 9B6 (50.3 มิลลิกรัม) นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 3% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ 3 ส่วนย่อย (9B6A-9B6C) ส่วนย่อย 9B6B (38.7 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol G (**L7**) น้ำหนัก 14.9 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล ส่วน 10 (2.45 กรัม) แยกด้วย RPCC ชะด้วยเมทานอล ได้ 3 ส่วนย่อย (10A-10C) ส่วนย่อย 10B (727.6 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย 80% เอทิลอะซิเตตในเฮกเซน ได้ 3 ส่วนย่อย (10B1-10B3) ส่วนย่อย 10B2 (19.1 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย ด้วย Sephadex LH-20 ชะด้วยเมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ cherrevenol F (**L6**) น้ำหนัก 9.1 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี (ดังแผนภาพ 2-3)



แผนภาพ 2 การแยกสารบริสุทธิ์จากใบของต้นนมแมวป่า

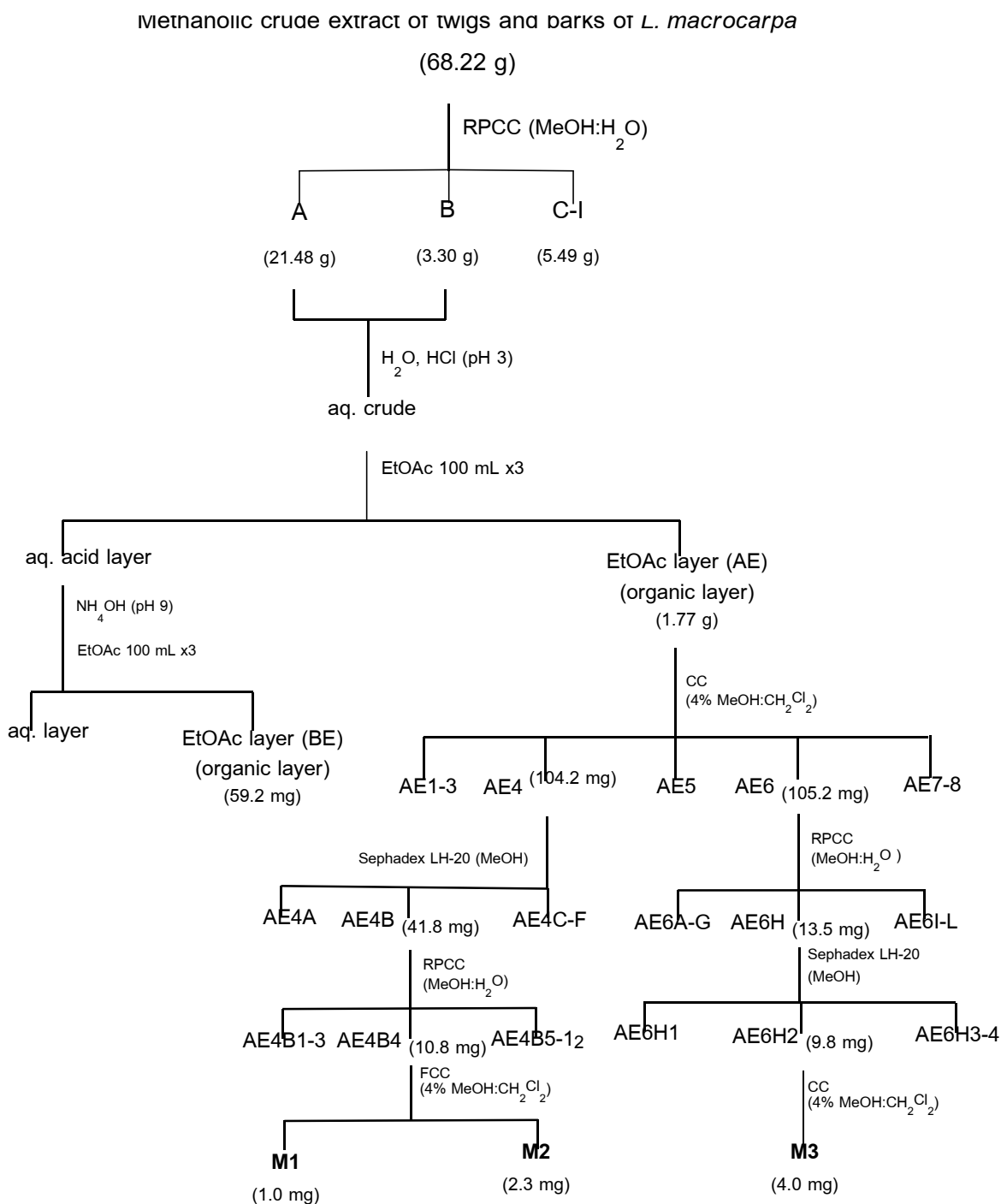


แผนภาพ 3 การแยกสารบริสุทธิ์จากใบของต้นนมแมวป่า (ต่อ)

## 2. การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีของต้นอินทนิลบก

### 2.1 ส่วนกิ่งและเปลือก

กิ่งและเปลือกอินทนิลบกแห้งตัดเป็นชิ้นเล็กๆ (1.5 kg) นำมาสกัดด้วยเมทานอล 6 ลิตร 3 ครั้งๆละ 3 วัน จากนั้นระเหยตัวทำละลาย ได้ส่วนสกัดหยาบน้ำหนัก 68.22 กรัม ลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้ม ต่อมานำส่วนสกัดหยาบทั้งหมดมาแยกด้วย Reverse Phase Column Chromatography (RPCC) ด้วยเมทานอลและน้ำ (1:1 ถึง 1:0) ได้ส่วนย่อย 9 ส่วน (A-I) นำส่วน A (21.48 กรัม) และ B (3.30 กรัม) มารวมกันและละลายด้วยน้ำ และเติมกรดไฮโดรคลอริก (pH 3) ลงไป จากนั้นนำส่วนสกัดละลายน้ำที่ได้มาสกัดแบบแยกชั้น (partition) ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ได้ส่วนสกัดหยาบชั้นอินทรีย์ (AE)หนัก 1.77 กรัม ส่วนสกัดชั้นน้ำถูกนำมาสะเทินด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (pH 9) จากนั้นนำมาสกัดแบบแยกชั้นต่อด้วยเอทิลอะซิเตต 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ได้ส่วนสกัดหยาบชั้นอินทรีย์ (BE)หนัก 59.2 มิลลิกรัม ส่วนสกัดหยาบ EA นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 4% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้ส่วนย่อย 8 ส่วน (AE1-AE8) ศึกษาส่วนย่อย AE4 (104.2 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วย Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้ส่วนย่อย 6 ส่วน (AE4A ถึง AE4F) นำส่วนย่อย AE4B (41.8 มิลลิกรัม) มาแยกด้วย RPCC ด้วยเมทานอลและน้ำ (0:1 ถึง 1:0) ได้ส่วนย่อย 12 ส่วน (AE4B1 ถึง AE4B12) ส่วนย่อยที่ AE4B4 (10.8 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วยแฟลชคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 4% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร คือ 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**M1**) น้ำหนัก 1.0 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Yang, Y., *et al.*, 2017.) และ 4-methoxybenzoic acid (**M2**) น้ำหนัก 2.3 mg) ลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง (Tada, N., *et al.*, 2011.) ส่วนย่อย AE6 (105.2 มิลลิกรัม) แยกเป็นส่วนย่อยด้วย RPCC ด้วยเมทานอลและน้ำ (0:1 ถึง 1:0) ได้ส่วนย่อย 12 ส่วน (AE6A- AE6L) ส่วนย่อยที่ AE6H (13.5 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Sephadex LH-20 ด้วยเมทานอล ได้ส่วนย่อย 4 ส่วน (AE6H1 ถึง AE6H4) ส่วนย่อย AE6H2 (9.2 มิลลิกรัม) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 4% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzoic acid (**M3**) น้ำหนัก 4.0 มิลลิกรัม มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว (Oladimeji A. O., *et al.*, 2017) (ดังแผนภาพ 4)



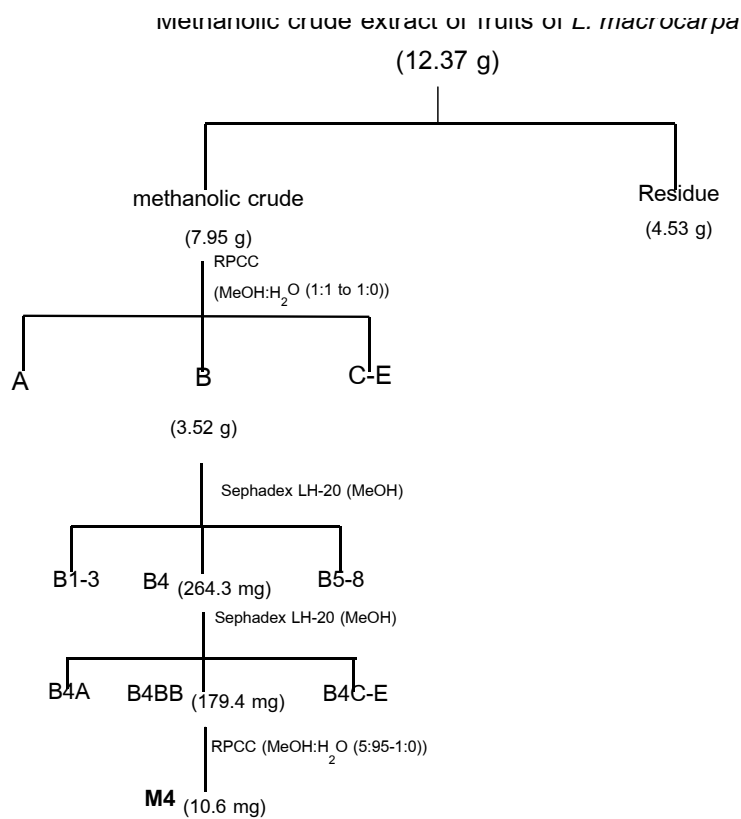
แผนภาพ 4 การแยกสารบริสุทธิ์จากกิ่งและเปลือกของต้นอินทนิณบก

## 2.2 ส่วนใบ

ใบของต้นอินทนิลบก (213.2 กรัม) สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 3 ลิตร 3 ครั้งๆละ ได้ ส่วนสกัดหยาบใบมีลักษณะเป็นของหนืดสีดำหนัก 23.4 กรัม ดังแผนภาพ นำส่วนสกัดหยาบเมทานอลมา แยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick Column Chromatography) ละด้วยตัวทำละลายเฮกเซน จากนั้นเพิ่มขั้วด้วยอะซิโตนและเมทานอลตามลำดับ ได้ 9 ส่วน (A-I) จากโครมาโทแกรมหลายระบบของทุก ส่วนย่อย มองไม่เห็นการแยกที่ชัดเจนเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์และสารติดซิลิกาเจลที่ Baseline ค่อนข้างมาก จึงนำส่วนย่อย D E และ H ที่พอมองเห็นการแยกไปรัน  $^1\text{H}$  NMR ในคลอโรฟอร์มพบส่วนหลัก เป็นสารขั้วต่ำโดยพบสัญญาณที่สนามสูง ผสมกับสารอนุพันธ์กรดคาร์บอกซิลิกซึ่งซ้ำกับส่วนกึ่งและเปลือก จึงไม่ทำการศึกษาต่อ

### 2.3 ส่วนผล

ผลแห้งอินทนิลบก (600 กรัม) สกัดด้วยเมทานอล 1 ลิตร 3 ครั้งๆละ 3 วัน จากนั้นระเหยตัว ทำละลายออก ได้ส่วนสกัดหยาบน้ำหนัก 12.37 กรัม ลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล โดยถูกนำมาสกัดแบบ แยกชั้น (partition) ด้วยตัวทำละลายเมทานอล 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ได้ส่วนสกัดหยาบ 7.95 กรัม นำ ส่วนสกัดหยาบที่ได้มาแยกต่อด้วย RPCC ละด้วยเมทานอลและน้ำ (1:1 ถึง 1:0) ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วน (A-E) ส่วน B (3.52 กรัม) นำมาแยกด้วย Sephadex LH-20 ละด้วยเมทานอล ได้ส่วนย่อย 8 ส่วน (B1- B8) ส่วนย่อย B4 (264.3 มิลลิกรัม) แยกต่อด้วย Sephadex LH-20 ละด้วยเมทานอล ได้ส่วนย่อย 5 ส่วน (B4A - B4E) ส่วนย่อย B4B (179.4 มิลลิกรัม) นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วย RPCC ละด้วยเมทานอลและน้ำ (5:95 ถึง 1:0) ได้สารบริสุทธิ์ 1 สาร คือ 3,4-dihydroxybenzoic acid (**M4**) น้ำหนัก 10.6 มิลลิกรัม เป็นของหนืดสีเหลือง (Meng, A. P., *et. al.*, 2018) (ดังแผนภาพ 5)



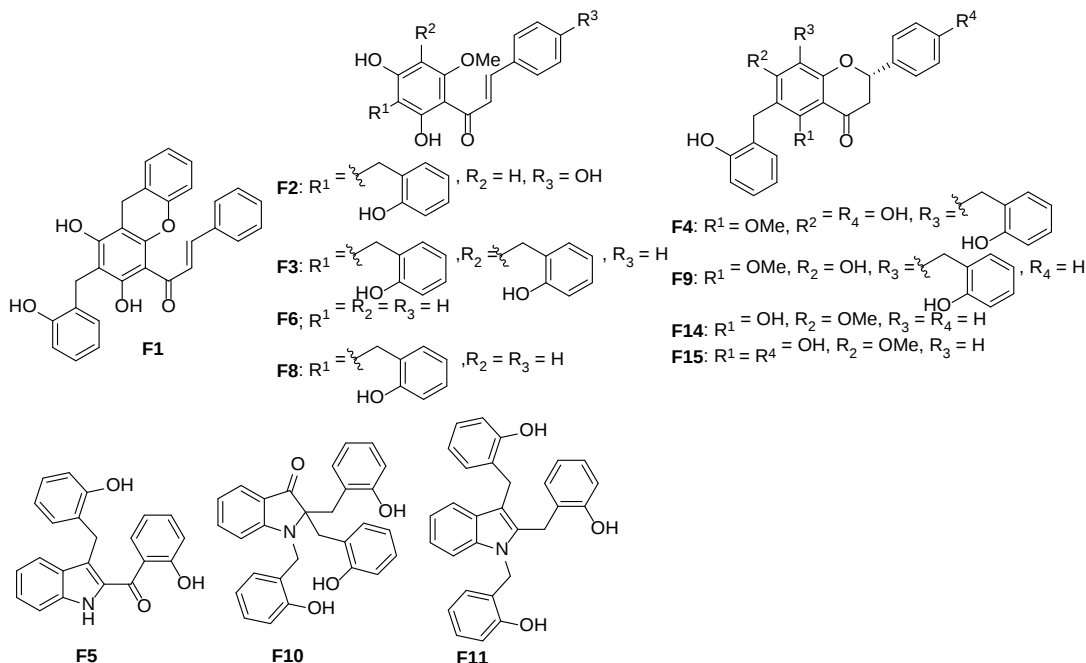
แผนภาพ 5 การแยกสารบริสุทธิ์จากผลของต้นอินทนิ้นบก

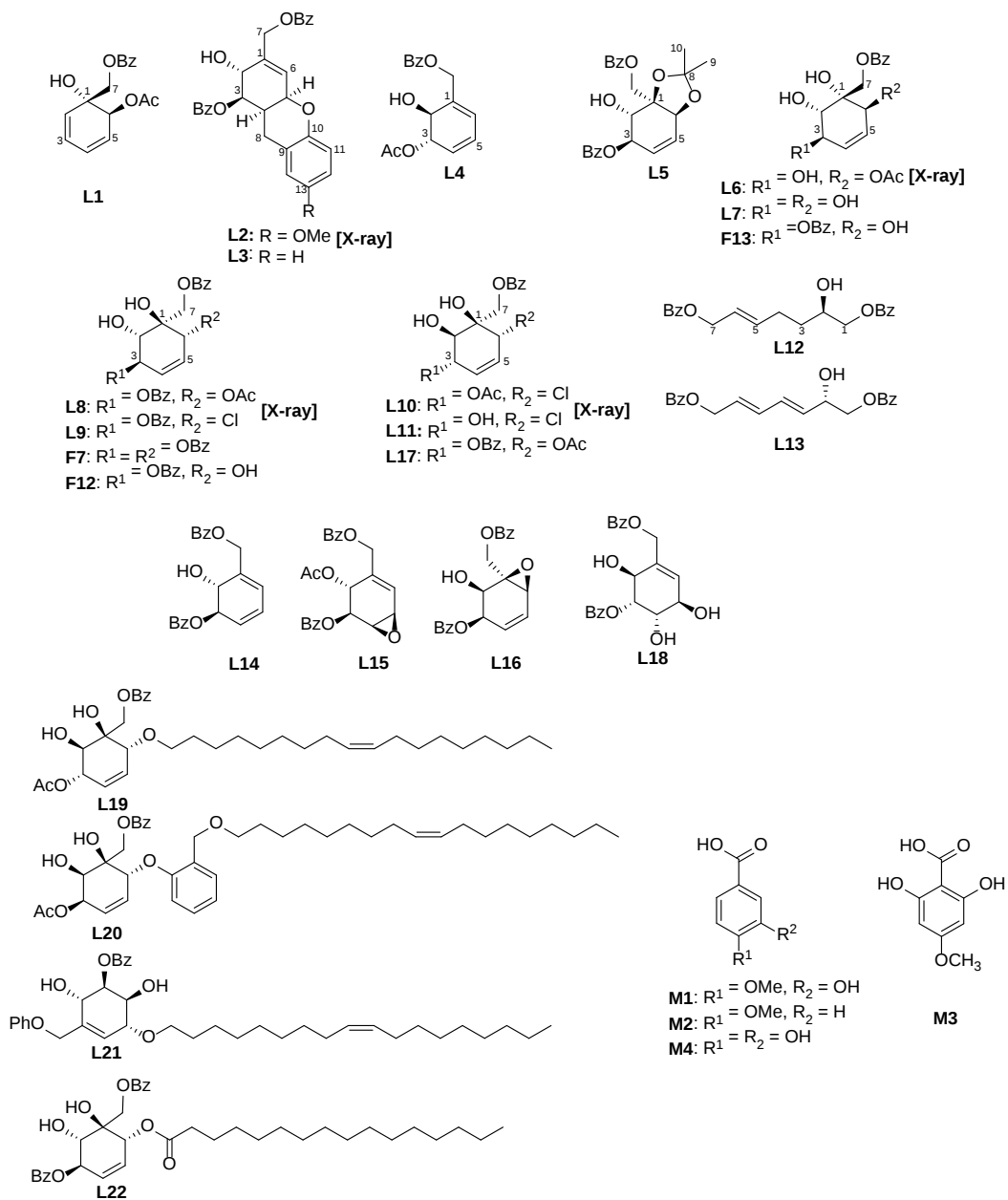
## สรุปผลและอภิปรายผล

### อภิปรายผลผลการทดลอง

#### 1. ต้นนมแมวป่า (*Uvaria cherrevensis*)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดเมทานอลของผลต้นนมแมวป่า แยกสารบริสุทธิ์ได้ 15 สาร โดยเป็นสารใหม่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์จำนวน 4 สาร คือ cherrevenones A-D (**F1-F4**) และสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้ว 11 สาร คือ uvarindoles C, D and A (**F5, F10, F11**) , cardamonin (**F6**) , ferrudiol (**F7**) , 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (**F8**) , 5-O-methoxydichamanetine (**F9**) , ellipseiopsol B (**F12**) , zeylenol (**F13**) , 7-O-methylisochamanetine (**F14**) และ *epi*-methylphelligrin A (**F15**) ในขณะที่ส่วนสกัดหยาบอะซิโตนของใบต้นนมแมวป่า แยกสารบริสุทธิ์ได้จำนวน 25 สาร ซึ่งซ้ำกับส่วนผล 3 สาร โดยเป็นสารใหม่ในกลุ่มพอลิออกซิเนตไฮโคไลเฮกซีน 14 สาร คือ cherrevenols A-K และ cherrevenols M-O (**L1-L11** และ **L19-L22**) และสารใหม่ในกลุ่มเซโคไฮโคไลเฮกซีน 1 สาร คือ cherrevenol L (**L12**) และสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วอีก 10 สาร คือ uvamalol F (**L13**) , (-)-1,6-desoxypipoxide (**L14**) , uvaridapoxide A (**L15**) , (1*R*,2*R*,3*R*,6*S*)-pipoxide (**L16**) , (-)-6-acetylzeylenol (**L17**) , piperenol A (**L18**) , dulcisene A (**L22**) , **F7, F12** และ **F13**



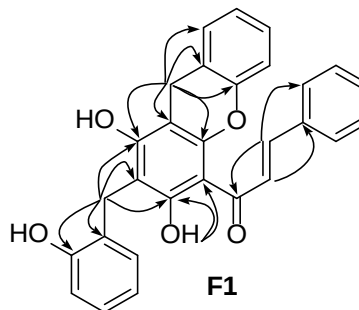
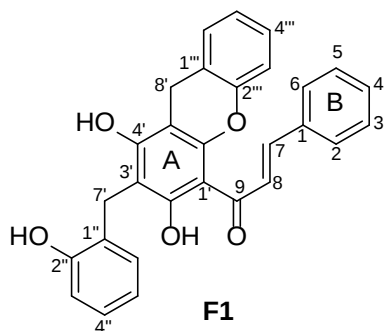


## โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ (F1-F4, L1-L12 และ L19-L21) ที่แยกได้จากผลและใบของต้นนมแมวป่า

### สาร F1

สาร **F1** มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีจุดหลอมเหลวที่ 224-226 °C แมสสเปกตรัมปรากฏสัญญาณ  $m/z$  ที่ 473.1355  $[M+Na]^+$ , ค่าจากการคำนวณ 473.1365  $C_{29}H_{22}O_5$  เป็นสูตรโมเลกุลของสารนี้ ในขณะที่ UV สเปกตรัมแสดงการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  215 282 และ 355 nm ในขณะที่ IR สเปกตรัม ปรากฏสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิลที่เลขคลื่น  $3241\text{ cm}^{-1}$  หมู่  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl ที่เลขคลื่น  $1627\text{ cm}^{-1}$  และวงอะโรมาติกที่  $1608$  กับ  $1490\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นลักษณะของโครงสร้างซาลิโคน ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ **F1** (ตาราง 1) ปรากฏสัญญาณของคีเลตไฮดรอกซีโปรตอนที่  $\delta_H$  14.35 (1H, s) สัญญาณของโอลิฟินิลโปรตอนของ (*E*)- $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone 2 สัญญาณที่  $\delta_H$  8.16 (1H, d,  $J = 15.6\text{ Hz}$ ) และ 7.83 (1H, d,  $J = 15.6\text{ Hz}$ ) ชุดสัญญาณของวงอะโรมาติกที่มีหมู่แทนที่ 1 หมู่ที่  $\delta_H$  7.82 (2H, d,  $J = 7.6\text{ Hz}$ ), 7.50 (2H, d,  $J = 7.6\text{ Hz}$ ) และ 7.48 (1H, t,  $J = 7.6\text{ Hz}$ ) หน่วยย่อย 2-ไฮดรอกซีเบนซิลที่  $\delta_H$  7.44 (1H, d,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 7.07 (1H, t,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 6.93 (1H, d,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 6.84 (1H, t,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ) และ 3.98 (2H, s) และส่วนย่อยคล้ายไฮดรอกซีเบนซิล (C-1''-C-6'' และ C-8') ที่เป็นส่วนของ xanthen ปรากฏที่  $\delta_H$  7.30 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.25 (1H, t,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.11 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.05 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ) และ 3.91 (2H, s) ซึ่งคล้ายกับสาร isochamuvaritin  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัม พบสัญญาณ 29 สัญญาณ ประกอบด้วย  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl carbon 1 สัญญาณ ( $\delta_C$  193.6) ควอเตอร์นารีอะโรมาติกคาร์บอน 11 สัญญาณ ( $\delta_C$  164.0, 160.6, 153.7, 152.7, 151.4, 136.4, 127.8, 121.2, 110.2, 105.6 และ 101.2) อะโรมาติกเมทไทน์คาร์บอน 13 สัญญาณ ( $\delta_C$  131.9, 131.2, 130.4, 130.0 (2C), 129.3 (2C), 128.8, 128.3, 125.0, 121.7, 116.8 และ 115.7) แอลคีนเมทไทน์ 2 สัญญาณ ( $\delta_C$  142.9 และ 128.7) และเมทิลีนคาร์บอน 2 สัญญาณ ( $\delta_C$  22.8 และ 22.7) จาก HMBC สเปกตรัมพบความสัมพันธ์ของ H-7 ( $\delta_H$  7.83/ $\delta_C$  142.9) กับ C-2/C-6 ( $\delta_C$  130.0) และ C-9 ( $\delta_C$  193.6) นอกจากนี้ยังมีพบความสัมพันธ์ของโอลิฟินิลโปรตอน H-8 ( $\delta_H$  8.16/ $\delta_C$  128.7) กับ C-1 ( $\delta_H$  136.4) จากข้อมูลยืนยันได้ว่าวง mono-substituted benzene (วง B) เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างหลักซาลิโคลคีเลตไฮดรอกซีโปรตอน ( $\delta_H$  14.35) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-1' ( $\delta_C$  105.6), C-2' ( $\delta_C$  164.0) และ C-3' ( $\delta_C$  110.2) เมทิลีนโปรตอน H-7' ( $\delta_H$  3.98) ของหมู่ที่คล้ายกับ 2-hydroxybenzyl แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-2', C-3', C-4' ( $\delta_C$  160.6), C-1'' ( $\delta_C$  127.8), C-2'' ( $\delta_C$  153.7) และ C-6'' ( $\delta_C$  131.9) หมู่ที่คล้ายกับ 2-hydroxybenzyl ที่จะเป็นส่วนของวง xanthen เชื่อมอยู่กับพันธะคาร์บอนและคาร์บอน (C-C) ที่ตำแหน่ง C-5 ( $\delta_C$  101.2) และ C-8' ( $\delta_C$  22.8) นอกจากนี้พันธะคาร์บอนและออกซิเจน (C-O) ยังเชื่อมที่ C-6' ( $\delta_C$  152.7) โดยอาศัยความสัมพันธ์ HMBC ของ H-8' ( $\delta_H$

3.91) กับ C-4', C-5', C-1''' ( $\delta_C$  121.2), C-2''' ( $\delta_C$  151.4) และ C-6''' ( $\delta_C$  130.4) ออกซิเจนอะโรมาติกคาร์บอน C-2' และ C-4' ที่ต่อกับหมู่ไฮดรอกซิล เนื่องจากค่าเคมีคัลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำ ผลจากอินตักทีฟ ดังนั้นสาร **F1** คือ (*E*)-1-(1,3-dihydroxy-2-(2-hydroxybenzyl)-9*H*-xanthen-4-yl)-3-phenylprop-2-en-1-one หรือ cherrevenone A



ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ )

ตาราง 1 ข้อมูล  $^1\text{H}$  (500 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR ของ **F1-F3** ใน acetone- $d_6$

| Position | F1 <sup>a</sup>                 |                            |                 | F2                              |                            | F3                              |                            |       |                 |
|----------|---------------------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|-------|-----------------|
|          | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |       |                 |
| 1        |                                 | 136.4                      | C               |                                 | 128.1                      | C                               |                            | 136.4 | C               |
| 2        | 7.50 d (7.6)                    | 130.0                      | CH              | 7.59 d (8.6)                    | 131.3                      | CH                              | 7.46 m                     | 129.9 | CH              |
| 3        | 7.82 d (7.6)                    | 129.3                      | CH              | 6.90 d (8.6)                    | 116.8                      | CH                              | 7.74 dd (8.0,1.4)          | 129.2 | CH              |
| 4        | 7.48 t (7.6)                    | 131.2                      | CH              |                                 | 160.8                      | C                               | 7.45 m                     | 131.1 | CH              |
| 5        | 7.82 d (7.6)                    | 129.3                      | CH              | 6.90 d (8.6)                    | 116.8                      | CH                              | 7.74 dd (8.0,1.4)          | 129.2 | CH              |
| 6        | 7.50 d (7.6)                    | 130.0                      | CH              | 7.59 d (8.6)                    | 131.3                      | CH                              | 7.46 m                     | 129.9 | CH              |
| 7        | 7.83 d (15.6)                   | 142.9                      | CH              | 7.72 d (15.5)                   | 143.6                      | CH                              | 7.85 d (15.7)              | 143.4 | CH              |
| 8        | 8.16 d (15.6)                   | 128.7                      | CH              | 7.90 (15.5)                     | 127.9                      | CH                              | 8.03 d (15.7)              | 127.3 | CH              |
| 9        |                                 | 193.6                      | C               |                                 | 193.5                      | C                               |                            | 193.0 | C               |
| 1'       |                                 | 105.6                      | C               |                                 | 106.2                      | C                               |                            | 108.5 | C               |
| 2'       |                                 | 164.0                      | C               |                                 | 165.3                      | C                               |                            | 164.6 | C               |
| 3'       |                                 | 110.2                      | C               |                                 | 108.1                      | C                               |                            | 112.1 | C               |
| 4'       |                                 | 160.6                      | C               |                                 | 163.2                      | C                               |                            | 161.1 | C               |
| 5'       |                                 | 101.2                      | C               | 6.14 br s                       | 92.2                       | C                               |                            | 115.1 | C               |
| 6'       |                                 | 152.7                      | C               |                                 | 162.5                      | C                               |                            | 160.9 | C               |
| 7'       | 3.98 s                          | 22.7                       | CH <sub>2</sub> | 3.88 s                          | 22.8                       | CH <sub>2</sub>                 | 3.96 s                     | 23.7  | CH <sub>2</sub> |
| 8'       | 3.91 s                          | 22.8                       | CH <sub>2</sub> |                                 |                            |                                 | 3.96 s                     | 24.4  | CH <sub>2</sub> |

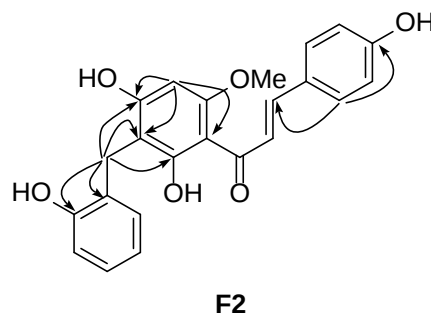
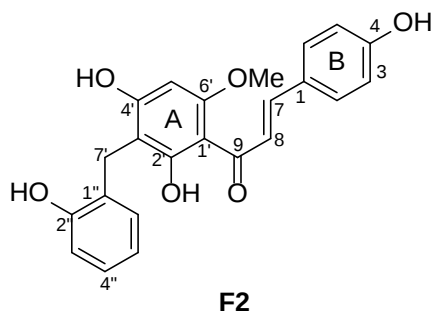
ตาราง 1 ข้อมูล  $^1\text{H}$  (500 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR ของ **F1-F3** ใน acetone- $d_6$  (ต่อ)

| Position | F1 <sup>a</sup>                 |                            |    | F2                              |                            |                 | F3                              |                            |                 |
|----------|---------------------------------|----------------------------|----|---------------------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------|
|          | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |    | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 |
| 1''      |                                 | 127.8                      | C  |                                 | 127.8                      | C               |                                 | 128.3                      | C               |
| 2''      |                                 | 153.7                      | C  |                                 | 155.0                      | C               |                                 | 155.3                      | C               |
| 3''      | 6.93 d (7.5)                    | 115.7                      | CH | 6.78 dd (7.6,1.8)               | 115.9                      | CH              | 6.83 dd (7.5,1.6)               | 116.0                      | CH              |
| 4''      | 7.07 t (7.5)                    | 128.3                      | CH | 6.97 td (7.6,1.8)               | 127.9                      | CH              | 6.98 td (7.5,1.6)               | 127.7                      | CH              |
| 5''      | 6.84 t (7.5)                    | 121.7                      | CH | 6.70 td (7.6,1.8)               | 120.7                      | CH              | 6.75 td (7.5,1.6)               | 120.8                      | CH              |
| 6''      | 7.44 d (7.5)                    | 131.9                      | CH | 7.24 dd (7.6,1.8)               | 131.2                      | CH              | 7.36 dd (7.5,1.6)               | 131.7                      | CH              |
| 1'''     |                                 | 121.2                      | C  |                                 |                            |                 |                                 | 128.1                      | C               |
| 2'''     |                                 | 151.4                      | C  |                                 |                            |                 |                                 | 155.7                      | C               |
| 3'''     | 7.05 d (7.4)                    | 116.8                      | CH |                                 |                            |                 | 6.83 dd (7.9,1.6)               | 115.9                      | CH              |
| 4'''     | 7.25 t (7.4)                    | 128.8                      | CH |                                 |                            |                 | 7.02 td (7.9,1.6)               | 128.0                      | CH              |
| 5'''     | 7.11 t (7.4)                    | 125.0                      | CH |                                 |                            |                 | 6.70 td (7.9,1.6)               | 120.3                      | CH              |
| 6'''     | 7.30 d (7.4)                    | 130.4                      | CH |                                 |                            |                 | 7.08 dd (7.9,1.6)               | 130.7                      | CH              |
| 2'-OH    | 14.35 s                         |                            |    |                                 |                            |                 | 14.17 s                         |                            |                 |
| 6'-OMe   |                                 |                            |    | 3.91 s                          | 56.3                       | CH <sub>3</sub> | 3.68 s                          | 63.6                       | CH <sub>3</sub> |

<sup>a</sup> Measured at 400 MHz ( $^1\text{H}$  NMR) and 100 MHz ( $^{13}\text{C}$  NMR)

## สาร F2

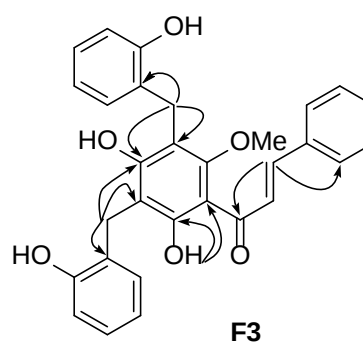
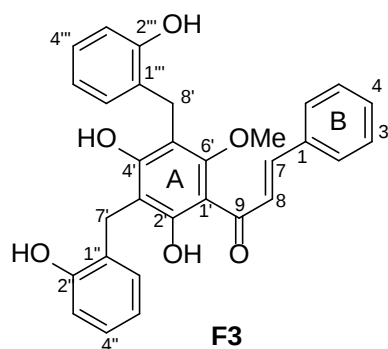
สาร **F2** มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_6$  ได้มาจากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 391.1189  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (ค่าจากการคำนวณ 391.1182) ข้อมูล UV IR และ NMR ของ **F2** (ตาราง 1) คล้ายกับสาร 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (**F8**) ยกเว้น สัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR ที่วง B ในสาร F8 ถูกแทนที่ด้วยชุดสัญญาณของ *p*-substituted benzene [ $\delta_{\text{H}}$  7.59 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz และ 6.90 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz)] อะโรมาติกโปรตอน H-2/H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  7.59/  $\delta_{\text{C}}$  131.3) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  160.8) และ C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  143.6) และที่ตำแหน่งอะโรมาติกคาร์บอน C-4 ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล เนื่องจากค่าเคมีคัลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำ สาร **F2** คือ 4,2',4'-trihydroxy-3'-(2-hydroxybenzyl)-6'-methoxychalcone หรือ cherrevenone B



ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ )

### สาร F3

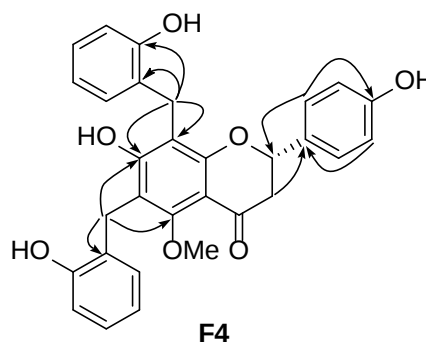
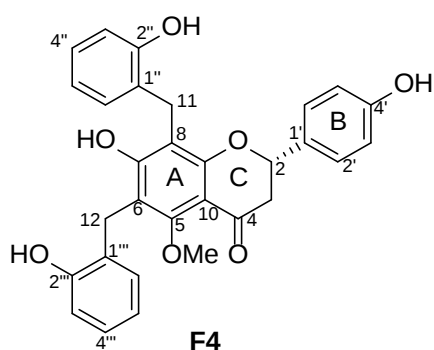
สาร **F3** มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล จากแมสสเปกตรัมพบ  $m/z$  ที่ 505.16209  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (ค่าจากการคำนวณ 505.16216) ซึ่งสอดคล้องกับสูตรโมเลกุล  $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_6$  ข้อมูล NMR ดังแสดงในตาราง 1 คล้ายกับสาร **F8** ยกเว้น การเพิ่มขึ้นอีก 1 หมู่ของ 2-hydroxybenzyl ที่ปรากฏชุดสัญญาณ NMR ที่  $[\delta_{\text{H}}$  7.08 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 7.02 (1H, td,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 6.83 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 6.70 (1H, td,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 3.96 (2H, s)] และพบว่าสัญญาณของ H-5' หายไป เมทิลซีนโปรตอน H-8' ( $\delta_{\text{H}}$  3.96/  $\delta_{\text{C}}$  24.4) ของหมู่ที่เพิ่มขึ้น แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  161.1), C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  115.1) และ C-1''' ( $\delta_{\text{C}}$  128.1) ซึ่งยืนยันว่า หมู่ 2-hydroxybenzyl ต่ออยู่กับโครงสร้างหลักที่ตำแหน่ง C-5' ดังนั้นสาร **F3** คือ 2',4'-dihydroxy-3',5'-di(2-hydroxybenzyl)-6'-methoxychalcone หรือ cherrevenone C



ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ )

## สาร F4

สาร **F4** มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{30}H_{26}O_7$  ได้จากแมสสเปกตรัม โดยพบสัญญาณ  $[M+H]^+$  ที่  $m/z$  499.1743 (ค่าจากการคำนวณ 499.1757) สเปกตรัม UV พบการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  214, 280 และ 328 nm ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างหลัก ฟลาวาโนน สเปกตรัม IR พบแถบสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล ( $3339\text{ cm}^{-1}$ ) หมู่คาร์บอนิล ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ) และวงอะโรมาติก ( $1585$  และ  $1460\text{ cm}^{-1}$ ) ข้อมูล NMR ดังแสดงในตาราง 2 คล้ายกับสาร 5-O-methoxydichamanetine (**F9**) ยกเว้น พบชุดสัญญาณของ *p*-disubstituted benzene [ $\delta_H$  7.43 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 6.92 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ )] แทนที่ชุดสัญญาณของ mono-substituent benzene ใน **F9** อะโรมาติกโปรตอน H-2'/H-6' ( $\delta_H$  7.43) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-2 ( $\delta_C$  79.7) และ C-4' ( $\delta_C$  158.6) เนื่องจากค่าเคมีคัลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำของตำแหน่ง C-4' แสดงว่าถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล สำหรับหมู่ methoxy ( $\delta_H$  3.78) อยู่ที่ตำแหน่ง C-5 ( $\delta_C$  159.3) จากข้อมูลความสัมพันธ์ HMBC และนอกจากนี้ข้อมูล 1D NOE พบว่าสัญญาณของ H-6''' ( $\delta_H$  7.10) และ CH<sub>2</sub>-12 ( $\delta_H$  3.92) เพิ่มขึ้นเมื่อทำการ irradiate หมู่ methoxy ( $\delta_H$  3.78) สำหรับ configuration ของสาร **F4** วิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบ specific rotation ( $[\alpha]_D^{20} -52.2$  (c 0.07, acetone)) กับ dichamanetin ( $[\alpha]_D^{21} -9$  (c 2.3, acetone)) ซึ่งได้เป็น 2S ทำให้สรุปว่า สาร **F4** คือ 2S-7,4'-dihydroxy-6,8-di(2-hydroxybenzyl)-5-methoxyflavanone หรือ cherrevenone D



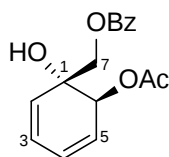
ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ )

ตาราง 2 ข้อมูล  $^1\text{H}$  (500 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR ของ **F4** ใน acetone- $d_6$

| <b>F4</b> |                                 |                            |                 |          |                                 |                            |
|-----------|---------------------------------|----------------------------|-----------------|----------|---------------------------------|----------------------------|
| Position  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 | Position | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 2         | 5.42 dd (13.2,2.8)              | 79.7                       | CH              | 1''      |                                 | 128.0                      |
| 3         | 2.99 dd (16.6,13.2)             | 46.1                       | CH <sub>2</sub> | 2''      |                                 | 155.0                      |
|           | 2.64 dd (16.6,2.8)              |                            |                 | 3''      | 6.80 d (7.5)                    | 116.2 CH                   |
| 4         |                                 | 189.0                      | C               | 4''      | 6.99 t (7.5)                    | 127.9 CH                   |
| 5         |                                 | 159.3                      | C               | 5''      | 6.67 t (7.5)                    | 120.7 CH                   |
| 6         |                                 | 116.5                      | C               | 6''      | 7.14 d (7.5)                    | 131.7 CH                   |
| 7         |                                 | 161.5                      | C               | 1'''     |                                 | 128.3                      |
| 8         |                                 | 112.2                      | C               | 2'''     |                                 | 155.6                      |
| 9         |                                 | 158.5                      | C               | 3'''     | 6.80 d (7.5)                    | 116.0 CH                   |
| 10        |                                 | 110.9                      | C               | 4'''     | 6.98 t (7.5)                    | 127.7 CH                   |
| 11        | 3.90 br s                       | 24.3                       | CH <sub>2</sub> | 5'''     | 6.69 t (7.5)                    | 120.3 CH                   |
| 12        | 3.92 br s                       | 24.2                       | CH <sub>2</sub> | 6'''     | 7.10 d (7.5)                    | 131.4 CH                   |
| 1'        |                                 | 131.1                      |                 | 5-OMe    | 3.78 s                          | 61.9 CH <sub>3</sub>       |
| 2'        | 7.43 d (8.2)                    | 129.0                      | CH              |          |                                 |                            |
| 3'        | 6.92 d (8.2)                    | 115.9                      | CH              |          |                                 |                            |
| 4'        |                                 | 158.6                      |                 |          |                                 |                            |
| 5'        | 6.92 d (8.2)                    | 115.9                      | CH              |          |                                 |                            |
| 6'        | 7.43 d (8.2)                    | 129.0                      | CH              |          |                                 |                            |

## สาร L1

สาร **L1** มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{26} +41$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$  ได้จากแมสสเปกตรัมโดยพบ  $m/z$  ที่ 311.0900 (ค่าจากการคำนวณ 311.0895)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  สเปกตรัม UV แสดงการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 228 nm และสเปกตรัม IR แสดงแถบสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่คาร์บอนิล ที่เลขคลื่น 3340 และ  $1721\text{ cm}^{-1}$  ตามลำดับ ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ดังแสดงในตาราง 3 แสดงชุดสัญญาณของหมู่ benzoate ( $\delta_{\text{H}}$  8.04 (2H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ ), 7.58 (1H, t,  $J = 7.8\text{ Hz}$ ), 7.45 (2H, t,  $J = 7.8\text{ Hz}$ )), สัญญาณของ (Z)-olefinic protons 4 สัญญาณ ( $\delta_{\text{H}}$  6.08 กับ 6.07 (อย่างละ 1H, t,  $J = 10.5\text{ Hz}$ ) และ 5.87 กับ 5.84 (อย่างละ 1H, d,  $J = 10.5\text{ Hz}$ )) สัญญาณของออกซิเมทไธนโปรตอน 1 สัญญาณที่สนามต่ำ ( $\delta_{\text{H}}$  5.74 (1H, br s)) เมทิลีนโปรตอนที่ไม่สมมาตร 2 สัญญาณ ( $\delta_{\text{H}}$  4.54 และ 4.45 (อย่างละ 1H, d,  $J = 11.5\text{ Hz}$ )) และหมู่อะซิโทกซี  $\delta_{\text{H}}$  2.05 (3H, s) ข้อมูล  $^{13}\text{C}$  NMR ดังแสดงในตาราง 3 พบสัญญาณของหมู่ benzoate 1 หมู่ ( $\delta_{\text{C}}$  166.7, 133.4, 129.9 (2C), 128.7, 128.6 (2C)) สัญญาณของโอลิฟีนิกคาร์บอน 4 สัญญาณ ( $\delta_{\text{C}}$  129.8, 126.5, 125.4, 125.3) สัญญาณของหมู่อะซิโทกซี ( $\delta_{\text{C}}$  171.3, 21.1) ออกซิเจนเตอเทอเรียคาร์บอน ( $\delta_{\text{C}}$  73.1) ออกซิเมทไธนคาร์บอน ( $\delta_{\text{C}}$  75.7) และเมทิลีนคาร์บอน ( $\delta_{\text{C}}$  66.3) จากข้อมูลความสัมพันธ์ของ COSY พบ H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5.84/ $\delta_{\text{C}}$  129.8), H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6.08/ $\delta_{\text{C}}$  125.4), H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  6.07/ $\delta_{\text{C}}$  125.3), H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  5.87/ $\delta_{\text{C}}$  126.5) และ H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.74/ $\delta_{\text{C}}$  75.7) เป็นส่วนที่เชื่อมต่อกัน โอลิฟีนิกโปรตอน H-3 แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  73.1) และ C-5 ขณะที่ H-4 สัมพันธ์กับ C-2 และ C-6 เมทิลีนโปรตอน  $\text{CH}_2$ -7 เชื่อมอยู่ระหว่าง C-1 และหมู่ benzoate ยืนยันได้จากข้อมูล HMBC ระหว่างโปรตอนเมทิลีนกับ C-1 และคาร์บอนิลของหมู่ benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.7) สำหรับหมู่อะซิโทกซีเชื่อมกับโครงสร้างหลักที่ตำแหน่ง C-6 สอดคล้องกับความสัมพันธ์ HMBC ระหว่าง H-6 กับคาร์บอนิลคาร์บอนของหมู่อะซิโทกซี ( $\delta_{\text{C}}$  171.3) ออกซิเจนเตอเทอเรียคาร์บอน C-1 ต่ออยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล เนื่องจากค่าเคมีคอลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำ จาก NOESY สเปกตรัมไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 และ  $\text{CH}_2$ -7 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนเหล่านี้เป็นความสัมพันธ์ตรงข้ามกัน (*anti-relationship*) เมื่อเปรียบเทียบกับ specific rotation ของ **L1** ( $[\alpha]_D^{26} +41$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) กับสารสังเคราะห์ (+)-(1S,2S)-1-methyl-3,5-cyclohexadiene-1,2-diol ( $[\alpha]_D^{20} +45$  (c 0.6,  $\text{CHCl}_3$ )) ดังนั้นสาร **L1** มีชื่อว่า cherrevenol A มี configuration เป็น 1R, 6S

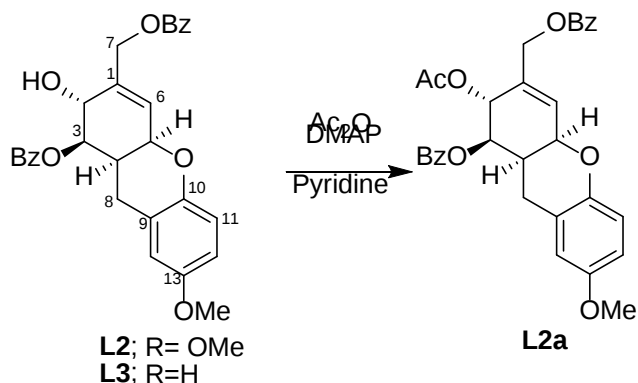
**L1**ตาราง 3. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (500 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR ของ **L1** และ **L4** ใน  $\text{CDCl}_3$ 

| position | <b>L1<sup>a</sup></b>           |                            | <b>L4</b>                       |                            |
|----------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|
|          | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 1        |                                 | 73.1 C                     |                                 | 135.2 C                    |
| 2        | 5.84, d (10.5)                  | 129.8 CH                   | 4.52, d (7.5)                   | 70.3 CH                    |
| 3        | 6.08, t (10.5)                  | 125.4 CH                   | 5.54, ddd<br>(7.5, 3.9, 1.5)    | 75.2 CH                    |
| 4        | 6.07, t (10.5)                  | 125.3 CH                   | 5.85, td (9.3, 3.9)             | 122.9 CH                   |
| 5        | 5.87, d (10.5)                  | 126.5 CH                   | 6.08, td (5.5, 1.5)             | 125.6 CH                   |
| 6        | 5.74, br s                      | 75.7 CH                    | 6.12, ddd (9.3, 5.5, 1.5)       | 125.2 CH                   |
| 7        | 4.54, d (11.5)                  | 66.3 $\text{CH}_2$         | 5.09, d (13.4)                  | 64.8 $\text{CH}_2$         |
|          | 4.45, d (11.5)                  |                            | 4.95, d (13.4)                  |                            |
| 1'       |                                 | 128.7 C                    |                                 | 129.9 C                    |
| 2',6'    | 8.04, d (7.8)                   | 129.9 CH                   | 8.05, dd (8.4, 1.3)             | 129.8 CH                   |
| 3',5'    | 7.45, t (7.8)                   | 128.6 CH                   | 7.45, t (8.4)                   | 128.6 CH                   |
| 4'       | 7.58, t (7.8)                   | 133.4 CH                   | 7.56, dd (8.4, 1.3)             | 133.4 CH                   |
| 1-OCOMe  |                                 |                            |                                 | 171.2 C                    |
| 1-OCOMe  |                                 |                            | 2.09, s                         | 21.3 $\text{CH}_3$         |
| 6-OCOMe  |                                 | 171.3 C                    |                                 |                            |
| 6-OCOMe  | 2.05, s                         | 21.1 $\text{CH}_3$         |                                 |                            |
| 7-CO     |                                 | 166.7 C                    |                                 | 166.6 C                    |

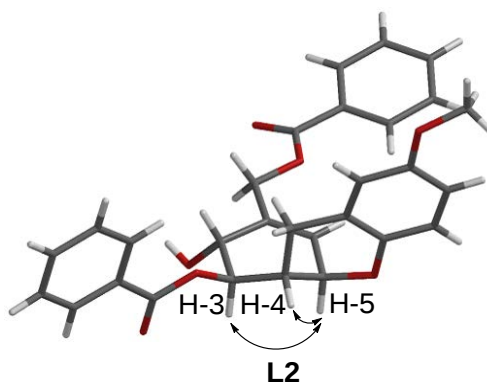
<sup>a</sup>  $^1\text{H}$  NMR determined at 400 MHz**สาร L2**

สาร **L2** มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -30$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีจุดหลอมเหลวที่ 132-134 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{O}_7$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 509.1578 (ค่าจากการคำนวณ 509.1576)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ข้อมูล NMR ของสาร **L2** ดังแสดงในตาราง 4 ซึ่งคล้ายกับสาร cyathostemmine [*ent*-**L2a**] ซึ่งพบในต้น *Cyathostemma viridiflorum* ยกเว้นหมู่เอซิทอกซีที่ตำแหน่ง C-2 ของสาร *ent*-**L2a** ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งสอดคล้องกับค่าเคมีคัลชิฟของ  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำขี้นกว่าของสาร *ent*-**L2a** จากข้อมูลของ NOESY สเปกตรัม พบความสัมพันธ์ของเมทไธน์โปรตอน H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  2.88) และ H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  4.97) แสดงให้เห็นว่ามีการเชื่อมกันของวง 2 วงแบบ *cis* ซึ่งคล้ายกับ

ลักษณะที่พบใน cyathostemmine (*ent*-**L2a**) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ NOESY H-2 ( $\delta_H$  4.57) และเมทิลีนโปรตอนที่ C-8 ( $\delta_H$  2.77) อยู่ด้านเดียวกันบนโครงสร้างแบบ *cis* จากค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -30$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) ของ **L2** มีค่าตรงข้ามกับสาร cyathostemmine ซึ่งมาค่าเป็น ( $[\alpha]_D +35$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) สาร **L2** นำมาทำปฏิกิริยา acetylation ได้ผลิตภัณฑ์เป็น **L2a** ซึ่งมีข้อมูล NMR ตรงกับสาร cyathostemmine แต่มีค่า specific rotation ตรงข้าม ( $[\alpha]_D^{26} -51$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) สำหรับ absolute configuration ของ **L2** ได้มาจากข้อมูล X-ray crystal analysis ดังนั้น **L2** คือ enantiomeric O-deacetyl of cyathostemmine มีชื่อว่า cherrevenol B มี configuration เป็น 2*R*,3*R*,4*R*,5*R*



การทำ acetylation ของ **L2**



Single crystal X-ray structures ของ **L2**  
และความสัมพันธ์ NOE ( $\leftrightarrow$ )

### สาร **L3**

สาร **L3** มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -26$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) พบสัญญาณของ  $m/z$  ที่ 479.1476 (ค่าจากการคำนวณ 479.1471)  $[M+Na]^+$  ซึ่งสอดคล้องกับสูตรโมเลกุล C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub> จากข้อมูล UV IR และ NMR ของสาร **L3** ดังแสดงในตาราง 4 ซึ่งคล้ายกับสาร **L2** ยกเว้น <sup>1</sup>H NMR ของหมู่ เมทอกซีที่ C-13 ถูกแทนที่ด้วยอะโรมาติกโปรตอน ซึ่งปรากฏชุดสัญญาณของ 1,2-disubstituted benzene [ $\delta_H$  7.07 (1H, br t,  $J = 7.4$  Hz), 7.01 (1H, br d,  $J = 7.4$  Hz), 6.85 (1H, dd,  $J = 7.4, 1.0$  Hz), 6.80 (1H, td,  $J = 7.4, 1.0$  Hz)] จากข้อมูลความสัมพันธ์ของ NOESY ระหว่าง H-2 ( $\delta_H$  4.58) กับเมทิลีนโปรตอนที่ C-8 ( $\delta_H$  2.77) และระหว่าง H-4 ( $\delta_H$  2.89) กับ H-5 ( $\delta_H$  5.01) ทำให้ทราบว่า **L3** มี relative configuration คล้ายกับ **L2** และ absolute configuration ของ **L3** เป็น 2*R*,3*R*,4*R*,5*R* ได้จากการเปรียบเทียบ specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -26$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) กับสาร **L2** ( $[\alpha]_D^{25} -30$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) สาร **L3** มีชื่อว่า cherrevenol C

ตาราง 4. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) NMR ของ **L2** **L2a** และ **L3** ใน  $\text{CDCl}_3$

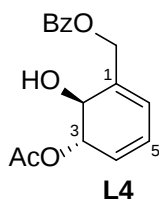
| position             | L2                              |                            |               | L2a                             |                            |               | L3                              |                            |               |
|----------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------|---------------------------------|----------------------------|---------------|---------------------------------|----------------------------|---------------|
|                      | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |               | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |               | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |               |
| 1                    |                                 | 135.5                      | C             |                                 | 129.5                      | C             |                                 | 135.4                      | C             |
| 2                    | 4.57, t (4.4)                   | 67.9                       | CH            | 6.08, d (7.0)                   | 68.4                       | CH            | 4.58, d (5.7)                   | 67.8                       | CH            |
| 3                    | 5.42, dd (5.9, 3.6)             | 77.4                       | CH            | 5.53, dd (7.0, 3.1)             | 74.1                       | CH            | 5.43, dd (5.7, 3.6)             | 77.4                       | CH            |
| 4                    | 2.88, m                         | 33.7                       | CH            | 2.94, m                         | 34.5                       | CH            | 2.89, m                         | 33.6                       | CH            |
| 5                    | 4.97, br s                      | 70.4                       | CH            | 5.05, br s                      | 70.4                       | CH            | 5.01, br s                      | 70.4                       | CH            |
| 6                    | 6.14, br s                      | 129.6                      | CH            | 6.23, br s                      | 131.7                      | CH            | 6.16, br s                      | 129.2                      | CH            |
| 7                    | 5.15, d (13.3)                  | 64.9                       | $\text{CH}_2$ | 4.89, d (13.8)                  | 64.1                       | $\text{CH}_2$ | 5.14, d (13.3)                  | 64.9                       | $\text{CH}_2$ |
|                      | 4.81, d (13.3)                  |                            |               | 4.76, d (13.8)                  |                            |               | 4.83, d (13.3)                  |                            |               |
| 8                    | 2.98, dd (15.8, 6.3)            | 23.8                       | $\text{CH}_2$ | 2.94, m                         | 23.3                       | $\text{CH}_2$ | 3.03, dd (15.5, 6.0)            | 23.5                       | $\text{CH}_2$ |
|                      | 2.77, dd (15.5, 8.5)            |                            |               |                                 |                            |               | 2.77, dd (15.5, 8.6)            |                            |               |
| 9                    |                                 | 121.1                      | C             |                                 | 120.8                      | C             |                                 | 120.4                      | C             |
| 10                   |                                 | 147.5                      | C             |                                 | 147.3                      | C             |                                 | 153.6                      | C             |
| 11                   | 6.77, d (8.9)                   | 117.5                      | CH            | 6.76, d (8.9)                   | 117.5                      | CH            | 6.85, dd (7.4, 1.0)             | 116.8                      | CH            |
| 12                   | 6.65, dd (8.9, 3.0)             | 113.8                      | CH            | 6.63, dd (8.9, 3.0)             | 113.8                      | CH            | 7.07, br t (7.4)                | 127.6                      | CH            |
| 13                   |                                 | 153.7                      | C             |                                 | 153.7                      | C             | 6.80, td (7.4, 1.0)             | 120.7                      | CH            |
| 14                   | 6.56, d (3.0)                   | 113.9                      | CH            | 6.56, d (3.0)                   | 113.9                      | CH            | 7.01, br d (7.4)                | 129.4                      | CH            |
| 1' <sup>b</sup>      |                                 | 129.7                      | C             |                                 | 132.2                      | C             |                                 | 129.7                      | C             |
| 2',6' <sup>a</sup>   | 7.92, d (8.2)                   | 129.9                      | CH            | 7.96, dd (8.4, 1.4)             | 129.9                      | CH            | 7.89, dd (8.0, 1.2)             | 129.9                      | CH            |
| 3',5' <sup>a</sup>   | 7.39, t (8.2)                   | 128.5                      | CH            | 7.41, t (8.4)                   | 128.6                      | CH            | 7.38, t (8.0)                   | 128.5                      | CH            |
| 4' <sup>a</sup>      | 7.54, t (8.2)                   | 133.4                      | CH            | 7.55, m                         | 133.4                      | CH            | 7.54, tt (8.0, 1.2)             | 133.4                      | CH            |
| 1'' <sup>b</sup>     |                                 | 129.8                      | C             |                                 | 132.2                      | C             |                                 | 129.8                      | C             |
| 2'',6'' <sup>b</sup> | 8.02, d (8.2)                   | 130.0                      | CH            | 8.01, dd (8.4, 1.4)             | 130.0                      | CH            | 8.02, dd (8.0, 1.2)             | 130.0                      | CH            |
| 3'',5'' <sup>b</sup> | 7.43, t (8.2)                   | 128.6                      | CH            | 7.43, t (8.4)                   | 128.6                      | CH            | 7.42, t, (8.0)                  | 128.6                      | CH            |
| 4'' <sup>b</sup>     | 7.58, t (8.2)                   | 133.4                      | CH            | 7.55, m                         | 133.5                      | CH            | 7.56, tt (8.0, 1.2)             | 133.4                      | CH            |
| 2-COMe               |                                 |                            |               |                                 | 170.3                      | C             |                                 |                            |               |
| 2-COMe               |                                 |                            |               | 2.02, s                         | 21.0                       | $\text{CH}_3$ |                                 |                            |               |
| 3-CO                 |                                 | 166.8                      | C             |                                 | 166.1                      | C             |                                 | 166.8                      | C             |
| 7-CO                 |                                 | 166.7                      | C             |                                 | 165.9                      | C             |                                 | 166.7                      | C             |
| 13-OMe               | 3.70, s                         | 55.9                       | $\text{CH}_3$ | 3.69, s                         | 55.8                       | $\text{CH}_3$ |                                 |                            |               |

<sup>a</sup> Aromatic carbons at C-7 OBz

<sup>b</sup> Aromatic carbons at C-3 OBz

#### สาร L4

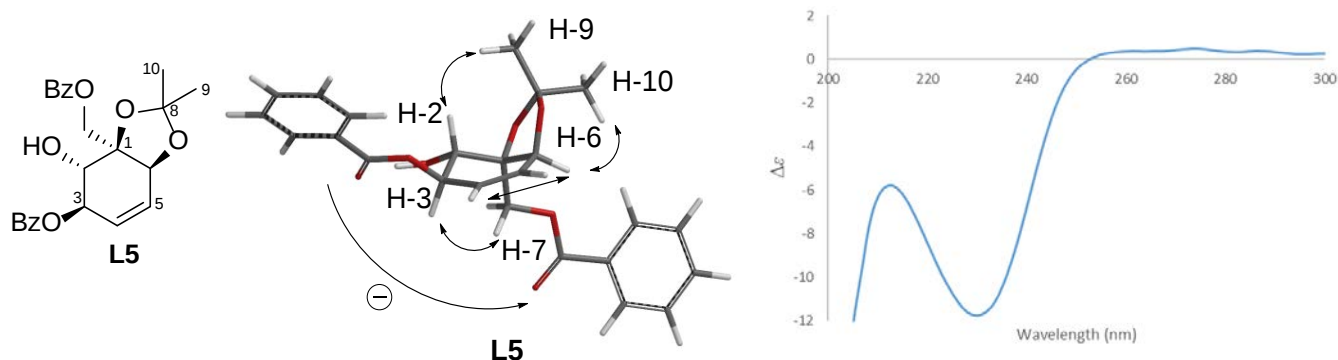
สาร **L4** มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{24} +288$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 311.08901 (ค่าจากการคำนวณ 311.08899)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ข้อมูล UV สเปกตรัมแสดงการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 237 nm และ IR สเปกตรัมแสดงสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอนิล ที่  $3456$  และ  $1718\text{ cm}^{-1}$  ตามลำดับ ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ของสาร **L4** ดังแสดงในตาราง 3 คล้ายกับสารสังเคราะห์ (*2R*)-*trans*-3-acetoxy-2-hydroxy-1-[(benzoyloxy)-methyl]cyclohexa-4,6-diene แต่มีค่า specific rotation ตรงข้าม ( $[\alpha]_D^{25} -132$  (c 0.6,  $\text{CHCl}_3$ )) ซึ่งทำให้ทราบว่า **L4** เป็น enantiomer ของสารสังเคราะห์และเรียกชื่อว่า cherrevenol D



#### สาร L5

สาร **L5** มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{24} -134$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีจุดหลอมเหลวที่  $92-94\text{ }^{\circ}\text{C}$  และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_7$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 447.1422 (ค่าจากการคำนวณ 447.1420)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ข้อมูล UV สเปกตรัมแสดงการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 230 nm และ IR สเปกตรัมแสดงสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล ( $3475\text{ cm}^{-1}$ ) และคาร์บอนิล ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ) ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ของสาร **L5** ดังแสดงในตาราง 5 พบสัญญาณของหมู่ benzoate 2 หมู่ [ $\delta_{\text{H}}$  8.08 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 7.59 (1H, t,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 7.48 (2H, t,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ) และ  $\delta_{\text{H}}$  8.05 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 7.59 (1H, t,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 7.45 (2H, t,  $J = 8.2\text{ Hz}$ )], โปรตอนของ (Z)-olefinic 2 สัญญาณ [ $\delta_{\text{H}}$  6.04 (1H, d,  $J = 10.4, 4.1\text{ Hz}$ ) และ 5.98 (1H, d,  $J = 10.4\text{ Hz}$ )] ออกซิเมทไธโนโปรตอน 3 สัญญาณ [ $\delta_{\text{H}}$  5.82 (1H, d,  $J = 9.2\text{ Hz}$ ), 4.76 (1H, d,  $J = 4.1\text{ Hz}$ ) และ 4.27 (1H, d,  $J = 9.2\text{ Hz}$ )] เมทิลีนโปรตอนที่ไม่สมมาตร 2 สัญญาณ [ $\delta_{\text{H}}$  4.80 และ 4.64 (อย่างละ 1H, d,  $J = 11.9\text{ Hz}$ )] และหมู่เมทิล 2 หมู่ [ $\delta_{\text{H}}$  1.59 และ 1.46 (อย่างละ 3H, s)] ข้อมูล  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร **L5** (ตาราง 5) พบสัญญาณ 2 ชุดของหมู่ benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.8, 133.5, 130.0 (2C), 129.8 และ 128.7 (2C) และ 166.3, 133.4, 129.9 (2C), 129.7 และ 128.6 (2C)) โอลิฟีนิกคาร์บอน 2 สัญญาณ ( $\delta_{\text{C}}$  131.2 และ 125.3) ไดออกซิเจนเตเซคันดารีคาร์บอน 1 สัญญาณ ( $\delta_{\text{C}}$  111.4) ออกซิเจนเตเทอเทียรีคาร์บอน 1 สัญญาณ ( $\delta_{\text{C}}$  82.4) ออกซิเมทไธโนคาร์บอน 3 สัญญาณ ( $\delta_{\text{C}}$  74.6, 74.1 และ 73.4) และเม

ทีลีนคาร์บอน 1 สัญญาณ ( $\delta_C$  62.4) ข้อมูลโปรตอน H-2 ( $\delta_H$  4.27/ $\delta_C$  74.1), H-3 ( $\delta_H$  5.82/ $\delta_C$  73.4), H-4 ( $\delta_H$  5.98/ $\delta_C$  131.2), H-5 ( $\delta_H$  6.04/ $\delta_C$  125.3) และ H-6 ( $\delta_H$  4.76/ $\delta_C$  74.6) เชื่อมกันอยู่โดยอาศัยข้อมูลความสัมพันธ์ COSY และสอดคล้องกับความสัมพันธ์ HMBC ของ H-4 กับ C-2 และ H-5 กับ C-1 ( $\delta_C$  82.4) และ C-3 โดยหมู่ benzoate หมู่แรกต่ออยู่ที่ตำแหน่ง C-3 ของโครงสร้างหลัก โดยยืนยันได้จากข้อมูลความสัมพันธ์ HMBC ของ H-3 กับคาร์บอนิลของหมู่ benzoate ( $\delta_C$  166.8) ออกซิเมทไน์โปรตอน H-6 แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-4 และ C-7 ( $\delta_C$  62.7) เมทิลทีลีนคาร์บอน C-7 เชื่อมอยู่ระหว่าง C-1 และหมู่ benzoate อีกหนึ่งหมู่ ยืนยันได้โดยอาศัยข้อมูล HMBC ของเมทิลทีลีนโปรตอน CH<sub>2</sub>-7 กับ C-1 และคาร์บอนิลของหมู่ benzoate ( $\delta_C$  166.3) หมู่เมทิลทั้งสอง ( $\delta_H$  1.59 และ 1.46) ต่ออยู่กับไดออกซิเจนเตตระไฮดรันคาร์บอน C-8 ( $\delta_C$  111.4) จากความสัมพันธ์ที่กล่าวมาข้างต้นรวมทั้งค่าเคมีคัลชิฟของ C-8 ซึ่งเป็นลักษณะชนิดของ acetonide ซึ่ง acetonide ที่ได้กล่าวมา อาจเกิดจากกระบวนการสกัด โดยมีการใช้อะซิโตน relative configuration ของ C-2 และ C-3 แสดงความเป็น *trans* 1,2-diaxial like จากค่าคงที่การคู่ควบ 9.2 Hz ข้อมูล 1D NOE difference แสดงการเพิ่มขึ้นของสัญญาณของ H-3, CH<sub>2</sub>-7 และ CH<sub>3</sub>-10 ( $\delta_H$  1.46) เมื่อ irradiate H-6 ในขณะที่เมื่อ irradiate H-2 ทำให้เกิดการเพิ่มของสัญญาณที่ CH<sub>3</sub>-9 ( $\delta_H$  1.59) จาก ECD สเปกตรัม แสดง negative cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{230} -11.8$ ) ซึ่งแสดงถึงทิศทางของหมู่ benzoate ที่มีทิศทางอยู่ในตำแหน่งทวนเข็มนาฬิกา ดังนั้นสาร **L5** จึงมีชื่อเป็น cherrevenol E โดยที่มี absolute configuration คือ 1*R*,2*S*,3*R*,6*S*



ความสัมพันธ์ NOE ( $\longleftrightarrow$ ) รวมทั้ง exciton chirality model และ ECD สเปกตรัมของ **L5** (structure was generated in SPARTAN (MMFF) with the lowest energy conformer shown)

ตาราง 5.  $^1\text{H}$  (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) NMR ของ **L5** และ **L12** ใน  $\text{CDCl}_3$

| position             | <b>L5<sup>a</sup></b>            |                            |               | <b>L12</b>                                     |                            |               |
|----------------------|----------------------------------|----------------------------|---------------|------------------------------------------------|----------------------------|---------------|
|                      | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{C}}$ , type |               | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)                | $\delta_{\text{C}}$ , type |               |
| 1                    |                                  | 82.4                       | C             | 4.40, dd (11.5, 3.2)<br>4.25, dd (11.5, 6.9)   | 69.2                       | $\text{CH}_2$ |
| 2                    | 4.27, d (9.2)                    | 74.1                       | CH            | 4.02, m                                        | 69.7                       | CH            |
| 3                    | 5.82, d (9.2)                    | 73.4                       | CH            | 1.70, q (7.3)                                  | 32.7                       | $\text{CH}_2$ |
| 4                    | 5.98, d (10.4)                   | 131.2                      | CH            | 2.33, dt, (13.6, 6.5)<br>2.26, dt, (13.6, 6.5) | 28.4                       | $\text{CH}_2$ |
| 5                    | 6.04, dd (10.4, 4.1)             | 125.3                      | CH            | 5.90, dt (13.6, 6.6)                           | 135.2                      | CH            |
| 6                    | 4.76, d (4.1)                    | 74.6                       | CH            | 5.77, dt (15.4, 6.1)                           | 125.1                      | CH            |
| 7                    | 4.80, d (11.9)<br>4.64, d (11.9) | 62.4                       | $\text{CH}_2$ | 4.78, d (6.1)                                  | 65.6                       | $\text{CH}_2$ |
| 8                    |                                  | 111.4                      | C             |                                                |                            |               |
| 9                    | 1.59, s                          | 28.7                       | $\text{CH}_3$ |                                                |                            |               |
| 10                   | 1.46, s                          | 26.7                       | $\text{CH}_3$ |                                                |                            |               |
| 1' <sup>b</sup>      |                                  | 129.7                      | C             |                                                | 130.0                      | C             |
| 2',6' <sup>b</sup>   | 8.05, d (8.2)                    | 129.9                      | CH            | 8.05, d (7.8)                                  | 129.8                      | CH            |
| 3',5' <sup>b</sup>   | 7.45, t (8.2)                    | 128.6                      | CH            | 7.45, d (7.8)                                  | 128.6                      | CH            |
| 4' <sup>b</sup>      | 7.59, t (8.2)                    | 133.4                      | CH            | 7.58, t (7.8)                                  | 133.4                      | CH            |
| 1'' <sup>c</sup>     |                                  | 129.8                      | C             |                                                | 129.9                      | C             |
| 2'',6'' <sup>c</sup> | 8.08, d (8.2)                    | 130.0                      | CH            | 8.05, d (7.8)                                  | 129.7                      | CH            |
| 3'',5'' <sup>c</sup> | 7.48, t (8.2)                    | 128.7                      | CH            | 7.43, d (7.8)                                  | 128.5                      | CH            |
| 4'' <sup>c</sup>     | 7.59, t (8.2)                    | 133.5                      | CH            | 7.55, t (7.8)                                  | 133.1                      | CH            |
| 1-CO                 |                                  |                            |               |                                                | 166.9                      |               |
| 3-CO                 |                                  | 166.8                      | C             |                                                |                            | C             |
| 7-CO                 |                                  | 166.3                      | C             |                                                | 166.6                      | C             |

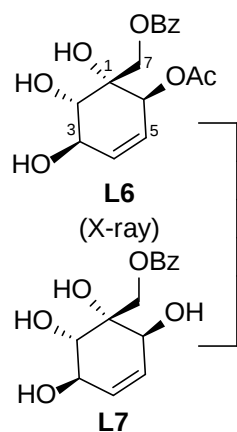
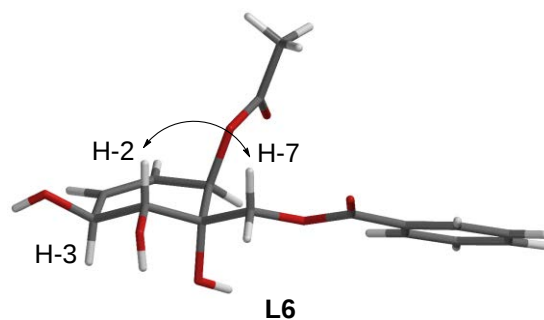
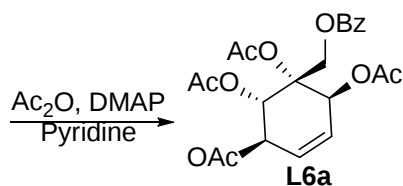
<sup>a</sup>  $^{13}\text{C}$  NMR determined at 125 MHz

<sup>b</sup> Aromatic carbons at C-7 OBz

<sup>c</sup> Aromatic carbons at C-3 OBz of **L5** and C-1 OBz of **L12**

## สาร L6

สาร **L6** มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{26} -65$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีจุดหลอมเหลวที่ 156-158 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_7$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 345.09433 (ค่าจากการคำนวณ 345.09447)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ข้อมูล UV IR และ NMR ของสาร **L6** ดังแสดงในตาราง 6-7 ซึ่งคล้ายกับ ellipseiopsol D ซึ่งพบในรากของต้นนมแมวป่า ยกเว้นที่ตำแหน่ง C-3 หมู่อะซิโทกซิดใน ellipseiopsol D ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิดใน **L6** ซึ่งปรากฏสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR ที่ ( $\delta_{\text{H}}$  4.32/ $\delta_{\text{C}}$  70.8) นอกจากนี้โอลิฟินิกโปรตอน H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5.90/ $\delta_{\text{C}}$  135.8) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  74.4) และ C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  71.4) หมู่อะซิโทกซิดเชื่อมอยู่กับโครงสร้างหลักที่ C-6 จากข้อมูล HMBC ระหว่าง H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.41) กับคาร์บอนิลของหมู่อะซิโทกซิด ( $\delta_{\text{C}}$  170.0) สำหรับ relative configuration ที่ตำแหน่ง C-2 และ C-7 ได้จากข้อมูลความสัมพันธ์ NOESY และ configuration ของ **L6** คล้ายกับ ellipseiopsol D เมื่อเปรียบเทียบค่าคงที่การดูดซับ รวมทั้ง ECD สเปกตรัม ซึ่งแสดง negative cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{222} -0.42$ ) สาร **L6** มีลักษณะเป็นผลึกผสม และมี relative configuration เป็น 1S,2S,3R,6S นำสาร **L6** ไปทำปฏิกิริยา acetylation และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปแยกด้วย chiral HPLC พบว่าเป็น scalemic mixture (ee 23%) โดยให้ชื่อว่า cherrevenol F

การทำ acetylation ของ **L6**Single crystal X-ray structures ของ **L6** และความสัมพันธ์ NOE ( $\leftrightarrow$ )

ตาราง 6. ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) ของ **L6-L11** ใน  $\text{CDCl}_3$

|                      | <b>6<sup>a,b</sup></b>           | <b>6a</b>                        | <b>7<sup>a,b</sup></b>           | <b>8<sup>a</sup></b>             | <b>9<sup>c</sup></b>             | <b>10</b>                        | <b>11<sup>c</sup></b>            |
|----------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| position             | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  |
| 2                    | 3.79, d (7.5)                    | 5.79, d (7.4)                    | 3.77, d (7.6)                    | 4.21, dd<br>(8.6, 3.5)           | 4.16, d (8.3)                    | 4.19, d (7.3)                    | 3.89, d (7.9)                    |
| 3                    | 4.32, d (7.5)                    | 5.67, d (7.4)                    | 4.27, d (7.6)                    | 5.81, dd<br>(8.6, 2.4)           | 5.87, m                          | 5.54, d (7.3)                    | 4.32, dd (7.9,<br>1.5)           |
| 4                    | 5.90, dd<br>(10.0, 2.1)          | 5.89, dd<br>(10.0, 2.3)          | 5.71, br s                       | 5.94, dt<br>(10.4, 2.4)          | 5.90, dd<br>(10.8, 1.9)          | 5.73, dd<br>(10.0, 2.5)          | 5.80, dd<br>(10.0, 1.5)          |
| 5                    | 5.65, ddd<br>(10.0, 4.4, 2.1)    | 5.93, ddd<br>(10.0, 4.3, 1.6)    | 5.71, br s                       | 5.73, dt<br>(10.4, 2.5)          | 5.93, dd<br>(10.8, 2.5)          | 5.95, ddd<br>(10.0, 4.5, 2.5)    | 5.84, ddd<br>(10.0, 4.2, 1.6)    |
| 6                    | 5.41, d (4.4)                    | 6.13, d (4.3)                    | 4.26, br s                       | 5.58, q (2.5)                    | 4.94, q (2.5)                    | 4.59, d (4.5)                    | 4.66, dd (4.2,<br>1.6)           |
| 7                    | 4.75, d (11.6)<br>4.46, d (11.6) | 5.05, d (12.1)<br>4.75, d (12.1) | 4.72, d (11.2)<br>4.58, d (11.2) | 4.71, d (11.9)<br>4.65, d (11.9) | 4.69, d (11.4)<br>4.62, d (11.4) | 4.96, d (12.4)<br>4.68, d (12.4) | 4.72, d (11.8)<br>4.63, d (11.8) |
| 2',6' <sup>d</sup>   | 8.04, dd<br>(7.6, 1.4)           | 8.03, dd<br>(8.4, 1.3)           | 8.09, dd<br>(7.7, 1.4)           | 8.07, dd<br>(7.4, 1.5)           | 8.06, d (7.8)                    | 8.06, dd<br>(7.7, 1.3)           | 8.10, dd<br>(7.8, 1.3)           |
| 3',5' <sup>d</sup>   | 7.51, t (7.6)                    | 7.46, t (7.8)                    | 7.50, t (7.7)                    | 7.46, t (7.4)                    | 7.48, t (7.5)                    | 7.47, tt<br>(7.7, 1.3)           | 7.50, t (7.8)                    |
| 4' <sup>d</sup>      | 7.63, tt (7.6, 1.4)              | 7.58, t (7.8)                    | 7.62, tt<br>(7.7, 1.4)           | 7.59, t (7.4)                    | 7.61, t (7.5)                    | 7.60, t (7.7)                    | 7.62, tt (7.8,<br>1.3)           |
| 2'',6'' <sup>e</sup> |                                  |                                  |                                  | 8.04, dd<br>(7.4, 1.6)           | 8.06, d (7.8)                    |                                  |                                  |
| 3'',5'' <sup>e</sup> |                                  |                                  |                                  | 7.47, t (7.4)                    | 7.51, t (7.8)                    |                                  |                                  |
| 4'' <sup>e</sup>     |                                  |                                  |                                  | 7.59, t (7.4)                    | 7.63, t (7.8)                    |                                  |                                  |
| 1-OH                 |                                  |                                  |                                  | 4.19, br s                       |                                  |                                  |                                  |
| 1-COMe               |                                  | 2.10, s                          |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| 2-OH                 |                                  |                                  |                                  | 3.01, br s                       |                                  |                                  |                                  |

ตาราง 6. ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) ของ **L6-L11** ใน  $\text{CDCl}_3$  (ต่อ)

| position | <b>6</b> <sup>a,b</sup>         | <b>6a</b>                       | <b>7</b> <sup>a,b</sup>         | <b>8</b> <sup>a</sup>           | <b>9</b> <sup>c</sup>           | <b>10</b>                       | <b>11</b> <sup>c</sup>          |
|----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|          | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) |
| 2-COMe   |                                 | 2.01, s                         |                                 |                                 |                                 |                                 |                                 |
| 3-COMe   |                                 | 2.06, s                         |                                 |                                 |                                 | 2.13, s                         |                                 |
| 6-COMe   | 1.94, s                         | 1.99, s                         |                                 | 2.03, s                         |                                 |                                 |                                 |

<sup>a</sup> Recorded on 400 MHz

<sup>b</sup> Measured in acetone- $d_6$

<sup>c</sup> Measured in methanol- $d_4$

<sup>d</sup> Aromatic protons at C-7 OBz

<sup>e</sup> Aromatic protons at C-3 OBz

ตาราง 7. ข้อมูล  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) ของ **L6-L11** ใน  $\text{CDCl}_3$

| position             | <b>6</b> <sup>a,b</sup> | <b>6a</b> | <b>7</b> <sup>a,b</sup> | <b>8</b> <sup>a</sup> | <b>9</b> <sup>c</sup> | <b>10</b> | <b>11</b> <sup>c</sup> |
|----------------------|-------------------------|-----------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|------------------------|
| 1                    | 75.1                    | 81.5      | 76.2                    | 76.0                  | 77.3                  | 76.4      | 76.9                   |
| 2                    | 74.4                    | 71.1      | 73.9                    | 75.7                  | 76.4                  | 70.8      | 73.4                   |
| 3                    | 70.8                    | 70.3      | 69.8                    | 73.1                  | 75.5                  | 74.1      | 71.6                   |
| 4                    | 135.8                   | 130.0     | 132.5                   | 127.8                 | 132.0                 | 127.2     | 133.5                  |
| 5                    | 123.2                   | 125.6     | 127.8                   | 128.5                 | 127.7                 | 128.1     | 126.6                  |
| 6                    | 71.4                    | 68.0      | 71.2                    | 76.4                  | 64.5                  | 56.3      | 58.4                   |
| 7                    | 67.9                    | 63.2      | 68.4                    | 63.0                  | 64.2                  | 68.0      | 69.4                   |
| 1' <sup>c</sup>      | 131.3                   | 129.6     | 131.6                   | 129.8                 | 131.4                 | 129.6     | 131.4                  |
| 2',6' <sup>c</sup>   | 130.4                   | 129.8     | 130.4                   | 129.9                 | 130.7                 | 130.0     | 130.7                  |
| 3',5' <sup>c</sup>   | 129.3                   | 128.7     | 129.2                   | 128.6                 | 129.6                 | 128.7     | 129.6                  |
| 4' <sup>c</sup>      | 133.9                   | 133.5     | 133.6                   | 133.5                 | 134.4                 | 133.7     | 134.3                  |
| 1'' <sup>d</sup>     |                         |           |                         | 129.7                 | 131.1                 |           |                        |
| 2'',6'' <sup>d</sup> |                         |           |                         | 130.0                 | 130.8                 |           |                        |
| 3'',5'' <sup>d</sup> |                         |           |                         | 128.7                 | 129.6                 |           |                        |
| 4'' <sup>d</sup>     |                         |           |                         | 133.6                 | 134.4                 |           |                        |
| 1-COMe               |                         | 169.4     |                         |                       |                       |           |                        |
| 1-COMe               |                         | 21.8      |                         |                       |                       |           |                        |
| 2-COMe               |                         | 170.1     |                         |                       |                       |           |                        |
| 2-COMe               |                         | 20.9      |                         |                       |                       |           |                        |
| 3-CO                 |                         |           |                         | 166.8                 | 167.8                 |           |                        |
| 3-COMe               |                         | 170.5     |                         |                       |                       | 172.1     |                        |
| 3-COMe               |                         | 21.1      |                         |                       |                       | 21.2      |                        |
| 6-COMe               | 170.0                   | 169.6     |                         | 172.0                 |                       |           |                        |
| 6-COMe               | 20.9                    | 20.9      |                         | 21.1                  |                       |           |                        |
| 7-CO                 | 166.8                   | 165.6     | 167.0                   | 166.6                 | 167.5                 | 167.6     | 168.1                  |

<sup>a</sup> Recorded on 100 MHz

<sup>b</sup> Measured in acetone- $d_6$

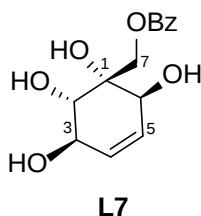
<sup>c</sup> Measured in methanol- $d_4$

<sup>c</sup> Aromatic carbons at C-7 OBz

<sup>d</sup> Aromatic carbons at C-3 OBz

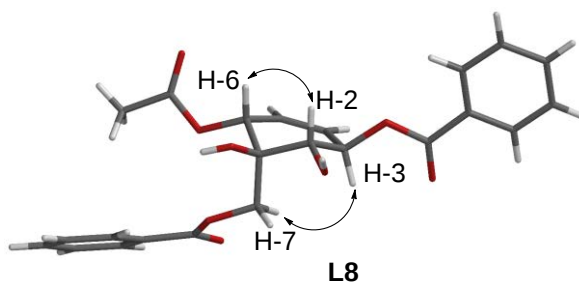
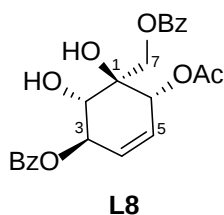
## สาร L7

สาร **L7** มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -39$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ ), ( $[\Delta\epsilon]_{227} -1.11$ ) จากแมสสเปกตรัม พบสัญญาณ  $m/z$  ที่ 303.08391 (ค่าจากการคำนวณ 303.08391) สอดคล้องกับสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6$  ข้อมูล NMR ของสาร **L7** ดังแสดงในตาราง 6-7 รวมทั้งความสัมพันธ์ NOESY ระหว่าง H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  3.77) และ  $\text{CH}_2$ -7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.58) คล้ายกับสาร **L6** ยกเว้นหมู่อะซิติกที่ตำแหน่ง C-6 ใน **L6** ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ปรากฏที่ ( $\delta_{\text{H}}$  4.26/ $\delta_{\text{C}}$  71.2) ใน **L7** เมื่อนำ **L7** ไปทำปฏิกิริยา acetylation ได้ผลิตภัณฑ์ตัวเดียวกับสาร **L6** ซึ่งเป็น scalemic mixture (ee 24%) จากการแยกด้วย chiral HPLC และเมื่อเปรียบเทียบ specific rotation ของไอโซเมอร์หลัก พบว่ามีทิศทางไปทางเดียวกันของทั้ง **L6** และ **L7** ดังนั้น **L7** มี configuration เป็น 1*S*,2*S*,3*R*,6*S* และมีชื่อว่า cherrevenol G



## สาร L8

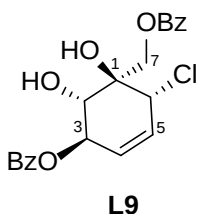
สาร **L8** มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{22} -114$  (c 0.1, MeOH)) มีจุดหลอมเหลวที่ 112-114 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_8$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 449.12056 (ค่าจากการคำนวณ 449.12069)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ข้อมูล UV IR และ NMR ของสาร **L8** ดังแสดงในตาราง 6-7 ซึ่งคล้ายกับ **L6** ยกเว้นพบการเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งหมู่ของ benzoate ที่ [ $\delta_{\text{H}}$  8.04 (2H, dd,  $J = 7.4, 1.6$  Hz), 7.59 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz) and 7.47 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz)] หมู่ที่เพิ่มขึ้นเชื่อมอยู่กับ C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  73.1) โดยความสัมพันธ์ HMBC ระหว่าง H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.81) กับคาร์บอนิลของหมู่ benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.8) สำหรับ relative configuration ของค่าคงที่การคู่ควบ  $J_{2,3}$  เท่ากับ 8.6 Hz ซึ่งสอดคล้องกับ *trans* 1,2-diaxial like และนอกจากนี้ความสัมพันธ์ NOESY ระหว่าง H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.21) กับ H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.58) และ H-3 กับ  $\text{CH}_2$ -7 จาก ECD สเปกตรัมแสดง negative cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{230} -7.11$ ) ทำให้ทราบว่าหมู่ benzoate ทั้งสอง จัดเรียงอยู่ในระนาบทวนเข็มนาฬิกา จาก exciton coupling ของโครโมฟอร์ทั้งสอง absolute configuration ของสาร **L8** ได้จาก X-ray crystal analysis ได้เป็น 1*R*,2*S*,3*R*,6*R* ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบ ECD สเปกตรัมของ **L8** พบว่าเป็น diastereoisomer ของ (-)-6-acetylzeilenol และมีชื่อว่า cherrevenol H



Single crystal X-ray structures ของ **L8** และความสัมพันธ์ NOE ( $\leftrightarrow$ )

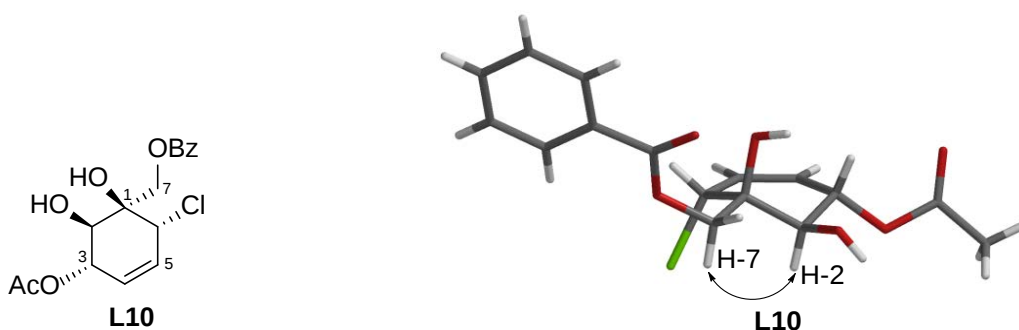
### สาร **L9**

สาร **L9** มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{24} -133$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) มีจุดหลอมเหลวที่ 124-126 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{ClO}_6$  จากการพบ  $m/z$  ที่ 425.07627 (ค่าจากการคำนวณ 425.07624) จากข้อมูล UV IR และ NMR ของ **L9** คล้ายกับ **L8** (ตาราง 6-7) ยกเว้นสัญญาณของหมู่อะซิโทกซีหายไป ซึ่งถูกแทนที่ด้วยคลอรีนอะตอม ที่ตำแหน่ง C-6 ซึ่งส่งผลทำให้เคมีคัลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ปรากฏที่สนามสูงขึ้น C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  64.5) และยังสอดคล้องกับ low resolution แมสสเปกโตรเมตรี แสดงลักษณะเฉพาะของสารประกอบคลอรีน เป็น ( $m/z$  425  $[\text{M}]^+$  และ 427  $[\text{M}+2]^+$  (อัตราส่วน 3:1)) สำหรับอะตอมของคลอรีนอยู่บน C-6 ซึ่งได้มาจากข้อมูลความสัมพันธ์ HMBC ของ H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.16/ $\delta_{\text{C}}$  76.4) และ  $\text{CH}_2$ -7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.69 และ 4.62/ $\delta_{\text{C}}$  64.2) ต่อ C-6 ส่วนของ relative configuration ที่ C-2 และ C-3 ได้จากค่าคงที่การคู่ควบ 8.3 Hz ซึ่งสอดคล้องกับ *trans* 1,2-diaxial like จากข้อมูล 1D NOE difference พบว่าเมื่อ irradiation H-2 และ H-3 ทำให้สัญญาณของ H-6 และ  $\text{CH}_2$ -7 เพิ่มขึ้นตามลำดับ จากที่กล่าวมาทำให้ทราบว่า **L9** มี relative configuration เหมือนสาร **L8** ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ ECD สเปกโตรเมตรีแล้วพบว่า มีลักษณะเป็น negative cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{227} -24.4$ ) เหมือน **L8** ดังนั้น **L9** คือ cherrevenol I และมี configuration เป็น 1*R*,2*S*,3*R*,6*R*



## สาร L10

สาร **L10** มีลักษณะเป็นผลึกใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{19}$  -84 (c 0.2, MeOH)) มีจุดหลอมเหลวที่ 118-120 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{16}H_{17}ClO_6$  จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 363.0609 (ค่าจากการคำนวณ 363.0611)  $[M+Na]^+$  ข้อมูล NMR ของสาร **L10** ดังแสดงในตาราง 6-7 คล้ายกับ **L9** ยกเว้นหมู่ benzoate ใน **L9** ถูกแทนที่ด้วยหมู่อะซิโทกซี่ ที่ตำแหน่ง C-3 โอลิฟินิกโปรตอน H-5 ( $\delta_H$  5.95/ $\delta_C$  128.1) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-1 ( $\delta_C$  76.4) และ C-3 ( $\delta_C$  74.1) หมู่อะซิโทกซี่อยู่บนตำแหน่ง C-3 จากข้อมูล HMBC ที่พบระหว่าง H-3 ( $\delta_H$  5.54) กับคาร์บอนิลของอะซิโทกซี่ ( $\delta_C$  172.1) สำหรับ relative configuration ของ C-2 และ C-3 ได้จากค่าคงที่การคู่ควบ 7.3 Hz ซึ่งเป็นลักษณะของ *trans* 1,2-diaxial like นอกจากนี้ข้อมูล 1D NOE difference พบว่าเมื่อ irradiation ออกซิเมทโทนโปรตอน H-2 ( $\delta_H$  4.19) ทำให้สัญญาณของ  $CH_2$ -7 ( $\delta_H$  4.68) มีการเพิ่มขึ้น ทำให้ทราบว่า โปรตอนดังกล่าวอยู่ด้านเดียวกันของวงไซโคลเฮกซีน absolute configuration ของ **L10** ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูล X-ray ได้เป็น 1*R*,2*R*,3*S*,6*R* ซึ่งเป็น diastereomer ของ cleistenechlorohydrins A และ B ซึ่งพบในต้น *Cleistochlamys krikii* โดยให้ชื่อว่า cherrevenol J

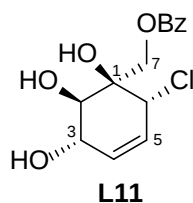


Single crystal X-ray structures ของ **L10** และความสัมพันธ์ NOE ( $\leftrightarrow$ )

## สาร L11

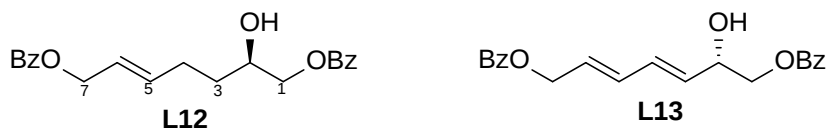
สาร **L11** ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{22}$  -112 (c 0.1,  $CHCl_3$ )) มีจุดหลอมเหลวที่ 120-122 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{14}H_{15}ClO_5$  ซึ่งได้จากแมสสเปกตรัมที่พบ  $m/z$  ที่ 321.0516 (ค่าจากการคำนวณ 321.0506) ข้อมูล UV IR และ NMR ของสาร **L11** ดังแสดงในตาราง 6-7 คล้ายกับสาร **L10** แต่แตกต่างกันที่หมู่อะซิโทกซี่ใน **L10** ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซี่ใน **L11** โดยพบว่าโอลิฟินิกโปรตอน H-5 ( $\delta_H$  5.84) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-1 ( $\delta_C$  76.9) และ C-3 ( $\delta_C$  71.6) ซึ่งทั้งสองคาร์บอนเชื่อมอยู่กับหมู่ไฮดรอกซอล เนื่องจากค่าเคมีคัลชิฟของ  $^{13}C$  NMR ปรากฏที่สนามต่ำ NOESY

สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง H-2 และ CH<sub>2</sub>-7 นอกจากนี้ค่าคงที่การคู่ควบระหว่าง H-2 และ H-3 ด้วยค่าคงที่ 7.9 Hz ซึ่งเป็นลักษณะของ *trans* 1,2-diaxial like เช่นเดียวกับ **L10** เมื่อเปรียบเทียบค่า specific rotation ของ **L11** ( $[\alpha]_D^{22} -112$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) กับ **L10** ( $[\alpha]_D^{19} -84$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>)) รวมทั้ง ECD สเปกตรัมมีความคล้ายคลึงกัน ทำให้ทราบว่า **L11** มี configuration เหมือนกับ **L10** เป็น 1*R*,2*R*,3*S*,6*R* และมีชื่อว่า cherrevenol K



## สาร L12

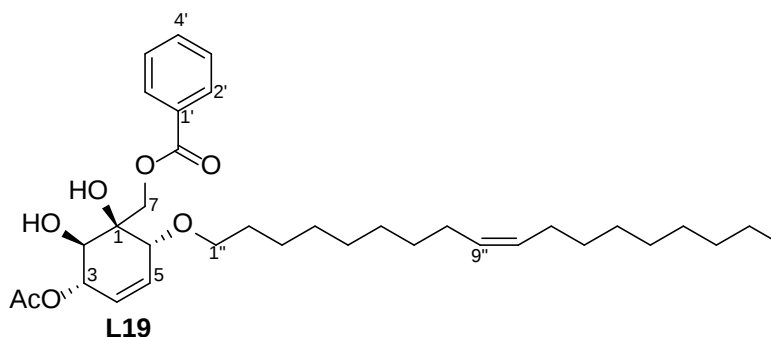
สาร **L12** มีลักษณะเป็นของหนืดสีเหลือง มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -3$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) จากแมสสเปกตรัม พบสัญญาณ *m/z* ที่ 377.1361 (ค่าจากการคำนวณ 377.1365) สอดคล้องกับสูตรโมเลกุลเป็น C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> ข้อมูล UV IR และ NMR ของสาร **L12** ดังแสดงในตาราง 5 คล้ายกับ uvamalol F (**L13**) ยกเว้นพบสัญญาณของตำแหน่ง C-3 ( $\delta_H$  1.70/ $\delta_C$  32.7, H-3/C-3) และ C-4 ( $\delta_H$  2.33, 2.26/ $\delta_C$  28.4, H-4/C-4) ทำให้ทราบว่าพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C-3 และ C-4 ใน **L13** หายไปกลายเป็นพันธะเดี่ยว สำหรับ absolute configuration ของ **L12** ได้จากการเปรียบเทียบ specific rotation ของ **L12** ( $[\alpha]_D^{25} -3$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)) กับสารสังเคราะห์ (+)-(2*S*,3*E*,5*E*)-nona-3,5-diene-1,2-diol ( $[\alpha]_D^{25} +10$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>)) ดังนั้นสาร **L12** เป็น *R* configuration และมีชื่อว่า cherrevenol L แต่เนื่องจากมีปริมาณไม่มาก จึงไม่พอเพียงสำหรับการวิเคราะห์ absolute configuration ด้วย Mosher ester method

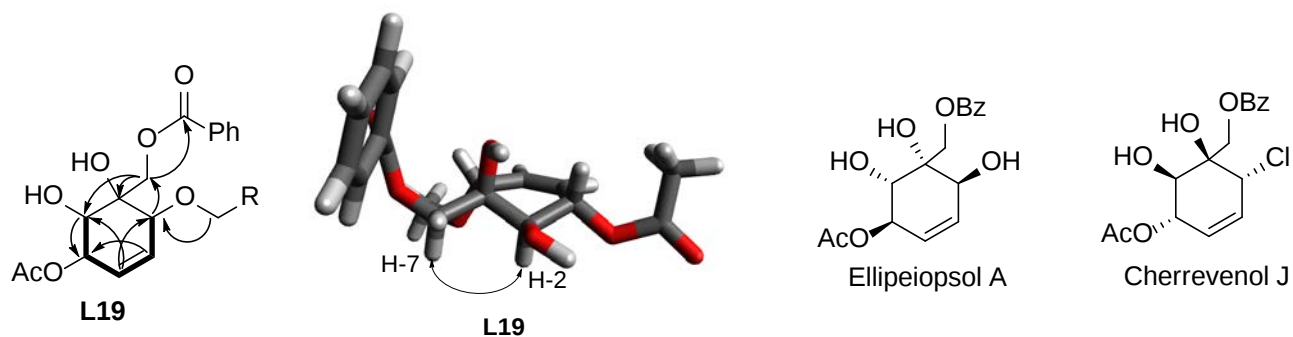


## สาร L19

สาร **L19** ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{24} -90$  (c 0.1, MeOH)) มีจุดหลอมเหลวที่ 70-71 °C และมีสูตรโมเลกุลเป็น C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>O<sub>7</sub> ซึ่งได้จากแมสสเปกตรัมที่พบ *m/z* ที่ 595.3615 (ค่าจากการคำนวณ 595.3611) จากข้อมูล UV สเปกตรัมแสดงการดูดกลืนแสงที่ 207, 229 และ 278 nm ขณะที่ IR สเปกตรัมมีการแสดงแถบการดูดกลืนของหมู่ไฮดรอกซิล และคาร์บอนิล ที่ 3454 และ 1722 cm<sup>-1</sup>

ตามลำดับ ข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ของสาร **L19** คล้ายกับ ellipseiopsol A ซึ่งพบในต้นนมแมวป่า (ตาราง 8) ยกเว้น การเพิ่มขึ้นสัญญาณของหน่วย *O*-(*Z*)-octadeca-9-enyl โดยเมทิลีนโปรตอนที่ไม่สมมาตร  $\text{CH}_2\text{-1''}$  ( $\delta_{\text{H}}$  3.65 และ 3.47) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  75.9) ของโครงสร้างหลัก ทำให้ทราบว่าหมู่ 6-*O*-(*Z*)-octadeca-9-enyl ต่ออยู่บนตำแหน่ง C-6 ของโครงสร้างหลัก และตำแหน่งของพันธะคู่ของหมู่ที่เพิ่มขึ้นวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค OzID จากสเปกตรัมพบสัญญาณของมวลโมเลกุลที่ 595.3605  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ที่ถูกจับไว้ที่ ion trap และถูกทำปฏิกิริยากับโอโซนเป็นเวลา 4 วินาที ทำให้เกิด ozonide intermediate ( $m/z$  643.3470,  $[\text{M}+\text{Na}+\text{O}_3]^+$ ) และ oxidative cleavage product ซึ่งประกอบด้วย aldehyde ( $m/z$  485.2146) และ Criegee ion ( $m/z$  501.2091) ดังรูป 1 และ 2 จึงทำให้ทราบว่าพันธะคู่อยู่ที่ตำแหน่ง C-9'' นอกจากนี้ค่าเคมีคัลชิฟของ  $^{13}\text{C}$  NMR ที่ตำแหน่ง C-8''/C-11'' ( $\delta_{\text{C}}$  27.37 และ 27.35) C-9'' ( $\delta_{\text{C}}$  130.0) และ C-10'' ( $\delta_{\text{C}}$  130.1) สอดคล้องกับลักษณะของ (*Z*)-configuration สำหรับ relative configuration ของ **L19** ซึ่งเปรียบเทียบจากค่าคงที่การคู่ควบ 6.3 Hz ซึ่งทำให้ทราบว่าที่ H-2 และ H-3 มีลักษณะเป็น *trans* 1,2-diaxial like สำหรับ NOESY สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง เมทิลีนโปรตอนที่ไม่สมมาตร  $\text{CH}_2\text{-7}$  ( $\delta_{\text{H}}$  4.79 และ 4.60) กับ H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.04) ในขณะเดียวกันไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.94) กับ  $\text{CH}_2\text{-7}$  หรือความสัมพันธ์ระหว่าง H-6 กับ H-2 ทำให้ทราบว่า  $\text{CH}_2\text{-7}$  อยู่ด้านเดียวกันกับ H-2 ของวงไซโคลเฮกซีนและอยู่ตรงข้ามกับ H-6 นำโครงสร้างของสาร **L19** ไปทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 ด้วยพารามิเตอร์ [B3LYP/6-31G(d)] พบว่าระยะห่างระหว่าง H-2 และ  $\text{CH}_2\text{-7}$  เป็น 2.58 Å สอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จาก NOESY สเปกตรัม จากค่า specific rotation ของ **L19** มีทิศทางที่คล้ายกับ cherrevenol J (**L10**) ( $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  -90 (c 0.1, MeOH) และ  $[\alpha]_{\text{D}}^{19}$  -84 (c 0.2, MeOH)) รวมทั้งสเปกตรัม ECD ที่แสดง negative cotton effect ที่ 207 และ 203 nm ตามลำดับ ดังนั้นสาร **L19** มี configuration เป็น 1*R*,2*R*,3*S*,6*R* และชื่อว่า cherrevenol M



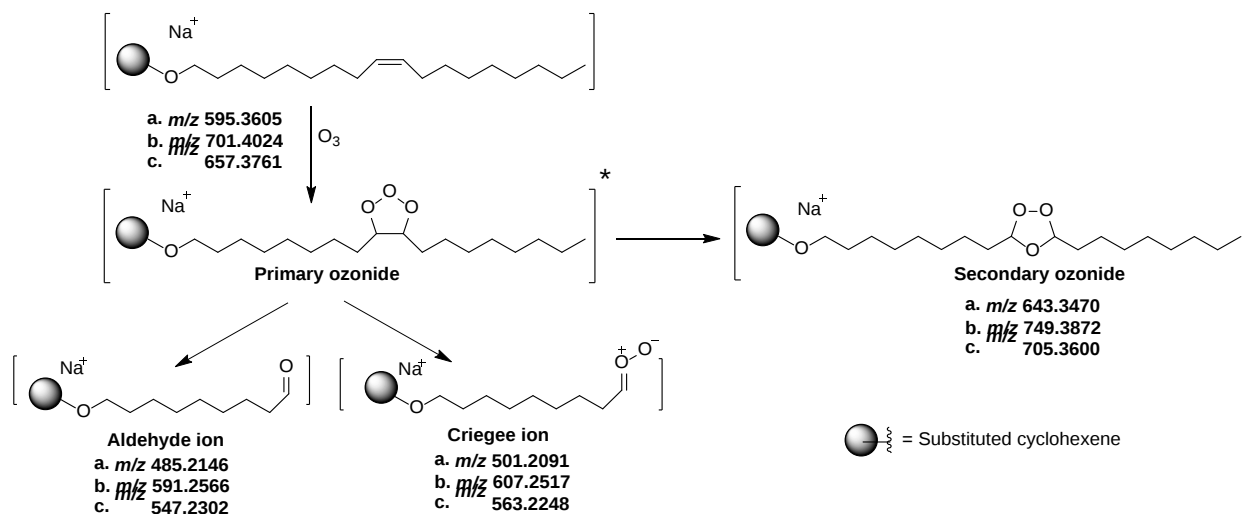


ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ ), COSY (bold line) และ ความสัมพันธ์ NOE ด้วยวิธี DFT minimized molecular models [B3LYP/6-31G(d)] ของ **L19** (คำนวณโดยให้สายโซ่ (R) เป็น เมทิลอีเทอร์).

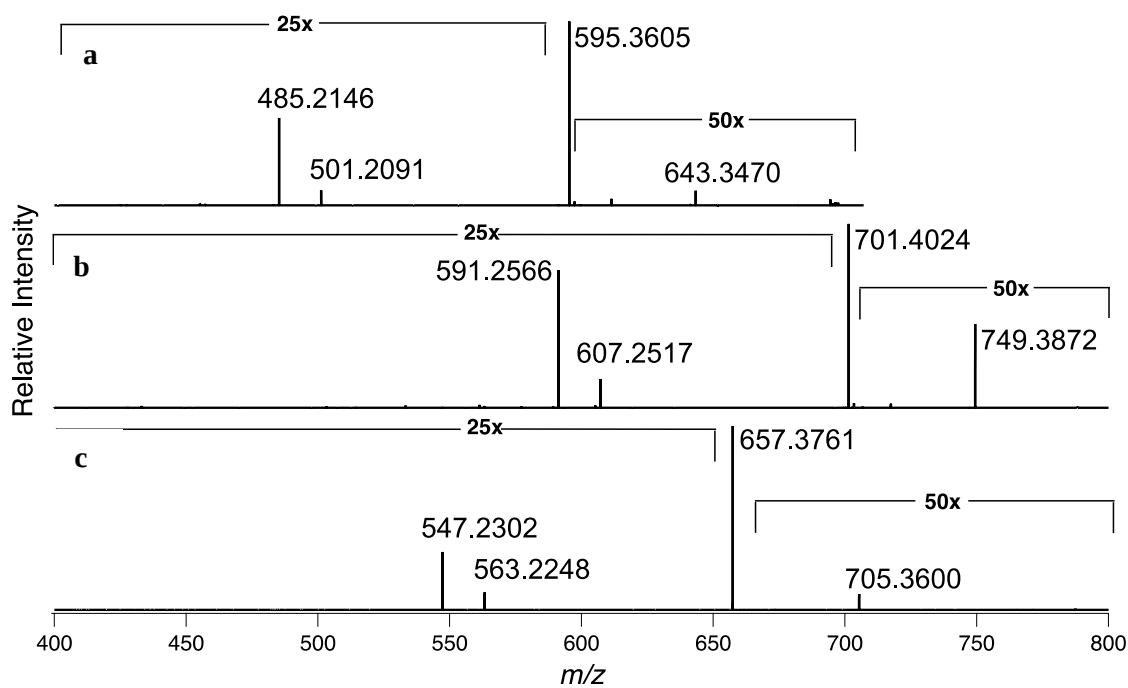
ตาราง 8. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR ของ **L19** ใน  $\text{CDCl}_3$

| <b>L19</b> |                                 |                            |                       |                                 |                                                                 |
|------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Position   | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | Position              | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type                                      |
| 1          |                                 | 75.9 C                     | 1''                   | 3.65, dt (9.0, 6.4)             | 70.8 $\text{CH}_2$                                              |
| 2          | 4.04, d (6.3)                   | 71.5 CH                    |                       | 3.47, dt (9.0, 6.4)             |                                                                 |
| 3          | 5.43, m                         | 74.0 CH                    | 2''                   | 1.53, m                         | 30.2 $\text{CH}_2$                                              |
| 4          | 5.74, dd (10.2, 2.7)            | 126.9 CH                   | 3''                   | 1.26, m                         | 26.3 $\text{CH}_2$                                              |
| 5          | 6.03, ddd (10.2, 3.9, 1.8)      | 128.2 CH                   | 4''-7'' และ 12''-15'' | 1.26, m                         | 29.92, 29.9, 29.85, 29.7, 29.6, 29.5, 29.47, 29.4 $\text{CH}_2$ |
| 6          | 3.94, d (3.9)                   | 75.9 CH                    | 8''                   | 2.00, m                         | 27.37 <sup>a</sup> $\text{CH}_2$                                |
| 7          | 4.79, d (12.0)                  | 67.1 $\text{CH}_2$         | 9''                   | 5.34, m                         | 130.0 CH                                                        |
|            | 4.60, d (12.0)                  |                            | 10''                  | 5.34, m                         | 130.1 CH                                                        |
| 1'         |                                 | 129.9 C                    | 11''                  | 2.00, m                         | 27.35 <sup>a</sup> $\text{CH}_2$                                |
| 2',6'      | 8.05, dd (7.6, 1.5)             | 129.8 CH                   | 16''                  | 1.26, m                         | 32.1 $\text{CH}_2$                                              |
| 3',5'      | 7.46, t (7.6)                   | 128.7 CH                   | 17''                  | 1.26, m                         | 22.8 $\text{CH}_2$                                              |
| 4'         | 7.59, tt (7.6, 1.5)             | 133.4 CH                   | 18''                  | 0.88, t (6.9)                   | 14.3 $\text{CH}_3$                                              |
| 3-OC(O)Me  |                                 | 171.9 C                    | 7-OC(O)               |                                 | 167.3 C                                                         |
| 3-OC(O)Me  | 2.07, s                         | 21.3 $\text{CH}_3$         |                       |                                 |                                                                 |

<sup>a</sup> exchangeable carbons



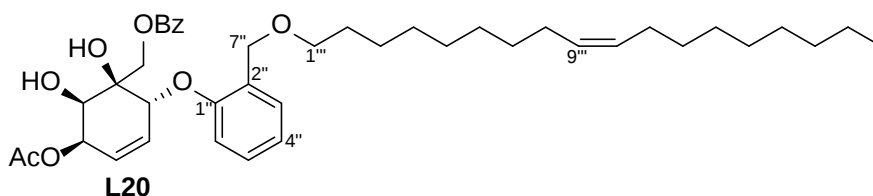
รูป 1. ความเป็นไปได้ของกลไกการแตกเป็นส่วนย่อยจาก OzID ของสาร **L19-L21 (a-c)** [Criegee ion (representative structure shown but isomers of the carbonyl oxide cannot be excluded)]

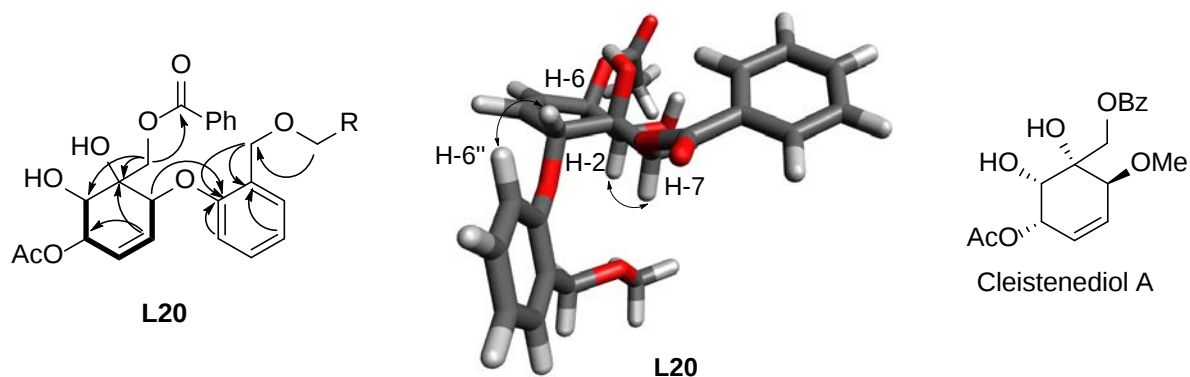


รูป 2. สเปกตรัมของ OzID จาก sodium adducts ของ **L19-L21 (a-c)**.

## สาร L20

สาร **L20** มีลักษณะเป็นของหนืดใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_D^{25} -57$  (c 0.1, MeOH)) จากแมสสเปกตรัมพบ  $m/z$  ที่ 701.4019 (ค่าจากการคำนวณ 701.4029) สอดคล้องกับสูตรโมเลกุล  $C_{41}H_{58}O_8$  จากข้อมูล UV สเปกตรัมมีการดูดกลืนแสงที่ 203 230 และ 275 nm สำหรับ IR สเปกตรัมมีแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ไฮดรอกซิล ( $3437\text{ cm}^{-1}$ ) และคาร์บอนิล ( $1723\text{ cm}^{-1}$ ) ข้อมูล NMR ของ **L20** คล้ายกับสาร **L19** (ตาราง 9) ยกเว้นพบสัญญาณของหน่วย 2-hydroxyphenylmethanol เพิ่ม [ $\delta_H$  7.32 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.8$  Hz), 7.26 (1H, td,  $J = 8.2, 1.8$  Hz), 6.99 (1H, td,  $J = 7.5, 1.8$  Hz), 6.96 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.81 และ 4.28 (อย่างละ 1H, d,  $J = 11.9$  Hz)] ออกซิเมไธโนโปรตอน H-6 ( $\delta_H$  4.97) แสดงความสัมพันธ์ HMBC กับ C-1'' ( $\delta_C$  157.3) ในขณะที่เดียวกัน  $CH_2$ -1''' ( $\delta_H$  3.49 และ 3.46) กับ C-7'' ( $\delta_C$  69.0) ทำให้ทราบว่าหมู่ 2-hydroxyphenylmethanol ที่เพิ่มขึ้นเชื่อมอยู่ระหว่าง C-6 ของวงไซโคลเฮกซีนและตำแหน่ง C-1''' ของหมู่ (Z)-octadeca-9-enyl สำหรับ  $^{13}C$  NMR ของ C-8''' C-9''' C-10''' และ C-11''' ปรากฏที่เคมีคัลชิฟ  $\delta_C$  27.4 130.0 130.1 และ 27.4 ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของ Z-olefinic configuration สำหรับ OzID สเปกตรัมพบสัญญาณของแอลดีไฮด์  $m/z$  ที่ 591.2566 และ Criegee ion ที่ 607.2517 ดังรูป 1 และ 2 ทำให้ทราบว่าพันธะคู่อยู่ที่ตำแหน่ง C-9''' สำหรับ relative configuration ได้จากข้อมูล NOESY ซึ่งพบความสัมพันธ์ระหว่าง H-2 ( $\delta_H$  4.29) กับ  $CH_2$ -7 ( $\delta_H$  4.87 และ 4.72) และระหว่าง H-6 ( $\delta_H$  4.97) กับ H-6'' ( $\delta_H$  6.96) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการคำนวณ คือ 2.52 Å และ 2.00 Å ตามลำดับ ในทางตรงข้าม H-6 ไม่แสดงความสัมพันธ์กับ  $CH_2$ -7 ทำให้ทราบว่าโปรตอนดังกล่าวอยู่ฝั่งตรงข้ามกัน สำหรับค่าคงที่การคู่ควบของ H-2 และ H-3 ด้วยค่า 3.5 Hz ซึ่งเป็นลักษณะของ 1,2 equatorial-axial like เมื่อเปรียบเทียบกับค่า specific rotation ของสาร **L20** ( $[\alpha]_D^{25} -57$  (c 0.1, MeOH)) พบว่าตรงข้ามกับ cleistenediol A ( $[\alpha]_D^{20} +190$  (c 0.3, MeOH)) ซึ่งพบใน *Cleistochlamys kirlii* ดังนั้น **L20** มี configuration ตรงข้ามกับ cleistenediol A เป็น 1*R*,2*R*,3*R*,6*R* และมีชื่อว่า cherrevenol N





ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ ), COSY (bold line) และ ความสัมพันธ์ NOE ด้วยวิธี DFT minimized molecular models [B3LYP/6-31G(d)] ของ **L20** (คำนวณโดยให้สายโซ่ (R) เป็น เมทิลอีเทอร์).

ตาราง 9. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **L20** และ **L21** ใน  $\text{CDCl}_3$

| Position | <b>L20<sup>a</sup></b>           |                            | <b>L21<sup>b</sup></b>          |                            |
|----------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|
|          | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz)  | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 1        |                                  | 75.4 C                     |                                 | 135.2 C                    |
| 2        | 4.29, d (3.5)                    | 71.2 CH                    | 4.52, d (4.8)                   | 67.7 CH                    |
| 3        | 5.46, m                          | 72.1 CH                    | 5.50, dd (4.8, 2.4)             | 76.1 CH                    |
| 4        | 5.84, dddd (10.2, 3.3, 1.5, 0.8) | 127.1 CH                   | 4.31, dd (6.5, 2.4)             | 69.2 CH                    |
| 5        | 6.14, ddd (10.2, 2.9, 1.5)       | 128.9 CH                   | 4.13, dd (6.5, 2.9)             | 76.8 CH                    |
| 6        | 4.97, m                          | 78.2 CH                    | 6.09, d (2.9)                   | 127.3 CH                   |
| 7        | 4.87, d (12.3)                   | 66.5 $\text{CH}_2$         | 5.09, d (13.1)                  | 65.2 $\text{CH}_2$         |
|          | 4.72, d (12.3)                   |                            | 4.88, d (13.1)                  |                            |
| 1        |                                  | 75.4 C                     |                                 | 135.2 C                    |
| 2        | 4.29, d (3.5)                    | 71.2 CH                    | 4.52, d (4.8)                   | 67.7 CH                    |
| 3        | 5.46, m                          | 72.1 CH                    | 5.50, dd (4.8, 2.4)             | 76.1 CH                    |
| 4        | 5.84, dddd (10.2, 3.3, 1.5, 0.8) | 127.1 CH                   | 4.31, dd (6.5, 2.4)             | 69.2 CH                    |
| 5        | 6.14, ddd (10.2, 2.9, 1.5)       | 128.9 CH                   | 4.13, dd (6.5, 2.9)             | 76.8 CH                    |
| 6        | 4.97, m                          | 78.2 CH                    | 6.09, d (2.9)                   | 127.3 CH                   |
| 7        | 4.87, d (12.3)                   | 66.5 $\text{CH}_2$         | 5.09, d (13.1)                  | 65.2 $\text{CH}_2$         |
|          | 4.72, d (12.3)                   |                            | 4.88, d (13.1)                  |                            |
| 1'       |                                  | 129.82 C                   |                                 | 129.88 C                   |
| 2',6'    | 7.93, dd (7.8, 1.4)              | 129.76 CH                  | 8.04, dd (7.8, 1.4)             | 129.94 CH                  |
| 3',5'    | 7.40, t (7.8)                    | 128.6 CH                   | 7.42, t (7.8)                   | 128.61 CH                  |

ตาราง 9. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **L20** และ **L21** ใน  $\text{CDCl}_3$  (ต่อ)

| Position      | <b>L20<sup>a</sup></b>          |                            |                 | <b>L21<sup>b</sup></b>          |                            |                 |
|---------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------|
|               | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 | $\delta_{\text{H}}$ , (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |                 |
| 4'            | 7.55, tt (7.8, 1.4)             | 133.4                      | CH              | 7.59, tt (7.8, 1.4)             | 133.5                      | CH              |
| 1''           |                                 | 157.3                      | C               |                                 | 129.88                     | C               |
| 2''           |                                 | 127.8                      | C               | 8.02, dd (7.6, 1.2)             | 129.82                     | CH              |
| 3''           | 7.32, dd (7.5, 1.8)             | 130.5                      | CH              | 7.45, t (7.6)                   | 128.58                     | CH              |
| 4''           | 6.99, td (7.5, 1.8)             | 122.0                      | CH              | 7.57, tt (7.6, 1.2)             | 133.4                      | CH              |
| 5''           | 7.26, td (8.2, 1.8)             | 129.6                      | CH              | 7.45, t (7.6)                   | 128.58                     | CH              |
| 6''           | 6.96, d (8.2)                   | 114.3                      | CH              | 8.02, dd (7.6, 1.2)             | 129.82                     | CH              |
| 7''           | 4.81, d (11.9)                  | 69.0                       | CH <sub>2</sub> |                                 |                            |                 |
|               | 4.28, d (11.9)                  |                            |                 |                                 |                            |                 |
| 1'''          | 3.49, dt (9.0, 7.0)             | 71.3                       | CH <sub>2</sub> | 3.69, dt (9.3, 6.8)             | 70.4                       | CH <sub>2</sub> |
|               | 3.46, dt (9.0, 7.0)             |                            |                 | 3.63, dt (9.3, 6.8)             |                            |                 |
| 2'''          | 1.56, dt, m                     | 29.6                       | CH <sub>2</sub> | 1.64, m                         | 30.3                       | CH <sub>2</sub> |
| 3'''          | 1.26, m                         | 26.2                       | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                         | 26.3                       | CH <sub>2</sub> |
| 4'''-7''' และ | 1.26, m                         | 29.92,                     | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                         | 29.9,                      | CH <sub>2</sub> |
| 12'''-15'''   |                                 | 29.9,                      |                 |                                 | 29.9,                      |                 |
|               |                                 | 29.7,                      |                 |                                 | 29.85,                     |                 |
|               |                                 | 29.6,                      |                 |                                 | 29.7,                      |                 |
|               |                                 | 29.57,                     |                 |                                 | 29.6,                      |                 |
|               |                                 | 29.47,                     |                 |                                 | 29.5,                      |                 |
|               |                                 | 29.47,                     |                 |                                 | 29.5,                      |                 |
|               |                                 | 29.4                       |                 |                                 | 29.45                      |                 |
| 8'''          | 1.99, m                         | 27.4                       | CH <sub>2</sub> | 2.03, q (6.5)                   | 27.4                       | CH <sub>2</sub> |
| 9'''          | 5.34, m                         | 130.0                      | CH              | 5.36, m                         | 130.0                      | CH              |
| 10'''         | 5.34, m                         | 130.1                      | CH              | 5.36, m                         | 130.1                      | CH              |
| 11'''         | 1.99, m                         | 27.4                       | CH <sub>2</sub> | 2.03, q (6.5)                   | 27.4                       | CH <sub>2</sub> |
| 16'''         | 1.26, m                         | 32.1                       | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                         | 32.1                       | CH <sub>2</sub> |
| 17'''         | 1.26, m                         | 22.8                       | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                         | 22.8                       | CH <sub>2</sub> |
| 18'''         | 0.88, t (6.9)                   | 14.3                       | CH <sub>3</sub> | 0.90, t (6.8)                   | 14.3                       | 18'''           |

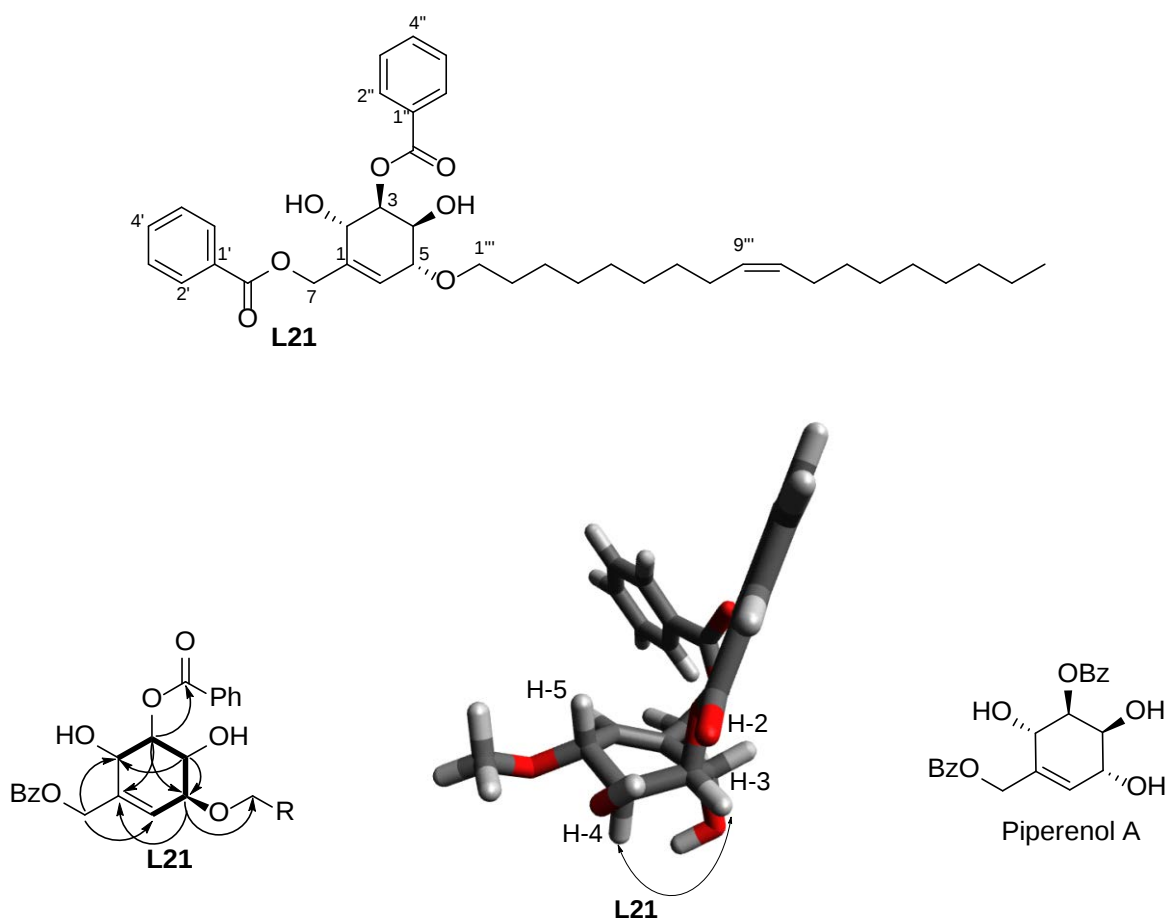
ตาราง 9. ข้อมูล  $^1\text{H}$  (400 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของ **L20** และ **L21** ใน  $\text{CDCl}_3$  (ต่อ)

| Position  | <b>L20<sup>a</sup></b>        |                            | <b>L21<sup>b</sup></b>        |                            |
|-----------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
|           | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 3-OC(O)Me |                               | 170.1 C                    |                               |                            |
| 3-OC(O)Me | 1.95, s                       | 21.0 $\text{CH}_3$         |                               |                            |
| 3-OC(O)   |                               |                            |                               | 166.64                     |
| 7-OC(O)   |                               | 167.1 C                    |                               | 166.60                     |

<sup>a</sup>  $^{13}\text{C}$  NMR recorded at 100 MHz, <sup>b</sup>  $^{13}\text{C}$  NMR recorded at 125 MHz

### สาร **L21**

สาร **L21** มีลักษณะเป็นของหนืดใสไม่มีสี มีค่า specific rotation ( $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -44$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) โดยมีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_7$  ซึ่งแมสสเปกตรัมพบ  $m/z$  ที่ 657.3770 (ค่าจากการคำนวณ 657.3767) ในขณะที่ UV สเปกตรัมพบการดูดกลืนแสงที่ 234 และ 274 nm และ IR สเปกตรัมปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3423 และ  $1722\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นของหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอนิล ตามลำดับ จากข้อมูล NMR ของสาร **L21** ดังแสดงในตาราง 9 ซึ่งคล้ายกับ Piperenol A (**L18**) ยกเว้นมีสัญญาณของหมู่ (Z)-octadeca-9-enyl เพิ่มขึ้น ออกซิเมทไธนโปรตอน H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  4.13/ $\delta_{\text{C}}$  76.8) และเมทิลีนโปรตอนที่ไม่สมมาตร  $\text{CH}_2-1'''$  ของ octadeca-9-enyl ( $\delta_{\text{H}}$  3.69 และ 3.63/ $\delta_{\text{C}}$  70.4) แสดงความสัมพันธ์ HMBC ซึ่งกันและกัน ทำให้ทราบว่าหมู่ octadeca-9-enyl เชื่อมอยู่กับออกซิเจนอะตอมที่ C-5 ของวงไซโคลเฮกซีน สำหรับค่า  $^{13}\text{C}$  NMR เคมีคัลซิฟที่ตำแหน่ง C-8'''/C-11''' ( $\delta_{\text{C}}$  27.4), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  130.0) และ C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  130.1) ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของ Z-olefinic configuration ตำแหน่งของพันธะคู่ซึ่งได้จาก OzID สเปกตรัมที่พบสัญญาณของ ozonide ion ที่  $m/z$  705.3600  $[\text{M}+\text{Na}+\text{O}_3]^+$  รวมทั้งแอลดีไฮด์และ Criegee ion ที่  $m/z$  547.2302 และ 563.2248 ตามลำดับ ดังรูป 1 และ 2 แสดงว่าพันธะคู่อยู่ที่ C-9''' relative configuration ของ **L21** ได้จากค่าคงที่การคู่ควบ  $J_{2,3}$  4.8 Hz และ  $J_{4,5}$  6.5 Hz สอดคล้องกับค่าคงที่การคู่ควบ 1,2-diequatorial-like และ 1,2-diaxial-like ตามลำดับ ความสัมพันธ์ของ H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.50) กับ H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4.31) และระหว่าง H-3 กับ H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.52) ใน NOESY สเปกตรัมสอดคล้องกับจากการคำนวณที่เป็น 2.52 Å และ 2.54 Å ในขณะเดียวกัน ECD สเปกตรัมของ **L21** นั้นคล้ายกับของ Piperenol A ซึ่งแสดงลักษณะของ negative cotton effect ที่ 234 และ 235 nm ตามลำดับ จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น **L21** มี configuration เป็น 2R,3R,4S,5R และเรียกชื่อว่า cherrevenol O



ความสัมพันธ์ที่สำคัญ HMBC ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ ), COSY (bold line) และ ความสัมพันธ์ NOE ด้วยวิธี DFT minimized molecular models [B3LYP/6-31G(d)] ของ **L21** (คำนวณโดยให้สายโซ่ (R) เป็น เมทิลอีเทอร์).

## 2. ต้นอินทนิลบก (*Lagerstroemia macrocarpa*)

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในส่วนกิ่ง เปลือก ใบและผลของต้นอินทนิลบก สามารถแยกสารที่มี การรายงานโครงสร้างแล้วในกลุ่มของกรดเบนโซอิกได้ 4 สาร คือ 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**M1**), 4-methoxybenzoic acid (**M2**), 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzoic acid (**M3**) และ 3,4-dihydroxybenzoic acid (**M4**)

จากนั้นนำสารบริสุทธิ์ที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) และ ฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) โดยพบว่าสารบริสุทธิ์ที่ได้จากต้นนมแมวป่า คือ สาร **F1-F3 F5 F7 F10 F11 F14 F15 L1-L11 L13 L16 L18-L22** เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า มีเพียงสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลต้นนมแมวป่าที่แสดงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งช่องปากและเชื้อ มาลาเรีย พบว่าสาร **F1** และ **F5** แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรียชนิด TM4/8.2 ที่ค่า  $IC_{50}$   $21.0 \pm 3.10$  และ  $33.7 \pm 7.69$   $\mu$ M ตามลำดับ ในขณะที่สาร **F1 F3** และ **F5** ต้านเชื้อมาลาเรียชนิด K1CB1 ที่ค่า  $IC_{50}$  ระหว่าง  $21.0 \pm 5.44$  และ  $43.5 \pm 11.9$   $\mu$ M ดังแสดงในตาราง 10 สำหรับฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งช่อง ปาก ซึ่งพบว่าสาร **F1 F2 F5 F10** และ **F11** มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งดังกล่าวที่ค่า  $IC_{50}$  ในช่วง  $0.6 \pm 0.17 - 4.91 \pm 2.69$   $\mu$ M แต่ในขณะเดียวกันสาร **F1 F2 F10** และ **F11** มีการรายงานความเป็นพิษต่อเซลล์ ปกติ ที่ค่า  $IC_{50}$  ระหว่าง  $0.61 \pm 0.04 - 5.67 \pm 2.73$   $\mu$ M สำหรับสารอื่นที่ได้ทำการทดสอบมีแสดงฤทธิ์ใน การยับยั้งต่อการทดสอบทั้งสองด้วยค่า  $IC_{50} > 50$   $\mu$ M ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่ได้จากต้นนมแมวป่า ( $IC_{50}$ ,  $\mu$ M)

| Compounds                  | Antimalarial activity against <i>P. falciparum</i> |                 | Cytotoxic activity |                   |
|----------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|
|                            | TM4/8.2                                            | K1CB1           | KB                 | Vero cells        |
| <b>1</b>                   | $21.0 \pm 3.10$                                    | $21.0 \pm 5.44$ | $0.60 \pm 0.17$    | $0.61 \pm 0.04^a$ |
| <b>2</b>                   | <sup>b</sup>                                       | <sup>b</sup>    | $2.76 \pm 0.22$    | $3.34 \pm 0.40$   |
| <b>3</b>                   | <sup>b</sup>                                       | $43.5 \pm 11.9$ | <sup>b</sup>       | <sup>b</sup>      |
| <b>5</b>                   | $33.7 \pm 7.69$                                    | $28.3 \pm 0.76$ | $4.91 \pm 2.69$    | <sup>b</sup>      |
| <b>10</b>                  | <sup>b</sup>                                       | <sup>b</sup>    | $4.07 \pm 1.64$    | $5.67 \pm 2.73$   |
| <b>11</b>                  | $26.1 \pm 5.80$                                    | $29.3 \pm 5.09$ | $4.72 \pm 2.47$    | $5.18 \pm 2.27$   |
| Cycloguanil <sup>d</sup>   | $0.069 \pm 0.01$                                   | $10.2 \pm 2.39$ | <sup>c</sup>       | <sup>c</sup>      |
| Pyrimethamine <sup>d</sup> | $0.16 \pm 0.04$                                    | $46.2 \pm 14.3$ | $63.4 \pm 7.76$    | $32.24 \pm 12.1$  |
| Ellipticine <sup>e</sup>   |                                                    |                 | $15.0 \pm 1.63$    | $15.6 \pm 0.85$   |

<sup>a</sup> Assays run in duplicate (all other in triplicate).

<sup>b</sup> Inactive at  $>50$   $\mu$ M. <sup>c</sup> Inactive at  $>100$   $\mu$ M.

<sup>d</sup> Reference drugs for antiplasmodial activity. <sup>e</sup> Reference drugs for cytotoxic assays.

## สรุปผลการทดลอง

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนผลของต้นนมแมวป่า พบสารใหม่จำนวน 4 สาร คือ cherrevenones A-D (**F1-F4**) รวมทั้งสารที่มีการรายงานแล้วอีก 11 สาร (**F5-F15**) ในขณะที่ส่วนใบพบสารใหม่จำนวน 15 สาร คือ cherrevenols A-O (**L1-L12** และ **L19-L21**) รวมทั้งสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วอีก 10 สาร (**L13-L18** และ **L22**) แต่ซ้ำกับสารที่แยกได้จากผลจำนวน 3 สาร สำหรับการศึกษาในส่วนกิ่งเปลือกและผล ของต้นอินทนิบบก สามารถแยกสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วจำนวน 4 สาร (**M1-M4**) สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลของต้นนมแมวป่า แสดงฤทธิ์ที่ดีในด้านเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ชนิด TM4/8.2 และ K1CB1 ซึ่งพบว่าสาร **F1** แสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดในการต้านเชื้อมาลาเรีย ด้วยค่า  $IC_{50}$   $21.0 \pm 3.10$  และ  $21.0 \pm 5.44$   $\mu$ M ต่อเชื้อชนิด TM4/8.2 และ K1CB1 ตามลำดับ นอกเหนือจากนี้สาร **F5** แสดงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งช่องปากที่ดีที่สุดด้วยค่า  $IC_{50}$   $4.91 \pm 2.69$   $\mu$ M และยังไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ สำหรับสาร **F1 F2 F10** และ **F11** ก็แสดงการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากเช่นกันด้วยค่า  $IC_{50}$  ระหว่าง  $0.60 \pm 0.17 - 4.72 \pm 2.47$   $\mu$ M แต่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่  $IC_{50}$  ในช่วง  $0.60 \pm 0.04 - 5.67 \pm 2.73$   $\mu$ M

## กิจกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

ไม่มี

## ปัญหาและอุปสรรค

ไม่มี

## ความเห็นและข้อเสนอแนะ

ไม่มี

## เอกสารอ้างอิง

1. Anam, E.M., *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1994**, 9, 870–873.
2. Awale, S.; Ueda, J.-Y.; Athikomkulchai, S.; Abdelhamed, S.; Yokoyama, S.; Saiki, I.; Miyatake, R. *J. Nat. Prod.* **2012**, 75, 1177–1183.
3. El-Sohly, H.N.; Lasswell Jr, W.L.; Hufford, C.D. *J. Nat. Prod.* **1979**, 42, 264–270.
4. Kaweetripob, W.; Mahidol, C.; Prawat, H.; Ruchirawat, S. *Phytochem. Lett.* **2015**, 12, 248–251.
5. Kijjoa, A.; Bessa, J.; Pinto, M.M.M.; Anatachoke, C.; Silva, A.M.S.; Eaton, G.; Herz, W. *Phytochemistry* **2002**, 59, 543–549.
6. Meng, A. P.; Li, J. and Pu, S. B. *Chem. Nat. Compd.* **2018**, 54, 841–845.
7. Muhammad, I.; Waterman, P.G. *J. Nat. Prod.* **1985**, 48, 571–580.
8. Oladimeji A. O.; Oladosu, I. A.; Ali, M. S. and Lateef, M. *Nat. Prod. Res.* **2017**, 32, 2017–2024.
9. Schulte, G. R.; Kodpinid, M.; Thebtaranonth, C.; Thebtaranonth, Y. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4303–4304.
10. Shi, Y.-N.; Xin, Y.; Ling, Y.; Li, X.-C.; Hao, C.-Y.; Zhu, H.-T.; Wang, D.; Yang, C.-R.; Xu, M.; Zhang, Y.-J. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2016**, 18, 730–736.
11. Stevenson, P. C.; Veitch, N. C.; Simmonds, M. S. J. *Phytochemistry* **2007**, 68, 1579–1586.
12. Tada, N.; Hattori, K.; Nobuta, T.; Miura, T. and Itoh, A. *Green Chem.* **2011**, 13, 1669–1671.
13. Taneja, S. C.; Koul, S. K.; Pushpangadan, P.; Dhar, K. L.; Daniewski, W. M.; Schilf, W. *Phytochemistry* **1991**, 30, 871–874.
14. Voon, F.-L.; Sulaiman, M.R.; Akhtar, M.N.; Idris, M.F.; Akira, A.; Perimal, E.K.; Israf, D.A.; Ming-Tatt, L. *Eur. J. Pharmacol.* **2017**, 794, 127–134.
15. Wang, S.; Chen, R.-Y.; Yu, S.-S.; Yu, D.-Q. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **2003**, 5, 17–23.

16. Wirasathien, L.; Pengsuparp, T.; Moriyasu, M.; Kawanishi, K.; Suttisri, R. *Arch. Pharm. Res.* **2006**, *29*, 497–502.
17. Wu, C.-S.; Lin, Z.-M.; Wang, L.-N.; Guo, D.-X.; Wang, S.-Q.; Liu, Y.-Q.; Yuan, H.-Q.; Lou, H.-X. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3261–3267.
18. Yang, Y.; Zhang, W.; Xie, Z.; Lei, J.; Yu, J.; *Chem. Nat. Compd.* **2017**, *53*, 740–741.
19. Zhang, Y.-J. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2016**, *18*, 730–736.

ภาคผนวก

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ



Contents lists available at ScienceDirect

Fitoterapia

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fitote](http://www.elsevier.com/locate/fitote)Four new C-benzyl flavonoids from the fruit of *Uvaria cherreensis*Chiramet Auranwiwat<sup>a,b,c</sup>, Roonglawan Rattanajak<sup>d</sup>, Sumalee Kamchonwongpaisan<sup>d</sup>, Surat Laphookhieo<sup>e,f</sup>, Stephen G. Pyne<sup>c</sup>, Thunwadee Limtharakul (née Ritthiwigrom)<sup>a,g,\*</sup><sup>a</sup> Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Sutep, Muang, Chiang Mai 50200, Thailand<sup>b</sup> The Graduate School, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand<sup>c</sup> School of Chemistry, University of Wollongong, Wollongong, New South Wales 2522, Australia<sup>d</sup> Medical Molecular Biology Research Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand Science Park, Pathumthani 12120, Thailand<sup>e</sup> Center of Chemical Innovation for Sustainability (CIS), Mae Fah Luang University, Tasud, Muang, Chiang Rai 57100, Thailand<sup>f</sup> School of Science, Mae Fah Luang University, Tasud, Muang, Chiang Rai 57100, Thailand<sup>g</sup> Research Center on Chemistry for Development of Health Promoting Products from Northern Resources, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

## ARTICLE INFO

## Keywords:

*Uvaria cherreensis*

Annonaceae

Flavonoids

Antiplasmodial activity

Cytotoxic activity

## ABSTRACT

The phytochemical investigation of the fruit extracts of *Uvaria cherreensis* led to the isolation and characterization of four new C-benzyl flavonoids; cherrevenones A–D (1–4) together with 11 known compounds. The isolated compounds were characterized using spectroscopic techniques. Compounds 1, 3, 5 and 11 showed moderate inhibitory activities against the *P. falciparum* strains TM4/8.2 and K1CB1 with IC<sub>50</sub> values ranging from 21.0 ± 3.10 – 33.7 ± 7.69 and 21.0 ± 5.44 – 43.5 ± 11.9 μM, respectively. Compounds 1, 2, 5, 10 and 11 exhibited strong cytotoxic activities against KB cells with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.60 ± 0.17 – 4.91 ± 2.69 μM which were similar to their cytotoxic activities found against Vero cells, except for compound 5, which was non-toxic to Vero cells.

## 1. Introduction

*Uvaria cherreensis*, also known as “Nom Meaw Pa” in Thai, with the synonym of *Ellipeiopsis cherreensis*, is a monotypic species in the Annonaceae family [1,2]. This plant is a shrub which is distributed throughout the forests of Thailand [1]. The roots of this plant have been used in traditional medicine to treat urinary disorders [3]. Previous phytochemical studies of this plant reported the isolation of alkaloids, flavonoids, naphthalene derivatives, polyoxygenated cyclohexenes and terpenoids [3–6]. Some of these compounds were reported to have antimalarial, antimicrobial and cytotoxic activities [3,5,6]. In a previous report, we found 2-phenylnaphthalene derivatives, polyoxygenated cyclohexenes and flavonoids from the stems and roots extracts of this plant [5]. Herein, we report the results of a phytochemical investigation of the fruit extracts of *U. cherreensis* which resulted in the isolation and identification of four new C-benzyl flavonoids (1–4) together with 11 known compounds. The antimalarial and cytotoxic activities of these compounds, against KB and Vero cells, are also reported.

## 2. Experimental

## 2.1. General experimental procedures

Melting points were determined on a Stuart SMP10 melting point apparatus and are uncorrected. Optical rotations were measured in acetone at the sodium D-line on a Rudolph Research Analytical Autopol I polarimeter. UV–vis absorption spectra were measured in MeOH with a Thermo Scientific Evolution 210 UV–vis spectrophotometer. The infrared (IR) spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 FT-IR spectrophotometer. The NMR spectra were recorded on either a 400 MHz or a 500 MHz Bruker NMR spectrometer. Chemical shifts were recorded in parts per million (δ) in CDCl<sub>3</sub> (δ<sub>H</sub> 7.26 and δ<sub>C</sub> 77.0 ppm) and/or acetone-*d*<sub>6</sub> (δ<sub>H</sub> 2.05 and δ<sub>C</sub> (CO) 206.2 and (CH<sub>3</sub>) 29.8 ppm) with TMS as internal standard. The HRESIMS data were obtained on a Bruker Daltonics and Thermo Fisher mass spectrometer. Thin-layer chromatography (TLC) was performed on silica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Column chromatography (CC) was carried out on Sephadex LH-20 or silica gel (Merck) type 100 (62–400 μm). Silica gel type 60 (5–40 μm) was used for quick column chromatography (QCC). Solvents for extraction and chromatography were distilled prior to use.

\* Corresponding author.

E-mail address: [thunwadee.r@cmu.ac.th](mailto:thunwadee.r@cmu.ac.th) (T. Limtharakul).<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.08.020>

Received 2 August 2018; Received in revised form 24 August 2018; Accepted 24 August 2018

Available online 27 August 2018

0367-326X/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Table 1**  
<sup>1</sup>H (500 MHz) and <sup>13</sup>C (125 MHz) NMR spectroscopic data of cherrevenones A–C (1–3) in acetone-*d*<sub>6</sub>.

| Position | 1 <sup>a</sup>           |                     |                 | 2                        |                     |                 | 3                        |                     |                 |
|----------|--------------------------|---------------------|-----------------|--------------------------|---------------------|-----------------|--------------------------|---------------------|-----------------|
|          | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>C</sub> type |                 | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>C</sub> type |                 | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>C</sub> type |                 |
| 1        |                          | 136.4               | C               |                          | 128.1               | C               |                          | 136.4               | C               |
| 2        | 7.50 d (7.6)             | 130.0               | CH              | 7.59 d (8.6)             | 131.3               | CH              | 7.46 m                   | 129.9               | CH              |
| 3        | 7.82 d (7.6)             | 129.3               | CH              | 6.90 d (8.6)             | 116.8               | CH              | 7.74 dd (8.0,1.4)        | 129.2               | CH              |
| 4        | 7.48 t (7.6)             | 131.2               | CH              |                          | 160.8               | C               | 7.45 m                   | 131.1               | CH              |
| 5        | 7.82 d (7.6)             | 129.3               | CH              | 6.90 d (8.6)             | 116.8               | CH              | 7.74 dd (8.0,1.4)        | 129.2               | CH              |
| 6        | 7.50 d (7.6)             | 130.0               | CH              | 7.59 d (8.6)             | 131.3               | CH              | 7.46 m                   | 129.9               | CH              |
| 7        | 7.83 d (15.6)            | 142.9               | CH              | 7.72 d (15.5)            | 143.6               | CH              | 7.85 d (15.7)            | 143.4               | CH              |
| 8        | 8.16 d (15.6)            | 128.7               | CH              | 7.90 (15.5)              | 127.9               | CH              | 8.03 d (15.7)            | 127.3               | CH              |
| 9        |                          | 193.6               | C               |                          | 193.5               | C               |                          | 193.0               | C               |
| 1'       |                          | 105.6               | C               |                          | 106.2               | C               |                          | 108.5               | C               |
| 2'       |                          | 164.0               | C               |                          | 165.3               | C               |                          | 164.6               | C               |
| 3'       |                          | 110.2               | C               |                          | 108.1               | C               |                          | 112.1               | C               |
| 4'       |                          | 160.6               | C               |                          | 163.2               | C               |                          | 161.1               | C               |
| 5'       |                          | 101.2               | C               | 6.14 br s                | 92.2                | C               |                          | 115.1               | C               |
| 6'       |                          | 152.7               | C               |                          | 162.5               | C               |                          | 160.9               | C               |
| 7'       | 3.98 s                   | 22.7                | CH <sub>2</sub> | 3.88 s                   | 22.8                | CH <sub>2</sub> | 3.96 s                   | 23.7                | CH <sub>2</sub> |
| 8'       | 3.91 s                   | 22.8                | CH <sub>2</sub> |                          |                     |                 | 3.96 s                   | 24.4                | CH <sub>2</sub> |
| 1''      |                          | 127.8               | C               |                          | 127.8               | C               |                          | 128.3               | C               |
| 2''      |                          | 153.7               | C               |                          | 155.0               | C               |                          | 155.3               | C               |
| 3''      | 6.93 d (7.5)             | 115.7               | CH              | 6.78 dd (7.6,1.8)        | 115.9               | CH              | 6.83 dd (7.5,1.6)        | 116.0               | CH              |
| 4''      | 7.07 t (7.5)             | 128.3               | CH              | 6.97 td (7.6,1.8)        | 127.9               | CH              | 6.98 td (7.5,1.6)        | 127.7               | CH              |
| 5''      | 6.84 t (7.5)             | 121.7               | CH              | 6.70 td (7.6,1.8)        | 120.7               | CH              | 6.75 td (7.5,1.6)        | 120.8               | CH              |
| 6''      | 7.44 d (7.5)             | 131.9               | CH              | 7.24 dd (7.6,1.8)        | 131.2               | CH              | 7.36 dd (7.5,1.6)        | 131.7               | CH              |
| 1'''     |                          | 121.2               | C               |                          |                     |                 |                          | 128.1               | C               |
| 2'''     |                          | 151.4               | C               |                          |                     |                 |                          | 155.7               | C               |
| 3'''     | 7.05 d (7.4)             | 116.8               | CH              |                          |                     |                 | 6.83 dd (7.9,1.6)        | 115.9               | CH              |
| 4'''     | 7.25 t (7.4)             | 128.8               | CH              |                          |                     |                 | 7.02 td (7.9,1.6)        | 128.0               | CH              |
| 5'''     | 7.11 t (7.4)             | 125.0               | CH              |                          |                     |                 | 6.70 td (7.9,1.6)        | 120.3               | CH              |
| 6'''     | 7.30 d (7.4)             | 130.4               | CH              |                          |                     |                 | 7.08 dd (7.9,1.6)        | 130.7               | CH              |
| 2'-OH    | 14.35 s                  |                     |                 |                          |                     |                 | 14.17 s                  |                     |                 |
| 6'-OMe   |                          |                     |                 | 3.91 s                   | 56.3                | CH <sub>3</sub> | 3.68 s                   | 63.6                | CH <sub>3</sub> |

<sup>a</sup> Measured at 400 MHz (<sup>1</sup>H NMR) and 100 MHz (<sup>13</sup>C NMR).

## 2.2. Plant material

The fruit of *Uvaria cherrevensis* were collected from Doi Suthep National Park, Chiang Mai, Thailand in August 2015. This plant was identified by Dr. Tanawat Chaowasku from the CMUB Herbarium, Chiang Mai University, Thailand, where a voucher specimen has been deposited (specimen no. T. Ritthiwigrom 5).

## 2.3. Extraction and isolation

The air dried fruit of *U. cherrevensis* (306.6 g) was extracted with MeOH (3 L) at room temperature over a period of 3 d. Removal of the solvent under reduced pressure afforded a brown viscous oil (37.36 g). The oil was separated by QCC over silica gel. The column was eluted with a solvent gradient from hexane (100%) to acetone (100%) to MeOH (100%) to provide eight fractions (Fractions A–H, see the Supplementary Information for a flow chart of the isolation procedure). Fraction A (654.7 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give four subfractions (A1–A4). Subfraction A2 (19.6 mg) was further purified by CC over silica gel by elution with EtOAc/hexane (15:85) to give compound 5 (10.0 mg) as a yellow viscous oil. Compound 1 (11.0 mg), as a yellow solid, mp 224–226 °C, was obtained from subfraction A4 after evaporation. Fraction B (394.2 mg) was purified by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to provide compound 6 (1.2 mg) as a yellow solid. Fractionation of Fraction C (1.85 g) by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution gave three subfractions (C1–C3). Subfraction C2 (48.3 mg) was purified by CC over silica gel by elution with EtOAc/hexane (1:4) to give compound 7 (12.7 mg) as a white solid, mp 195–197 °C, lit. 182–183 °C [3]. Fraction E (1.16 g) was separated by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to give ten fractions (E1–E10). Compound 8 (7.5 mg), as a yellow solid, mp 146–147 °C, lit. 179–181 °C [3], was obtained from

subfraction E2 (10.4 mg) by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution. Subfraction E4 (285.7 mg) was separated by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to provide compounds 3 (11.5 mg) and 9 (23.9 mg) as a yellow viscous oil and a brown solid (mp 204–205 °C, lit. 203.5–204.5 °C [7]), respectively. Subfraction E6 (46.6 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give four subfractions (E6A–E6D). Subfraction E6B (21.5 mg) was purified by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to provide compound 10 (6.5 mg) as a yellow viscous oil. Compound 11 (10.6 mg), as a yellow viscous oil, was obtained from subfraction E6C after evaporation. Subfraction E8 (46.2 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give three subfractions (E8A–E8C). Subfraction E8B (25.5 mg) was purified by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to give compound 12 (7.4 mg) as a yellow solid, mp 99–100 °C (mp not reported in the literature). Subfraction E9 (47.1 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give compound 13 (2.1 mg) as a brown viscous oil. Fraction F (1.11 g) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give three subfractions (F1–F3). Subfraction F2 (34.3 mg) was separated by CC over silica gel by elution with EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5:95) to provide compound 2 (2.5 mg) as a yellow viscous oil. Fraction H (530.0 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to provide four subfractions (H1–H4). Compound 14 (13.5 mg), as a yellow solid, mp 225–227 °C (mp not reported in the literature), was isolated from subfraction H2 (81.5 mg) by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:98). Subfraction H3 (167.6 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 with MeOH elution to give five subfractions (H3A–H3E). Subfraction H3B (25.5 mg) was further purified by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:98) to give compound 15 (3.5 mg) as a yellow viscous oil. Compound 4 (1.3 mg), as a yellow viscous oil, was obtained from subfraction H3D (13.1 mg) by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99).

**Table 2**  
 $^1\text{H}$  (500 MHz) and  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR spectroscopic data of cherrevenone D (4) in acetone- $d_6$ .

| 4        |                               |                            |          |                               |                            |
|----------|-------------------------------|----------------------------|----------|-------------------------------|----------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | Position | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 2        | 5.42 dd (13.2, 2.8)           | 79.7 CH                    | 1''      |                               | 128.0 C                    |
| 3        | 2.99 dd (16.6, 13.2)          | 46.1 CH <sub>2</sub>       | 2''      |                               | 155.0 C                    |
|          | 2.64 dd (16.6, 2.8)           |                            | 3''      | 6.80 d (7.5)                  | 116.2 CH                   |
| 4        |                               | 189.0 C                    | 4''      | 6.99 t (7.5)                  | 127.9 CH                   |
| 5        |                               | 159.3 C                    | 5''      | 6.67 t (7.5)                  | 120.7 CH                   |
| 6        |                               | 116.5 C                    | 6''      | 7.14 d (7.5)                  | 131.7 CH                   |
| 7        |                               | 161.5 C                    | 1'''     |                               | 128.3 C                    |
| 8        |                               | 112.2 C                    | 2'''     |                               | 155.6 C                    |
| 9        |                               | 158.5 C                    | 3'''     | 6.80 d (7.5)                  | 116.0 CH                   |
| 10       |                               | 110.9 C                    | 4'''     | 6.98 t (7.5)                  | 127.7 CH                   |
| 11       | 3.90 br s                     | 24.3 CH <sub>2</sub>       | 5'''     | 6.69 t (7.5)                  | 120.3 CH                   |
| 12       | 3.92 br s                     | 24.2 CH <sub>2</sub>       | 6'''     | 7.10 d (7.5)                  | 131.4 CH                   |
| 1'       |                               | 131.1                      | 5-OMe    | 3.78 s                        | 61.9 CH <sub>3</sub>       |
| 2'       | 7.43 d (8.2)                  | 129.0 CH                   |          |                               |                            |
| 3'       | 6.92 d (8.2)                  | 115.9 CH                   |          |                               |                            |
| 4'       |                               | 158.6                      |          |                               |                            |
| 5'       | 6.92 d (8.2)                  | 115.9 CH                   |          |                               |                            |
| 6'       | 7.43 d (8.2)                  | 129.0 CH                   |          |                               |                            |

Cherrevenone A (1): yellow solid; mp 224–226 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 215 (4.54), 282 (4.20), 355 (4.27) nm; IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3241, 1627, 1608, 1490  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ ) see Table 1; HRESIMS  $m/z$  473.1355  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd 473.1365,  $\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{Na}$ .

Cherrevenone B (2): yellow viscous oil; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 220 (4.18), 281 (3.63), 370 (4.07) nm; IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3243, 1619, 1604, 1513  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, acetone- $d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, acetone- $d_6$ ) see Table 1; HRESIMS  $m/z$  391.1189  $[\text{M} - \text{H}]^-$ , calcd 391.1182,  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}_6$ .

Cherrevenone C (3): brown viscous oil; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 211 (4.46), 281 (3.85), 400 (3.59) nm; IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3231, 1628, 1595, 1489  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, acetone- $d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, acetone- $d_6$ ) see Table 1; HRESIMS  $m/z$  505.16209  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd 505.16216,  $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}$ .

Cherrevenone D (4): yellow viscous oil;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  –52.2 (c 0.07, acetone); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 214 (4.37), 280 (3.93), 328 (3.87) nm; IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3339, 1643, 1585, 1460  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, acetone- $d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, acetone- $d_6$ ) see Table 2; HRESIMS  $m/z$  499.1743  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd 499.1757,  $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{O}_7$ .

#### 2.4. Bioactivity assays

The antimalarial activity testing against *Plasmodium falciparum* (TM4/8.2, a wild type sensitive strain and K1CB1, a multidrug resistant strain) was carried out using the Malaria SYBR Green I-base fluorescence (MSF) assay [8]. Briefly, following incubation of parasites (90  $\mu\text{L}$  of 1% ring stages at 2% haematocrit) with serial dilution of compounds (10  $\mu\text{L}$  in 0.1% DMSO containing RPMI media) in black 96-well plate for 48 h in a 3%  $\text{CO}_2$  incubator at 37 °C, 100  $\mu\text{L}$  SYBR Green I dye (0.2  $\mu\text{L}$  of SYBR Green I/mL of in lysis buffer pH 7.5 (20 mM Tris containing 5 mM EDTA, 0.008% saponin, and 0.08% Triton X-100)) was added and mixed well. After 1 h incubation in the dark at 25 °C, the fluorescence signal of the treated and untreated control was measured with a fluorometer with excitation at 435 nm and emission at 535 nm. The 50% inhibition concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) was calculated from the sigmoidal dose-response curve. Cycloguanil and pyrimethamine were

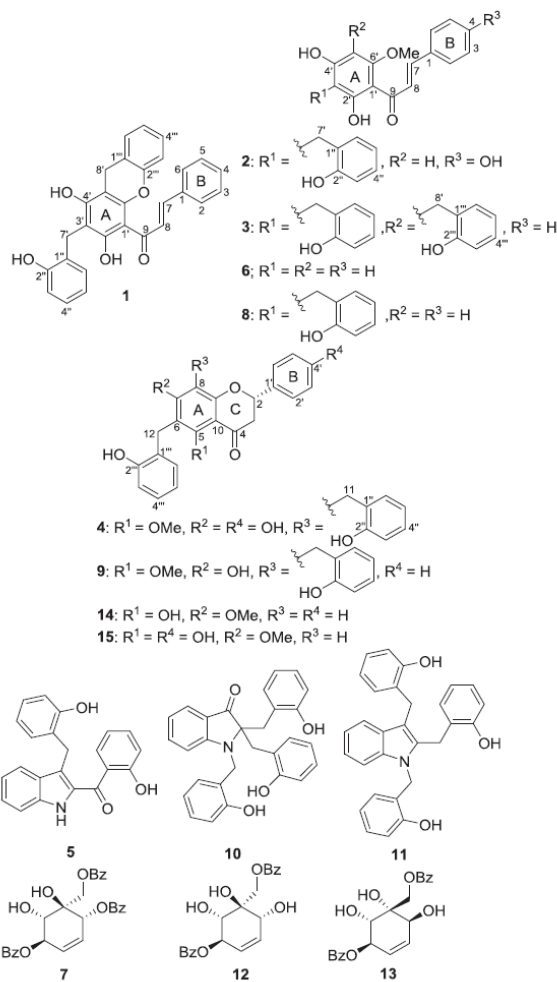


Fig. 1. Isolated compounds from the fruit of *U. cherreensis*.

included as the reference compounds [9]. Cytotoxic assays against KB cells (human mouth epidermal carcinoma cells) and normal Vero cells (kidney epithelial cells of African green monkey, *Cercopithecus aethiops*) [10] were evaluated using the sulforhodamine B (SRB) assay [11]. El-lipitine was included as the reference compound.

#### 3. Results and discussion

The crude MeOH extract of the fruit of *U. cherreensis* was separated by column chromatography resulting in the isolation of four new C-benzyl flavonoids, cherrevenones A–D (1–4), together with 11 known compounds; uvarindoles C, D and A (5, 10, 11) [12], cardamonin (6) [13], ferradiol (7) [3], 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (8) [3], 5-O-methoxydichamanetin (9) [7], ellipeiopsol B (12) [4], zeylenol (13) [3], 7-O-methylisochamanetin (14) [14] and epi-methylphelligrin A (15) [15] (Fig. 1). The structures of the isolated compounds were elucidated by spectroscopic techniques including UV, IR, NMR and MS analysis. Of these compounds, only compounds 8, 9, 12 and 13 were also isolated from the stem and root extracts of this plant [5].

Compound 1 was obtained as a yellow solid, mp 224–226 °C. The HRESIMS exhibited an ion peak at  $m/z$  473.1355  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd for

$C_{29}H_{22}O_5Na$ , 473.1365), indicating the molecular formula of  $C_{29}H_{22}O_5$ . The UV spectrum showed absorption bands at  $\lambda_{max}$  215, 282 and 355 nm and the IR spectrum indicated stretching bands for a hydroxy group ( $3241\text{ cm}^{-1}$ ), an  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl functional group ( $1627\text{ cm}^{-1}$ ) and an aromatic ring (1608 and  $1490\text{ cm}^{-1}$ ) that indicated a possible chalcone structure [16]. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of 1 (Table 1) displayed resonances for a chelated hydroxy proton ( $\delta_H$  14.35, 1H, s), two olefinic protons of an (*E*)- $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone [ $\delta_H$  8.16 and 7.83 (each 1H, d,  $J = 15.6\text{ Hz}$ )], a mono-substituted benzene [ $\delta_H$  7.82 (2H, d,  $J = 7.6\text{ Hz}$ ), 7.50 (2H, d,  $J = 7.6\text{ Hz}$ ), 7.48 (1H, t,  $J = 7.6\text{ Hz}$ )], a 2-hydroxybenzyl moiety [ $\delta_H$  7.44 (1H, d,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 7.07 (1H, t,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 6.93 (1H, d,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 6.84 (1H, t,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 3.98 (2H, s)] and a hydroxybenzyl-like moiety (C-1''–C-6'' and C-8') forming part of a xanthene skeleton [ $\delta_H$  7.30 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.25 (1H, t,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.11 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 7.05 (1H, d,  $J = 7.4\text{ Hz}$ ), 3.91 (2H, s)] as found in isochamuvaritin [13]. The  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of 1 (Table 1) showed resonances for 29 carbons including an  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl carbon ( $\delta_C$  193.6), eleven quaternary aromatic carbons ( $\delta_C$  164.0, 160.6, 153.7, 152.7, 151.4, 136.4, 127.8, 121.2, 110.2, 105.6 and 101.2), thirteen aromatic methine (ArCH) carbons ( $\delta_C$  131.9, 131.2, 130.4, 130.0 (2C), 129.3 (2C), 128.8, 128.3, 125.0, 121.7, 116.8 and 115.7), two alkene methines ( $\delta_C$  142.9 and 128.7) and two methylene carbons ( $\delta_C$  22.8 and 22.7). The HMBC spectrum showed correlations between H-7 ( $\delta_H$  7.83/ $\delta_C$  142.9) and C-2/C-6 ( $\delta_C$  130.0) and C-9 ( $\delta_C$  193.6) and between the olefinic proton H-8 ( $\delta_H$  8.16/ $\delta_C$  128.7) and C-1 ( $\delta_C$  136.4) which confirmed that the mono-substituted benzene (ring B) was part of the chalcone core structure. The chelated hydroxy proton ( $\delta_H$  14.35) showed HMBC correlations to C-1' ( $\delta_C$  105.6), C-2' ( $\delta_C$  164.0) and C-3' ( $\delta_C$  110.2). The methylene protons H-7' ( $\delta_H$  3.98) of the 2-hydroxybenzyl group displayed HMBC correlations to C-2', C-3', C-4' ( $\delta_C$  160.6), C-1'' ( $\delta_C$  127.8), C-2'' ( $\delta_C$  153.7) and C-6'' ( $\delta_C$  131.9). The 2-hydroxybenzyl group-like structure, that formed part of the xanthene ring, was attached through a C–C bond between C-5' ( $\delta_C$  101.2) and C-8' ( $\delta_C$  22.8) and a C–O bond at C-6' ( $\delta_C$  152.7) from the HMBC correlations of H-8' ( $\delta_H$  3.91) with C-4', C-5', C-1''' ( $\delta_C$  121.2), C-2''' ( $\delta_C$  151.4) and C-6''' ( $\delta_C$  130.4). The oxygenated aromatic carbons C-2' and C-4' were substituted with hydroxy groups due to their low field  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts. Thus, compound 1 (cherrevenone A) was identified as (*E*)-1-(1,3-dihydroxy-2-(2-hydroxybenzyl)-9H-xanthen-4-yl)-3-phenylprop-2-en-1-one, which is the 7,8-didehydro analogue of isochamuvaritin [17].

Compound 2 was isolated as a yellow viscous oil and its molecular formula was deduced to be  $C_{23}H_{20}O_6$  based on the molecular ion peak at  $m/z$  391.1189  $[M - H]^-$  (calcd for  $C_{23}H_{19}O_6$ , 391.1182) in the negative ion HRESIMS. The UV, IR and NMR spectroscopic data of 2 (Table 1) were similar to those of 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (8) [3], except that the NMR resonances for the B-ring in 8 were replaced by resonances for a *p*-substituted benzene [ $\delta_H$  7.59 (2H, d,  $J = 8.6\text{ Hz}$ ) and 6.90 (2H, d,  $J = 8.6\text{ Hz}$ )]. The aromatic proton resonances for H-2/H-6 ( $\delta_H$  7.59/ $\delta_C$  131.3) showed HMBC cross peaks with C-4 ( $\delta_C$  160.8) and C-7 ( $\delta_C$  143.6). The aromatic carbon C-4 was substituent with a hydroxy group due to its low field  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shift. Thus, compound 2 (cherrevenone B) was determined to be 4,2',4'-trihydroxy-3'-(2-hydroxybenzyl)-6'-methoxychalcone (Fig. 2).

Compound 3 was obtained as a brown viscous oil and displayed a  $[M + Na]^+$  ion peak at  $m/z$  505.16209 (calcd for  $C_{30}H_{26}O_6Na$ , 505.16216) in the HRESIMS, corresponding to a molecular formula of  $C_{30}H_{26}O_6$ . The NMR spectroscopic data of 3 (Table 1) were similar to those 2',4'-dihydroxy-3'-(2-hydroxyphenyl)-6'-methoxychalcone (8) except for the additional resonances for a second 2-hydroxybenzyl moiety [ $\delta_H$  7.08 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6\text{ Hz}$ ), 7.02 (1H, td,  $J = 7.9, 1.6\text{ Hz}$ ), 6.83 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6\text{ Hz}$ ), 6.70 (1H, td,  $J = 7.9, 1.6\text{ Hz}$ ), 3.96 (2H, s)] and the lack of a resonances for H-5'. The benzylic methylene protons CH<sub>2</sub>-8' ( $\delta_H$  3.96/ $\delta_C$  24.4), for this 2-hydroxybenzyl group showed HMBC correlations with C-4' ( $\delta_C$  161.1), C-5' ( $\delta_C$  115.1)

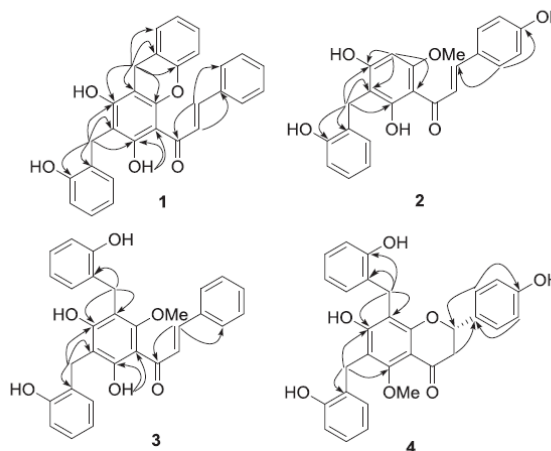


Fig. 2. Selected HMBC correlations (H → C) of compounds 1–4.

and C-1''' ( $\delta_C$  128.1) which confirmed placement of the 2-hydroxybenzyl group at C-5'. Therefore, compound 3 (cherrevenone C) was identified as 2',4'-dihydroxy-3',5'-di(2-hydroxybenzyl)-6'-methoxychalcone.

Compound 4 was obtained as a yellow viscous oil. Its molecular formula,  $C_{30}H_{26}O_7$  was deduced from HRESIMS which showed a  $[M + H]^+$  ion peak at  $m/z$  at 499.1743 (calcd  $C_{30}H_{27}O_7$ , for 499.1757). The UV spectrum showed maximum absorption bands at  $\lambda_{max}$  214, 280 and 328 nm which were consistent with a flavanone structure [12]. The IR spectrum displayed stretching bands for a hydroxy group ( $3339\text{ cm}^{-1}$ ), a carbonyl group ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ) and an aromatic ring ( $1585$  and  $1460\text{ cm}^{-1}$ ). The NMR spectroscopic data of 4 (Table 2) were similar to those of 5-O-methoxydichamanetin (9) except for the presence of resonances for a *p*-substituted benzene [ $\delta_H$  7.43 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ), 6.92 (2H, d,  $J = 8.2\text{ Hz}$ )] instead of those for a mono-substituted benzene in 9. The aromatic proton resonance for H-2'/H-6' ( $\delta_H$  7.43) showed HMBC correlations to C-2 ( $\delta_C$  79.7) and C-4' ( $\delta_C$  158.6). The low field chemical shift of C-4' suggested it was substituted with a hydroxy group. The methoxy group ( $\delta_H$  3.78) was located at C-5 ( $\delta_C$  159.3) from their mutual HMBC correlation. This was further supported from a 1D NOE difference experiment which showed an enhancement in the signal intensities of the resonances for H-6''' ( $\delta_H$  7.10) and CH<sub>2</sub>-12 ( $\delta_H$  3.92) upon selective irradiation of the methoxy group. The configuration of 4 was assigned as 2S from a comparison of the sign of its specific rotation ( $[\alpha]_D^{20} - 52.2$  (c 0.07, acetone)) with that of dichamanetin ( $[\alpha]_D^{21} - 9$  (c 2.3, acetone)), the O-demethyl analogue of 4 [18]. Thus, compound 4 (cherrevenone D) was determined as 2S-7,4'-dihydroxy-6,8-di(2-hydroxybenzyl)-5-methoxyflavanone.

Compounds 1–3, 5, 7, 10, 11, 14 and 15 were screened for their antimalarial activities against the *Plasmodium falciparum* strains, TM4/8.2 and K1CB1 (wildtype and multidrug resistant strains, respectively). Compounds 8, 9, 12 and 13 were tested earlier [5]. Compounds 1, 3, 5 and 11 showed moderate antimalarial activities with IC<sub>50</sub> values ranging between 21.0 to 33.7  $\mu\text{M}$  and 21.0–43.5  $\mu\text{M}$  against the TM4/8.2 and K1CB1 strains, respectively (Table 3). Compounds 2 and 10, were not active at 50  $\mu\text{M}$ . By comparing the antimalarial activities and the cytotoxicities of these compounds against noncancerous Vero cell lines, representing normal mammalian cells, these compounds, except for 3 and 5, are quite toxic with selectivity ratios (IC<sub>50</sub> ratios of Vero cells: K1CB1 cells) much < 1 (0.02–0.3). Derivatization of these compounds in the future may improve antimalarial activity with reduced cytotoxicities. These compounds were also tested for their cytotoxicity against KB cells (Table 3). Alkaloid 5 showed significant cytotoxicity against KB cells with an IC<sub>50</sub> value 4.91  $\mu\text{M}$  and had no cytotoxicity

**Table 3**  
Antimalarial and cytotoxic activities of the isolated compounds (IC<sub>50</sub>, μM).

| Compounds                  | Antimalarial activity against <i>P. falciparum</i> |              | Cytotoxic activity |                          |
|----------------------------|----------------------------------------------------|--------------|--------------------|--------------------------|
|                            | TM4/8.2                                            | K1CB1        | KB                 | Vero cells               |
| 1                          | 21.0 ± 3.10                                        | 21.0 ± 5.44  | 0.60 ± 0.17        | 0.61 ± 0.04 <sup>a</sup> |
| 2                          | <sup>b</sup>                                       | <sup>b</sup> | 2.76 ± 0.22        | 3.34 ± 0.40              |
| 3                          | <sup>b</sup>                                       | 43.5 ± 11.9  | <sup>b</sup>       | <sup>b</sup>             |
| 5                          | 33.7 ± 7.69                                        | 28.3 ± 0.76  | 4.91 ± 2.69        | <sup>b</sup>             |
| 10                         | <sup>b</sup>                                       | <sup>b</sup> | 4.07 ± 1.64        | 5.67 ± 2.73              |
| 11                         | 26.1 ± 5.80                                        | 29.3 ± 5.09  | 4.72 ± 2.47        | 5.18 ± 2.27              |
| Cycloguanil <sup>d</sup>   | 0.069 ± 0.01                                       | 10.2 ± 2.39  | <sup>c</sup>       | <sup>c</sup>             |
| Pyrimethamine <sup>d</sup> | 0.16 ± 0.04                                        | 46.2 ± 14.3  | 63.4 ± 7.76        | 32.24 ± 12.1             |
| Ellipticine <sup>e</sup>   |                                                    |              | 15.0 ± 1.63        | 15.6 ± 0.85              |

Compounds 7, 14 and 15 were inactive in all assays.

<sup>a</sup> Assays run in duplicate (all other in triplicate).

<sup>b</sup> Inactive at 50 μM.

<sup>c</sup> Inactive at 100 μM.

<sup>d</sup> Reference drugs for antiparasmodial activity.

<sup>e</sup> Reference drugs for cytotoxic assays.

against Vero cells at 50 μM with a selectivity ratio of > 10. The chalcone 1 exhibit strong cytotoxicity against KB cells but was equally toxic to Vero cell with IC<sub>50</sub> values of ca 0.6 μM. Chalcone 2 and the alkaloids 10 and 11 were also toxic against KB and Vero cells with IC<sub>50</sub> values in the ranges of 2.76–4.72 and 3.34–5.67 μM, respectively. In contrast, the compounds 3, 7, 14 and 15 were not cytotoxic against either cell line at 50 μM. Overall, most of these compounds were more cytotoxic than those previously isolated from the stem and root extract of this plant [5].

In conclusion, four new C-benzyl flavonoids (1–4) have been isolated, with compounds 1 and 2 showing significant cytotoxicities against KB and Vero cells. While C-benzyl flavonoids are known [3,5,7] these are a relatively rare subset of flavonoid natural products. Compared with our earlier study [5], on the stem and root extracts, only compounds 8, 9, 12 and 13 were found to be in common.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

#### Acknowledgements

This work was supported by the Thailand Research Fund and Office of the Higher Education Commission (Grant No. MRG6180098) and the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC). C.A. acknowledge a Science Achievement Scholarship of Thailand (SAST) and the Graduate School of Chiang Mai University. We would like also to thank the bioassay laboratory, BIOTEC, NSTDA, Pathumthani, Thailand for financial support from NSTDA's Cluster Program Management to S.K.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.08.020>.

#### References

- [1] P. Chalermglin, Annonaceous Plants, Amarin Printing and Publishing Public Co Ltd, Bangkok, 2001 pp 17.
- [2] L. Zhou, Y.C.F. Su, R.M.K. Saunders, Molecular phylogenetic support for a broader delimitation of *Uvaria* (Annonaceae), inclusive of *Anomianthus*, *Cyathostemma*, *Ellipeia*, *Ellipeiopsis* and *Rauwenhaffia*, Syst. Biodivers. 7 (2009) 249–258.
- [3] L. Wirasathien, T. Pengsuparp, M. Moriyasu, K. Kawanishi, R. Suttisri, Cytotoxic C-benzylate chalcone and other constituents of *Ellipeiopsis cherreensis*, Arch. Pharm. Res. 29 (2006) 497–502.
- [4] A. Kijjoa, J. Bessa, M.M.M. Pinto, C. Anatachoke, A.M.S. Silva, G. Eaton, W. Herz, Polyoxxygenated cyclohexene derivatives from *Ellipeiopsis cherreensis*, Phytochemistry 59 (2002) 543–549.
- [5] C. Auranwiwat, P. Wongsomboon, T. Thaima, R. Rattajak, S. Kamchonwongpaisan, A.C. Willis, W. Lie, S.G. Pyne, T. Limtharakul (née Ritthiwigrom), 2-Phenyl-naphthalenes and a polyoxxygenated cyclohexene from the stem and root extracts of *Uvaria cherreensis* (Annonaceae), Fitoterapia 120 (2017) 103–107.
- [6] R. Lekphrom, K. Kanokmedhakul, F. Schevenels, S. Kanokmedhakul, Antimalarial polyoxxygenated cyclohexene derivatives from the roots of *Uvaria cherreensis*, Fitoterapia 127 (2018) 420–424.
- [7] H.N. El-Sohly, W.L. Lasswell Jr., C.D. Hufford, Two new C-benzylated flavanones from *Uvaria chamae* and <sup>13</sup>C NMR analysis of flavanone methyl ethers, J. Nat. Prod. 42 (1979) 264–270.
- [8] M. Smilkstein, N. Sriwilaijaroen, J.X. Kelly, P. Wilairat, M. Riscoe, Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening, Antimicrob. Agents Chemother. 48 (2004) 1803–1806.
- [9] P. Wangchuk, P.A. Keller, S.G. Pyne, M. Tawechotipatr, A. Tonsomboon, R. Rattanakaj, S. Kamchonwongpaisan, Evaluation of an ethnopharmacologically selected Bhutanese medicinal plants for their major classes of phytochemicals and biological activities, J. Ethnopharmacol. 137 (2011) 730–742.
- [10] L. Hunt, M. Jordan, M. De Jesus, F.M. Wurm, GFP-expressing mammalian cells for fast, sensitive, noninvasive cell growth assessment in a kinetic mode, Biotechnol. Bioeng. 65 (1999) 201–205.
- [11] V. Vichai, K. Kirtikara, Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening, Nat. Protoc. 1 (2006) 1112–1116.
- [12] I. Muhammad, P.G. Waterman, Chemistry of the Annonaceae, part 18. Benzylated indoles and dihydrochalcones in *Uvaria angolensis* from Tanzania, J. Nat. Prod. 48 (1985) 571–580.
- [13] F.-L. Voon, M.R. Sulaiman, M.N. Akhtar, M.F. Idris, A. Akira, E.K. Perimal, D.A. Israf, L. Ming-Tatt, Cardamonin (2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone) isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. inhibits CFA-induced rheumatoid arthritis in rats, Eur. J. Pharmacol. 794 (2017) 127–134.
- [14] E.M. Anam, 7-O-Methylbenzylflavanones and 4'-O-methylbenzyl-dihydrochalcone from *Xylopia africana*, Ind. J. Chem. Sec. B 9 (1994) 870–873.
- [15] C.-S. Wu, Z.-M. Lin, L.-N. Wang, D.-X. Guo, S.-Q. Wang, Y.-Q. Liu, H.-Q. Yuan, H.-X. Lou, Phenolic compounds with NF-κB inhibitory effects from the fungus *Phellinus baumii*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 21 (2011) 3261–3267.
- [16] M.D. Awouafack, P. Tane, H. Morita, Flavonoids - from Biosynthesis to Human Health Chapter 3. Isol. Struct. Charac. Flavonoids, <https://doi.org/10.5772/67881>
- [17] M. Ichimaru, N. Nakatani, T. Takahashi, Y. Nishiyama, M. Moriyasu, A. Kato, S.G. Mathenge, F.D. Juma, J.N. Nganga, Cytotoxic C-benzylated dihydrochalcones from *Uvaria acuminata*, Chem. Pharm. Bull. 52 (2004) 138–141.
- [18] H. Achenbach, M. Höhn, R. Waibel, M.H.H. Nkunya, S.A. Jonker, S. Muhié, Oxygenated pyrenes, their potential biosynthetic precursor and benzylated dihydroflavones from two african *Uvaria* species, Phytochemistry 44 (1997) 359–364.

Polyoxygenated Cyclohexenes and Their Chlorinated Derivatives from the Leaves of *Uvaria cherrevensis*

Chiramet Auranwiwat,<sup>†,‡</sup> Puttandon Wongsomboon,<sup>†</sup> Thanaphat Thaima,<sup>‡</sup> Roonglawan Rattanajak,<sup>§</sup> Sumalee Kamchonwongpaisan,<sup>§</sup> Anthony C. Willis,<sup>‡</sup> Surat Laphookhieo,<sup>||</sup> Stephen G. Pyne,<sup>‡</sup> and Thunwadee Limtharakul<sup>\*,†,||</sup>

<sup>†</sup>Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, the Graduate School and Research Center on Chemistry for Development of Health Promoting Products from Northern Resources, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>‡</sup>School of Chemistry, University of Wollongong, Wollongong, New South Wales 2522, Australia

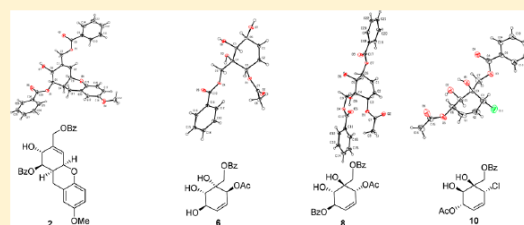
<sup>§</sup>Medical Molecular Biology Research Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand Science Park, Pathumthani 12120, Thailand

<sup>‡</sup>Research School of Chemistry, Australia National University, Canberra, ACT 2601, Australia

<sup>||</sup>Center of Chemical Innovation for Sustainability (CIS) and School of Science, Mae Fah Luang University, Tasud, Muang, Chiang Rai 57100, Thailand

## Supporting Information

**ABSTRACT:** The chemical study of leaf extracts from *Uvaria cherrevensis* resulted in the identification of 11 new polyoxygenated cyclohexenes, cherrevenols A–K (1–11), and a new seco-cyclohexene derivative, cherrevenol L (12). Nine known compounds (13–21) were also isolated. Three of the isolated compounds are chlorinated polyoxygenated cyclohexenes. The structures of these compounds were determined using spectroscopic methods and, in some cases (compounds 2, 6, 8, and 10), single-crystal X-ray crystallographic structural analysis or chemical correlation (compounds 6 and 7). Compounds 6 and 7 were both isolated as scalemic mixtures (ee 23–24%).



Plants in the *Uvaria* genus belong to the Annonaceae family, with 26 species found in Thailand.<sup>1</sup> The roots of *Uvaria cherrevensis*, having the local name “Nom Meaw Pa”, have been used to treat kidney disorders and ailments of the blood system and the small intestine.<sup>2</sup> Previous studies on this species have resulted in the identification of flavonoids, alkaloids, naphthalenes, terpenoids, and polyoxygenated cyclohexenes,<sup>2–6</sup> with some of these having antimalarial, antibacterial, and cytotoxic activities.<sup>2,3,5,6</sup> In our previous report, the isolation of naphthalenes, flavonoids, and polyoxygenated cyclohexenes from the stem, root, and fruit extracts of *U. cherrevensis* was described.<sup>2,3</sup> In this paper, the structural identification of 12 new and nine known compounds from the extract of the leaves of *U. cherrevensis* is reported.

## RESULTS AND DISCUSSION

The acetone leaf extract of *U. cherrevensis* was separated by column chromatography to provide 11 new polyoxygenated cyclohexenes, cherrevenols A–K (1–11), and a new seco-cyclohexene, cherrevenol L (12), together with nine known compounds: uvamalol F (13),<sup>7</sup> (–)-1,6-desoxypipoxide (14),<sup>8</sup> ellipseiopsol B (15),<sup>4</sup> uvaridapoxide A (16),<sup>9</sup> (1R,2R,3R,6S)-pipoxide (17),<sup>10</sup> (–)-6-acetylzeylenol (18),<sup>11</sup> ferrudiol (19),<sup>5</sup>

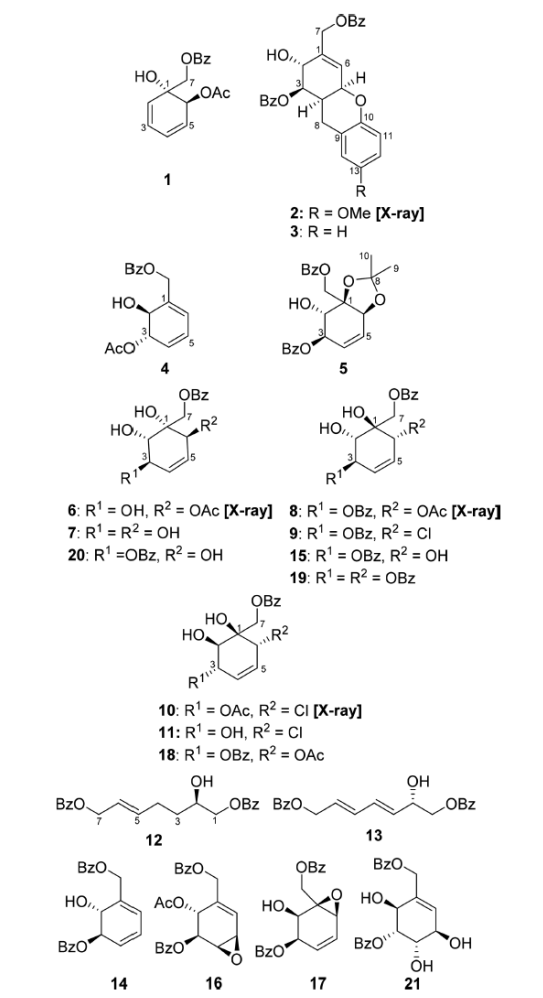
zeylenol (20),<sup>4</sup> and piperenol A (21)<sup>12</sup> (Chart 1). The structures of these compounds were established by spectroscopic techniques and, in some cases, by single-crystal X-ray crystallography.

Compound 1 [ $[\alpha]_D^{26} + 41$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>)] was obtained as a yellow oil. Its molecular formula, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>, was deduced from the HRESIMS data that showed an  $[M + Na]^+$  ion at  $m/z$  311.0900 (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>Na, 311.0895). The UV spectrum showed an absorption maximum at 228 nm, and the IR spectrum displayed bands for hydroxy and carbonyl functional groups at 3340 and 1721 cm<sup>–1</sup>, respectively. The <sup>1</sup>H NMR data (Table 1) showed resonances for a benzoate group [ $\delta_H$  8.04 (2H, d,  $J$  = 7.8 Hz), 7.58 (1H, t,  $J$  = 7.8 Hz), 7.45 (2H, t,  $J$  = 7.8 Hz)], four (Z)-olefinic protons [ $\delta_H$  6.08 and 6.07 (each 1H, t,  $J$  = 10.5 Hz) and 5.87 and 5.84 (each 1H, d,  $J$  = 10.5 Hz)], a deshielded oxymethine proton  $\delta_H$  5.74 (1H, br s), two diastereotopic methylene protons [ $\delta_H$  4.54 and 4.45 (each 1H, d,  $J$  = 11.5 Hz)], and an acetoxy group [ $\delta_H$  2.05 (3H, s)]. The <sup>13</sup>C NMR data (Table 1) exhibited resonances for a benzoate moiety [ $\delta_C$  166.7, 133.4, 129.9 (2C), 128.7,

Received: September 18, 2018

Published: January 4, 2019

Chart 1



128.6 (2C)], four olefinic carbons ( $\delta_C$  129.8, 126.5, 125.4, 125.3), an acetoxy group ( $\delta_C$  171.3, 21.1), an oxygenated tertiary carbon ( $\delta_C$  73.1), an oxymethine carbon ( $\delta_C$  75.7), and a methylene carbon ( $\delta_C$  66.3). The protons H-2 ( $\delta_H$  5.84/ $\delta_C$  129.8), H-3 ( $\delta_H$  6.08/ $\delta_C$  125.4), H-4 ( $\delta_H$  6.07/ $\delta_C$  125.3), H-5 ( $\delta_H$  5.87/ $\delta_C$  126.5), and H-6 ( $\delta_H$  5.74/ $\delta_C$  75.7) formed part of a contiguous spin system from their COSY correlations. The olefinic proton H-3 showed HMBC correlations to C-1 ( $\delta_C$  73.1) and C-5, while H-4 showed HMBC correlations to C-2 and C-6. The methylene group CH<sub>2</sub>-7 was linked to C-1 and the benzoate group from its HMBC correlations to C-1 and the benzoate carbonyl carbon ( $\delta_C$  166.7). The acetoxy group was attached at C-6 from the HMBC correlation of H-6 to the carbonyl carbon of the acetoxy group ( $\delta_C$  171.3). The oxygenated tertiary carbon C-1 was attached to a hydroxy group from its low-field <sup>13</sup>C NMR chemical shift. The lack of a NOESY correlation between H-6 and CH<sub>2</sub>-7 was consistent with the *anti*-relationship between these protons. A comparison of the specific rotation of **1**  $\{[\alpha]_D^{26} +41$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  with that of the related synthetic compound (+)-(1S,2S)-1-

Table 1. <sup>1</sup>H (500 MHz) and <sup>13</sup>C (125 MHz) NMR Spectroscopic Data of Compounds **1** and **4** in CDCl<sub>3</sub>

| position | 1 <sup>a</sup>                   |                      | 4                                |                      |
|----------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|
|          | $\delta_H$ (J in Hz)             | $\delta_C$ , type    | $\delta_H$ (J in Hz)             | $\delta_C$ , type    |
| 1        |                                  | 73.1 C               |                                  | 135.2 C              |
| 2        | 5.84, d (10.5)                   | 129.8 CH             | 4.52, d (7.5)                    | 70.3 CH              |
| 3        | 6.08, t (10.5)                   | 125.4 CH             | 5.54, ddd (7.5, 3.9, 1.5)        | 75.2 CH              |
| 4        | 6.07, t (10.5)                   | 125.3 CH             | 5.85, td (9.3, 3.9)              | 122.9 CH             |
| 5        | 5.87, d (10.5)                   | 126.5 CH             | 6.08, td (5.5, 1.5)              | 125.6 CH             |
| 6        | 5.74, br s                       | 75.7 CH              | 6.12, ddd (9.3, 5.5, 1.5)        | 125.2 CH             |
| 7        | 4.54, d (11.5)<br>4.45, d (11.5) | 66.3 CH <sub>2</sub> | 5.09, d (13.4)<br>4.95, d (13.4) | 64.8 CH <sub>2</sub> |
| 1'       |                                  | 128.7 C              |                                  | 129.9 C              |
| 2', 6'   | 8.04, d (7.8)                    | 129.9 CH             | 8.05, dd (8.4, 1.3)              | 129.8 CH             |
| 3', 5'   | 7.45, t (7.8)                    | 128.6 CH             | 7.45, t (8.4)                    | 128.6 CH             |
| 4'       | 7.58, t (7.8)                    | 133.4 CH             | 7.56, dd (8.4, 1.3)              | 133.4 CH             |
| 1-OCOMe  |                                  |                      |                                  | 171.2 C              |
| 1-OCOMe  |                                  |                      | 2.09, s                          | 21.3 CH <sub>3</sub> |
| 6-OCOMe  |                                  | 171.3 C              |                                  |                      |
| 6-OCOMe  | 2.05, s                          | 21.1 CH <sub>3</sub> |                                  |                      |
| 7-CO     |                                  | 166.7 C              |                                  | 166.6 C              |

<sup>a</sup><sup>1</sup>H NMR determined at 400 MHz.

methyl-3,5-cyclohexadiene-1,2-diol<sup>13</sup>  $\{[\alpha]_D^{20} +45$  (c 0.6, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  suggested that compound **1** (cherrevenol A) had the (1R,6S) configuration.

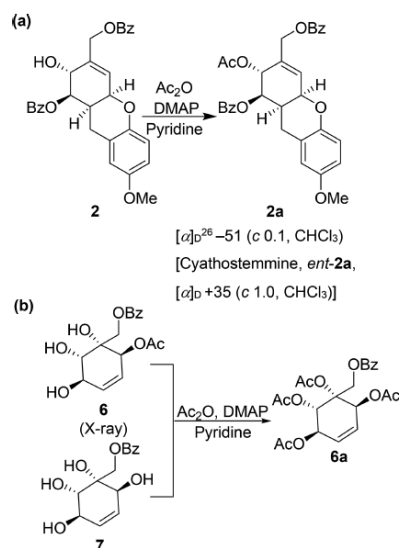
Compound **2**  $\{[\alpha]_D^{25} -30$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  was isolated as white crystals, mp 132–134 °C. Its molecular formula, C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>, was deduced from the HRESIMS data, which showed an  $[M + Na]^+$  ion at  $m/z$  509.1578 (calcd for C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>Na, 509.1576). The NMR spectroscopic data of **2** (Table 2) closely matched those of cyathostemmene [ent-2a, Scheme 1(a)] isolated from *Cyathostemma viridiflorum*<sup>14</sup> except that the acetoxy group at C-2 in ent-2a was replaced by a hydroxy group in compound **2**, which was evidenced by the more shielded <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of H-2/C-2 in **2**. NOESY correlations were used to determine the relative configuration of **2**. The methine protons H-4 ( $\delta_H$  2.88) and H-5 ( $\delta_H$  4.97) exhibited a correlation in the NOESY spectrum indicating a *cis*-fused bicyclic ring, similar to that found in cyathostemmene (ent-2a). A NOESY correlation between H-2 ( $\delta_H$  4.57) and one of the C-8 methylene protons ( $\delta_H$  2.77) was also observed, consistent with the *cis*-fused ring structure of **2** (Figure 2). The specific rotation of **2**  $\{[\alpha]_D^{25} -30$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  was opposite in sign to that of cyathostemmene  $\{[\alpha]_D^{25} +35$  (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) $\}$ . Acetylation of **2** afforded **2a** [Scheme 1(a)], which had identical NMR spectroscopic data to those of cyathostemmene (ent-2a) but had a specific rotation of opposite sign  $\{[\alpha]_D^{26} -51$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$ . The absolute

Table 2.  $^1\text{H}$  (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) NMR Spectroscopic Data of Compounds 2, 2a, and 3 in  $\text{CDCl}_3$ 

| position              | 2                             |                            | 2a                            |                            | 3                             |                            |
|-----------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
|                       | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type |
| 1                     |                               | 135.5 C                    |                               | 129.5 C                    |                               | 135.4 C                    |
| 2                     | 4.57, t (4.4)                 | 67.9 CH                    | 6.08, d (7.0)                 | 68.4 CH                    | 4.58, d (5.7)                 | 67.8 CH                    |
| 3                     | 5.42, dd (5.9, 3.6)           | 77.4 CH                    | 5.53, dd (7.0, 3.1)           | 74.1 CH                    | 5.43, dd (5.7, 3.6)           | 77.4 CH                    |
| 4                     | 2.88, m                       | 33.7 CH                    | 2.94, m                       | 34.5 CH                    | 2.89, m                       | 33.6 CH                    |
| 5                     | 4.97, br s                    | 70.4 CH                    | 5.05, br s                    | 70.4 CH                    | 5.01, br s                    | 70.4 CH                    |
| 6                     | 6.14, br s                    | 129.6 CH                   | 6.23, br s                    | 131.7 CH                   | 6.16, br s                    | 129.2 CH                   |
| 7                     | 5.15, d (13.3)                | 64.9 $\text{CH}_2$         | 4.89, d (13.8)                | 64.1 $\text{CH}_2$         | 5.14, d (13.3)                | 64.9 $\text{CH}_2$         |
|                       | 4.81, d (13.3)                |                            | 4.76, d (13.8)                |                            | 4.83, d (13.3)                |                            |
| 8                     | 2.98, dd (15.8, 6.3)          | 23.8 $\text{CH}_2$         | 2.94, m                       | 23.3 $\text{CH}_2$         | 3.03, dd (15.5, 6.0)          | 23.5 $\text{CH}_2$         |
|                       | 2.77, dd (15.5, 8.5)          |                            |                               |                            | 2.77, dd (15.5, 8.6)          |                            |
| 9                     |                               | 121.1 C                    |                               | 120.8 C                    |                               | 120.4 C                    |
| 10                    |                               | 147.5 C                    |                               | 147.3 C                    |                               | 153.6 C                    |
| 11                    | 6.77, d (8.9)                 | 117.5 CH                   | 6.76, d (8.9)                 | 117.5 CH                   | 6.85, dd (7.4, 1.0)           | 116.8 CH                   |
| 12                    | 6.65, dd (8.9, 3.0)           | 113.8 CH                   | 6.63, dd (8.9, 3.0)           | 113.8 CH                   | 7.07, br t (7.4)              | 127.6 CH                   |
| 13                    |                               | 153.7 C                    |                               | 153.7 C                    | 6.80, td (7.4, 1.0)           | 120.7 CH                   |
| 14                    | 6.56, d (3.0)                 | 113.9 CH                   | 6.56, d (3.0)                 | 113.9 CH                   | 7.01, br d (7.4)              | 129.4 CH                   |
| 1 <sup>ab</sup>       |                               | 129.7 C                    |                               | 132.2 C                    |                               | 129.7 C                    |
| 2', 6' <sup>a</sup>   | 7.92, d (8.2)                 | 129.9 CH                   | 7.96, dd (8.4, 1.4)           | 129.9 CH                   | 7.89, dd (8.0, 1.2)           | 129.9 CH                   |
| 3', 5' <sup>a</sup>   | 7.39, t (8.2)                 | 128.5 CH                   | 7.41, t (8.4)                 | 128.6 CH                   | 7.38, t (8.0)                 | 128.5 CH                   |
| 4' <sup>a</sup>       | 7.54, t (8.2)                 | 133.4 CH                   | 7.55, m                       | 133.4 CH                   | 7.54, tt (8.0, 1.2)           | 133.4 CH                   |
| 1 <sup>ab</sup>       |                               | 129.8 C                    |                               | 132.2 C                    |                               | 129.8 C                    |
| 2'', 6'' <sup>b</sup> | 8.02, d (8.2)                 | 130.0 CH                   | 8.01, dd (8.4, 1.4)           | 130.0 CH                   | 8.02, dd (8.0, 1.2)           | 130.0 CH                   |
| 3'', 5'' <sup>b</sup> | 7.43, t (8.2)                 | 128.6 CH                   | 7.43, t (8.4)                 | 128.6 CH                   | 7.42, t (8.0)                 | 128.6 CH                   |
| 4'' <sup>b</sup>      | 7.58, t (8.2)                 | 133.4 CH                   | 7.55, m                       | 133.5 CH                   | 7.56, tt (8.0, 1.2)           | 133.4 CH                   |
| 2-COMe                |                               |                            |                               | 170.3 C                    |                               |                            |
| 2-COMe                |                               |                            | 2.02, s                       | 21.0 $\text{CH}_3$         |                               |                            |
| 3-CO                  |                               | 166.8 C                    |                               | 166.1 C                    |                               | 166.8 C                    |
| 7-CO                  |                               | 166.7 C                    |                               | 165.9 C                    |                               | 166.7 C                    |
| 13-OMe                | 3.70, s                       | 55.9 $\text{CH}_3$         | 3.69, s                       | 55.8 $\text{CH}_3$         |                               |                            |

<sup>a</sup>Aromatic carbons at C-7 OBz. <sup>b</sup>Aromatic carbons at C-3 OBz.

## Scheme 1. Acetylation of Compounds 2, 6, and 7

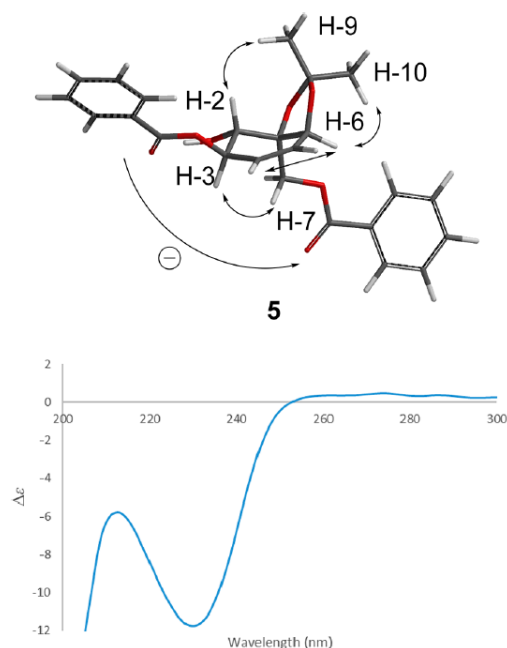


configuration of 2 was established by a single-crystal X-ray structural analysis (Figure 2) using Cu  $K\alpha$  radiation with the Flack parameter = 0.03(20). Thus, cherrevenol B (2) was the

enantiomeric *O*-deacetyl analogue of cyathostemmine possessing the (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*) absolute configuration.

Compound 3 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -26$  (c 0.2,  $\text{CHCl}_3$ )) was obtained as a brown, viscous oil. The HRESIMS data exhibited an ion at  $m/z$  479.1476 ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$ , 479.1471), indicating the molecular formula of  $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_6$ . The UV, IR, and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data of 3 (Table 2) were similar to those of 2. The main difference was that the  $^1\text{H}$  NMR resonance for the C-13 methoxy in 2 was substituted by an aromatic proton resonance in 3 which formed part of a 1,2-disubstituted benzene moiety [ $\delta_{\text{H}}$  7.07 (1H, br t,  $J = 7.4$  Hz), 7.01 (1H, br d,  $J = 7.4$  Hz), 6.85 (1H, dd,  $J = 7.4, 1.0$  Hz), 6.80 (1H, td,  $J = 7.4, 1.0$  Hz)]. The NOESY correlations between H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.58) and a C-8 methylene proton ( $\delta_{\text{H}}$  2.77) and between H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  2.89) and H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  5.01) indicated 3 had the same relative configuration as 2. The (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*) absolute configuration of cherrevenol C (3) was assigned from comparison of its specific rotation value ( $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -26$  (c 0.2,  $\text{CHCl}_3$ )) with that of 2 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -30$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )).

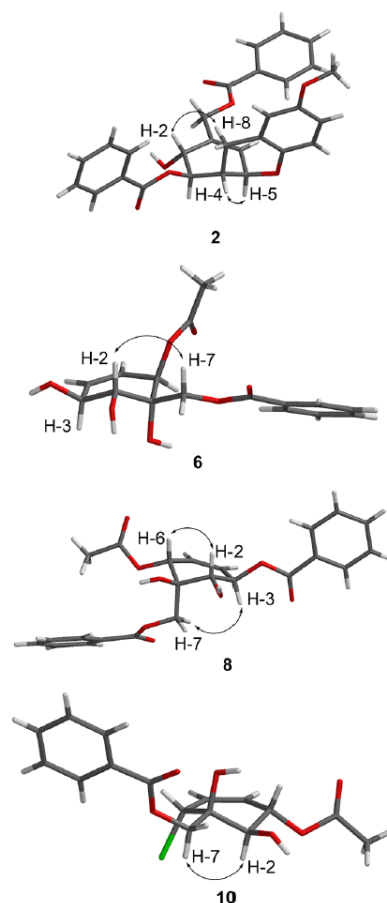
Compound 4 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +228$  (c 0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) was obtained as a brown oil. The molecular formula was  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$ , based on the molecular ion at  $m/z$  311.08901 ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd 311.08899) in the HRESIMS data. The UV spectrum showed  $\lambda_{\text{max}}$  at 237 nm, and the IR spectrum exhibited bands for hydroxy and carbonyl groups at 3456 and 1718  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. The  $^1\text{H}$  NMR spectroscopic data of 4 (Table 1) were highly similar to those of the synthesized compound (2*R*)-*trans*-3-acetoxy-2-hydroxy-1-[(benzoyloxy)methyl]-



**Figure 1.** NOE correlations ( $\leftrightarrow$ ), exciton chirality model, and ECD spectra for compound **5** (structure was generated in SPARTAN (MMFF) with the lowest energy conformer shown).

cyclohexa-4,6-diene, which had a specific rotation of opposite sign  $\{[\alpha]_D^{25} -132$  ( $c$  0.6,  $\text{CHCl}_3$ ) $\}$ .<sup>15</sup> Thus, cherrevenol D (**4**) is the enantiomer of the aforementioned synthesized compound.

Compound **5**  $\{[\alpha]_D^{24} -134$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ) $\}$  was isolated as a white, amorphous solid, mp 92–94 °C, and its molecular formula was shown to be  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_7$ , based on the molecular ion peak at  $m/z$  447.1422  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$ , 447.1420) in the HRESIMS data. The UV spectrum exhibited  $\lambda_{\text{max}}$  at 230 nm, and the IR spectrum displayed bands for hydroxy ( $3475\text{ cm}^{-1}$ ) and carbonyl ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ) groups. The  $^1\text{H}$  NMR spectroscopic data (Table 3) displayed resonances for two benzoate groups [ $\delta_{\text{H}}$  8.08 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz), 7.59 (1H, t,  $J = 8.2$  Hz), 7.48 (2H, t,  $J = 8.2$  Hz) and  $\delta_{\text{H}}$  8.05 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz), 7.59 (1H, t,  $J = 8.2$  Hz), 7.45 (2H, t,  $J = 8.2$  Hz)], two mutually coupled (*Z*)-olefinic protons [ $\delta_{\text{H}}$  6.04 (1H, d,  $J = 10.4$ , 4.1 Hz) and 5.98 (1H, d,  $J = 10.4$  Hz)], three oxymethine protons [ $\delta_{\text{H}}$  5.82 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 4.76 (1H, d,  $J = 4.1$  Hz), and 4.27 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz)], two diastereotopic methylene protons [ $\delta_{\text{H}}$  4.80 and 4.64 (each 1H, d,  $J = 11.9$  Hz)], and two methyl groups [ $\delta_{\text{H}}$  1.59 and 1.46 (each 3H, s)]. The  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data (Table 3) exhibited resonances for two sets of benzoate groups ( $\delta_{\text{C}}$  166.8, 133.5, 130.0 (2C), 129.8 and 128.7 (2C) and 166.3, 133.4, 129.9 (2C) and 129.7 and 128.6 (2C)), two olefinic carbons ( $\delta_{\text{C}}$  131.2 and 125.3), a dioxygenated secondary carbon ( $\delta_{\text{C}}$  111.4), an oxygenated tertiary carbon ( $\delta_{\text{C}}$  82.4), three oxymethine carbons ( $\delta_{\text{C}}$  74.6, 74.1, and 73.4), and a methylene carbon ( $\delta_{\text{C}}$  62.4). The protons H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.27/ $\delta_{\text{C}}$  74.1), H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.82/ $\delta_{\text{C}}$  73.4), H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5.98/ $\delta_{\text{C}}$  131.2), H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  6.04/ $\delta_{\text{C}}$  125.3), and H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  4.76/ $\delta_{\text{C}}$  74.6) formed part of a contiguous spin system from their COSY correlations. This was supported by the HMBC correlations of H-4 with C-2 and H-5 with C-1



**Figure 2.** Single-crystal X-ray structures of compounds **2**, **6**, **8**, and **10** with key NOE correlations ( $\leftrightarrow$ ) indicated from solution 1D NOE NMR experiments. Interhydrogen distances were  $<3$  Å for all pairs of hydrogens showing the indicated NOE correlations.

( $\delta_{\text{C}}$  82.4) and C-3. One benzoate group was located at C-3 from the HMBC correlation of H-3 with the carbonyl group of the benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.8). HMBC correlations were observed between the oxymethine proton H-6 and C-4 and C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  62.4). The C-7 methylene carbon was linked to C-1 and was connected to the other benzoate group from the HMBC correlations of H-7 with C-1 and the carbonyl of the benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.3). Both methyl groups ( $\delta_{\text{H}}$  1.59 and 1.46) showed HMBC correlations with the dioxygenated secondary carbon C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  111.4). These correlations along with the chemical shift of C-8 indicated an acetonide-type moiety. The acetonide feature found in **5** has not been found in related natural products.<sup>16</sup> Thus, **5** is likely an artifact formed during the extraction process using acetone. However, the putative 1,6-diol precursor could not be isolated to test this possibility. The C-2 and C-3 relative configurations were determined from the  $J_{2,3}$  value of 9.2 Hz, which corresponds to *trans* 1,2-diaxial protons (Figure 1). 1D NOE difference NMR experiments showed significant increases in the intensity of the resonances of H-3, CH<sub>2</sub>-7, and CH<sub>3</sub>-10 ( $\delta_{\text{H}}$  1.46) after irradiation of H-6, while irradiation of H-2 caused an enhancement of signal intensity of the resonance for CH<sub>3</sub>-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.59) (Figure 1). A

Table 3.  $^1\text{H}$  (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) NMR Spectroscopic Data of Compounds 5 and 12 in  $\text{CDCl}_3$

| position              | 5 <sup>a</sup>                         |                     |               | 12                                                   |                     |               |
|-----------------------|----------------------------------------|---------------------|---------------|------------------------------------------------------|---------------------|---------------|
|                       | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)          | $\delta_{\text{C}}$ | type          | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)                        | $\delta_{\text{C}}$ | type          |
| 1                     |                                        | 82.4                | C             | 4.40, dd<br>(11.5, 3.2)<br>4.25, dd<br>(11.5, 6.9)   | 69.2                | $\text{CH}_2$ |
| 2                     | 4.27, d (9.2)                          | 74.1                | CH            | 4.02, m                                              | 69.7                | CH            |
| 3                     | 5.82, d (9.2)                          | 73.4                | CH            | 1.70, q (7.3)                                        | 32.7                | $\text{CH}_2$ |
| 4                     | 5.98, d<br>(10.4)                      | 131.2               | CH            | 2.33, dt,<br>(13.6, 6.5)<br>2.26, dt,<br>(13.6, 6.5) | 28.4                | $\text{CH}_2$ |
| 5                     | 6.04, dd<br>(10.4, 4.1)                | 125.3               | CH            | 5.90, dt<br>(13.6, 6.6)                              | 135.2               | CH            |
| 6                     | 4.76, d (4.1)                          | 74.6                | CH            | 5.77, dt<br>(15.4, 6.1)                              | 125.1               | CH            |
| 7                     | 4.80, d<br>(11.9)<br>4.64, d<br>(11.9) | 62.4                | $\text{CH}_2$ | 4.78, d (6.1)                                        | 65.6                | $\text{CH}_2$ |
| 8                     |                                        | 111.4               | C             |                                                      |                     |               |
| 9                     | 1.59, s                                | 28.7                | $\text{CH}_3$ |                                                      |                     |               |
| 10                    | 1.46, s                                | 26.7                | $\text{CH}_3$ |                                                      |                     |               |
| 1 <sup>ac</sup>       |                                        | 129.7               | C             |                                                      | 130.0               | C             |
| 2', 6' <sup>ab</sup>  | 8.05, d (8.2)                          | 129.9               | CH            | 8.05, d (7.8)                                        | 129.8               | CH            |
| 3', 5' <sup>ab</sup>  | 7.45, t (8.2)                          | 128.6               | CH            | 7.45, d (7.8)                                        | 128.6               | CH            |
| 4' <sup>ab</sup>      | 7.59, t (8.2)                          | 133.4               | CH            | 7.58, t (7.8)                                        | 133.4               | CH            |
| 1 <sup>ac</sup>       |                                        | 129.8               | C             |                                                      | 129.9               | C             |
| 2'', 6'' <sup>c</sup> | 8.08, d (8.2)                          | 130.0               | CH            | 8.05, d (7.8)                                        | 129.7               | CH            |
| 3'', 5'' <sup>c</sup> | 7.48, t (8.2)                          | 128.7               | CH            | 7.43, d (7.8)                                        | 128.5               | CH            |
| 4'' <sup>ab</sup>     | 7.59, t (8.2)                          | 133.5               | CH            | 7.55, t (7.8)                                        | 133.1               | CH            |
| 1-CO                  |                                        |                     |               |                                                      | 166.9               | C             |
| 3-CO                  |                                        | 166.8               | C             |                                                      | -                   | -             |
| 7-CO                  |                                        | 166.3               | C             |                                                      | 166.6               | C             |

<sup>a</sup> $^{13}\text{C}$  NMR determined at 125 MHz. <sup>b</sup>Aromatic carbons at C-7 OBz.

<sup>c</sup>Aromatic carbons at C-3 OBz of 5 and C-1 OBz of 12.

negative Cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{230} -11.8$ ) was observed in the ECD spectrum of 5 that indicated the orientation of the electronic transition for the two benzoate groups was anticlockwise (Figure 1).<sup>17,18</sup> Thus, cherrevenol E (5) was assigned the (1*R*,2*S*,3*R*,6*S*) absolute configuration.

Compound 6 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{26} -65$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) was isolated as white crystals, mp 156–158 °C. Its molecular formula,  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_7$ , was deduced from its HRESIMS data that showed an  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  ion at  $m/z$  345.09433 (calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$ , 345.09447). The UV, IR, and NMR spectroscopic data (Tables 4 and 5) were similar to those of ellpeipsol D (the 3-*O*-acetyl derivative of 6) isolated from the roots of this plant<sup>4</sup> except that the C-3 acetoxy group was replaced by a C-3 hydroxy group ( $\delta_{\text{H}}$  4.32/ $\delta_{\text{C}}$  70.8) in 6. The olefinic H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5.90/ $\delta_{\text{C}}$  135.8) showed HMBC correlations with C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  74.4) and C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  71.4). The acetoxy group was located at C-6 from the HMBC correlation of H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.41) to the acetyl carbonyl carbon ( $\delta_{\text{C}}$  170.0). The C-2 and C-7 relative configurations were indicated from their NOESY correlation (Figure 2). The configuration of 6 was similar to ellpeipsol D from a comparison of its  $^1\text{H}$  NMR coupling constants and its ECD spectrum, which also showed a negative Cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{222} -0.42$ ). Compound 6 (cherrevenol F) crystallized as a racemate, and the single-crystal X-ray structure indicated its relative configuration as (1*S*\*,2*S*\*,3*R*\*,6*S*\*) (Figure 2).

Compound 6 was acylated to afford the tetraacetate 6a [Scheme 1(b)]. Analysis of 6a by chiral-phase HPLC indicated that it was a scalemic mixture, with an ee of 23%.

Compound 7 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -39$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ) ( $[\Delta\epsilon]_{227} -1.11$ )) was obtained as a brown, viscous oil. Its molecular formula,  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6$ , was deduced from the HRESIMS data that showed an  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  ion at  $m/z$  303.08391 (calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{Na}$ , 303.08391). The NMR spectroscopic data of 7, including the NOESY correlation between H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  3.77) and H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.58) (Tables 4 and 5), showed that it had a similar structure to that of 6 except that the C-6 acetoxy group was replaced by a hydroxy group ( $\delta_{\text{H}}$  4.26/ $\delta_{\text{C}}$  71.2) in 7. When compound 7 was acetylated, it afforded 6a, which was also a scalemic mixture with an ee of 24% [Scheme 1(b)]. From chiral-phase HPLC analysis and the signs of their specific rotations, the major enantiomer of this tetraacetate was the same as that obtained from 6; thus the major enantiomers of 6 and 7 have the identical absolute configurations. Thus, cherrevenol G (7) was assigned the relative (1*S*\*,2*S*\*,3*R*\*,6*S*\*) configuration.

Compound 8 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{22} -114$  ( $c$  0.1, MeOH)) was isolated as white crystals, mp 112–114 °C. The HRESIMS data exhibited an ion at  $m/z$  449.12056 ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$ , 449.12069), corresponding to a molecular formula of  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_8$ . The UV, IR, and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data (Tables 4 and 5) were similar to those of 6 except for an additional set of benzoate group resonances at [ $\delta_{\text{H}}$  8.04 (2H, dd,  $J = 7.4, 1.6$  Hz), 7.59 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), and 7.47 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz)]. This benzoate group was attached at C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  73.1) based on the HMBC correlation of H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.81) with the carbonyl carbon of this benzoate ( $\delta_{\text{C}}$  166.8) moiety. The relative configuration of 8 was determined from the magnitude of  $J_{2,3}$  (8.6 Hz), which corresponded to a *trans* 1,2-diaxial-like coupling, and from the NOESY spectrum, which showed correlations between H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.21) and H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.58) and H-3 and  $\text{CH}_2$ -7 (Figure 2). The ECD spectrum displayed a negative Cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{230} -7.11$ ) that indicated that the two benzoate groups were oriented in an anticlockwise arrangement based on the exciton coupling of these chromophores.<sup>17,18</sup> The absolute configuration of cherrevenol H (8) was defined as (1*R*,2*S*,3*R*,6*R*) from a single-crystal X-ray structural analysis [Figure 2, Cu  $K\alpha$  radiation, Flack parameter = 0.16(10)], which also validated the above ECD analysis and indicated that 8 was a diastereomer of (–)-6-acetylzeyleanol (18).<sup>11</sup>

Compound 9 ( $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -133$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ )) was isolated as a yellow, amorphous solid with mp 124–126 °C and showed an  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  ion at  $m/z$  425.07627 (calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}^{35}\text{ClO}_6\text{Na}$ , 425.07624) in the HRESIMS data, corresponding to a molecular formula of  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}^{35}\text{ClO}_6$ . The UV, IR, and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data (Tables 4 and 5) were similar to those of 8 except that the resonances for the acetoxy group were absent. The C-6 acetoxy group was replaced by a 6-chloro substituent in 9, resulting in a higher field chemical shift in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum for C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  64.5). The low-resolution MS data showed the characteristic isotope peaks for a molecule having a chlorine substituent ( $m/z$  425  $[\text{M}]^+$  and 427  $[\text{M} + 2]^+$  (ratio 3:1)). The chlorine substituent was at C-6 from the HMBC correlations of H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.16/ $\delta_{\text{C}}$  76.4) and  $\text{CH}_2$ -7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.69 and 4.62/ $\delta_{\text{C}}$  64.2) to C-6. The relative configurations of C-2 and C-3 were assigned from the  $J_{2,3}$  value of 8.3 Hz, which indicated that these had a *trans* 1,2-diaxial-like relationship. In the 1D NOE difference NMR experiment H-2 and H-3 were sequentially irradiated,

Table 4. <sup>1</sup>H NMR Spectroscopic Data (500 MHz) of Compounds 6–11 in CDCl<sub>3</sub>

| position              | 6 <sup>a,b</sup>           | 6a                         | 7 <sup>a,b</sup>         | 8 <sup>a</sup>           | 9 <sup>c</sup>           | 10                         | 11 <sup>c</sup>            |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                       | δ <sub>H</sub> (J in Hz)   | δ <sub>H</sub> (J in Hz)   | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>H</sub> (J in Hz) | δ <sub>H</sub> (J in Hz)   | δ <sub>H</sub> (J in Hz)   |
| 2                     | 3.79, d (7.5)              | 5.79, d (7.4)              | 3.77, d (7.6)            | 4.21, dd (8.6, 3.5)      | 4.16, d (8.3)            | 4.19, d (7.3)              | 3.89, d (7.9)              |
| 3                     | 4.32, d (7.5)              | 5.67, d (7.4)              | 4.27, d (7.6)            | 5.81, dd (8.6, 2.4)      | 5.87, m                  | 5.54, d (7.3)              | 4.32, dd (7.9, 1.5)        |
| 4                     | 5.90, dd (10.0, 2.1)       | 5.89, dd (10.0, 2.3)       | 5.71, br s               | 5.94, dt (10.4, 2.4)     | 5.90, dd (10.8, 1.9)     | 5.73, dd (10.0, 2.5)       | 5.80, dd (10.0, 1.5)       |
| 5                     | 5.65, ddd (10.0, 4.4, 2.1) | 5.93, ddd (10.0, 4.3, 1.6) | 5.71, br s               | 5.73, dt (10.4, 2.5)     | 5.93, dd (10.8, 2.5)     | 5.95, ddd (10.0, 4.5, 2.5) | 5.84, ddd (10.0, 4.2, 1.6) |
| 6                     | 5.41, d (4.4)              | 6.13, d (4.3)              | 4.26, br s               | 5.58, q (2.5)            | 4.94, q (2.5)            | 4.59, d (4.5)              | 4.66, dd (4.2, 1.6)        |
| 7                     | 4.75, d (11.6)             | 5.05, d (12.1)             | 4.72, d (11.2)           | 4.71, d (11.9)           | 4.69, d (11.4)           | 4.96, d (12.4)             | 4.72, d (11.8)             |
|                       | 4.46, d (11.6)             | 4.75, d (12.1)             | 4.58, d (11.2)           | 4.65, d (11.9)           | 4.62, d (11.4)           | 4.68, d (12.4)             | 4.63, d (11.8)             |
| 2', 6' <sup>d</sup>   | 8.04, dd (7.6, 1.4)        | 8.03, dd (8.4, 1.3)        | 8.09, dd (7.7, 1.4)      | 8.07, dd (7.4, 1.5)      | 8.06, d (7.8)            | 8.06, dd (7.7, 1.3)        | 8.10, dd (7.8, 1.3)        |
| 3', 5' <sup>d</sup>   | 7.51, t (7.6)              | 7.46, t (7.8)              | 7.50, t (7.7)            | 7.46, t (7.4)            | 7.48, t (7.5)            | 7.47, tt (7.7, 1.3)        | 7.50, t (7.8)              |
| 4' <sup>d</sup>       | 7.63, tt (7.6, 1.4)        | 7.58, t (7.8)              | 7.62, tt (7.7, 1.4)      | 7.59, t (7.4)            | 7.61, t (7.5)            | 7.60, t (7.7)              | 7.62, tt (7.8, 1.3)        |
| 2'', 6'' <sup>e</sup> |                            |                            |                          | 8.04, dd (7.4, 1.6)      | 8.06, d (7.8)            |                            |                            |
| 3'', 5'' <sup>e</sup> |                            |                            |                          | 7.47, t (7.4)            | 7.51, t (7.8)            |                            |                            |
| 4'' <sup>e</sup>      |                            |                            |                          | 7.59, t (7.4)            | 7.63, t (7.8)            |                            |                            |
| 1-OH                  |                            |                            |                          | 4.19, br s               |                          |                            |                            |
| 1-COMe                |                            | 2.10, s                    |                          |                          |                          |                            |                            |
| 2-OH                  |                            |                            |                          | 3.01, br s               |                          |                            |                            |
| 2-COMe                |                            | 2.01, s                    |                          |                          |                          |                            |                            |
| 3-COMe                |                            | 2.06, s                    |                          |                          |                          | 2.13, s                    |                            |
| 6-COMe                | 1.94, s                    | 1.99, s                    |                          | 2.03, s                  |                          |                            |                            |

<sup>a</sup>Recorded at 400 MHz. <sup>b</sup>Measured in acetone-*d*<sub>6</sub>. <sup>c</sup>Measured in methanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>d</sup>Aromatic protons at C-7 OBz. <sup>e</sup>Aromatic protons at C-3 OBz.Table 5. <sup>13</sup>C NMR Spectroscopic Data (125 MHz) of Compounds 6–11 in CDCl<sub>3</sub>

| position              | 6 <sup>a,b</sup> | 6a    | 7 <sup>a,b</sup> | 8 <sup>a</sup> | 9 <sup>c</sup> | 10    | 11 <sup>c</sup> |
|-----------------------|------------------|-------|------------------|----------------|----------------|-------|-----------------|
| 1                     | 75.1             | 81.5  | 76.2             | 76.0           | 77.3           | 76.4  | 76.9            |
| 2                     | 74.4             | 71.1  | 73.9             | 75.7           | 76.4           | 70.8  | 73.4            |
| 3                     | 70.8             | 70.3  | 69.8             | 73.1           | 75.5           | 74.1  | 71.6            |
| 4                     | 135.8            | 130.0 | 132.5            | 127.8          | 132.0          | 127.2 | 133.5           |
| 5                     | 123.2            | 125.6 | 127.8            | 128.5          | 127.7          | 128.1 | 126.6           |
| 6                     | 71.4             | 68.0  | 71.2             | 76.4           | 64.5           | 56.3  | 58.4            |
| 7                     | 67.9             | 63.2  | 68.4             | 63.0           | 64.2           | 68.0  | 69.4            |
| 1' <sup>c</sup>       | 131.3            | 129.6 | 131.6            | 129.8          | 131.4          | 129.6 | 131.4           |
| 2', 6' <sup>c</sup>   | 130.4            | 129.8 | 130.4            | 129.9          | 130.7          | 130.0 | 130.7           |
| 3', 5' <sup>c</sup>   | 129.3            | 128.7 | 129.2            | 128.6          | 129.6          | 128.7 | 129.6           |
| 4' <sup>c</sup>       | 133.9            | 133.5 | 133.6            | 133.5          | 134.4          | 133.7 | 134.3           |
| 1'' <sup>d</sup>      |                  |       |                  | 129.7          | 131.1          |       |                 |
| 2'', 6'' <sup>d</sup> |                  |       |                  | 130.0          | 130.8          |       |                 |
| 3'', 5'' <sup>d</sup> |                  |       |                  | 128.7          | 129.6          |       |                 |
| 4'' <sup>d</sup>      |                  |       |                  | 133.6          | 134.4          |       |                 |
| 1-COMe                |                  | 169.4 |                  |                |                |       |                 |
| 1-COMe                |                  | 21.8  |                  |                |                |       |                 |
| 2-COMe                |                  | 170.1 |                  |                |                |       |                 |
| 2-COMe                |                  | 20.9  |                  |                |                |       |                 |
| 3-CO                  |                  |       |                  | 166.8          | 167.8          |       |                 |
| 3-COMe                |                  | 170.5 |                  |                |                | 172.1 |                 |
| 3-COMe                |                  | 21.1  |                  |                |                | 21.2  |                 |
| 6-COMe                | 170.0            | 169.6 |                  | 172.0          |                |       |                 |
| 6-COMe                | 20.9             | 20.9  |                  | 21.1           |                |       |                 |
| 7-CO                  | 166.8            | 165.6 | 167.0            | 166.6          | 167.5          | 167.6 | 168.1           |

<sup>a</sup>Recorded at 100 MHz. <sup>b</sup>Measured in acetone-*d*<sub>6</sub>. <sup>c</sup>Measured in methanol-*d*<sub>4</sub>. <sup>d</sup>Aromatic carbons at C-7 OBz. <sup>e</sup>Aromatic carbons at C-3 OBz.

resulting in an increase in intensities for the H-6 and CH<sub>2</sub>-7 signals, respectively (Supporting Information), indicating they had the same relative configuration as in **8**. The ECD spectrum of **9** showed a negative Cotton effect ( $[\Delta\epsilon]_{227} -24.4$ ), similar to that of **8**. Thus, cherrevenol I (**9**) was assigned the (1*R*,2*S*,3*R*,6*R*) absolute configuration.

Compound **10**  $\{[\alpha]_D^{19} -84$  (*c* 0.2, MeOH) $\}$  was obtained as white crystals, mp 118–120 °C, and its molecular formula was assigned as C<sub>16</sub>H<sub>17</sub><sup>35</sup>ClO<sub>6</sub>, based on the ion at *m/z* 363.0609  $[M + Na]^+$  (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>17</sub><sup>35</sup>ClO<sub>6</sub>Na, 363.0611) in the HRESIMS data. The NMR spectroscopic data of **10** (Tables 4 and 5) were similar to those of **9** except that resonances for a benzoate group were replaced by those of an acetoxy group in **10**. The olefinic H-5 ( $\delta_H$  5.95/ $\delta_C$  128.1) in **10** showed HMBC correlations to C-1 ( $\delta_C$  76.4) and C-3 ( $\delta_C$  74.1). The acetoxy group was located at C-3 from the correlation of H-3 ( $\delta_H$  5.54) to the acetoxy carbonyl group ( $\delta_C$  172.1). The relative configurations at C-2 and C-3 were deduced from *J*<sub>2,3</sub> (7.3 Hz), which established their *trans* 1,2-diaxial relationship. The 1D NOE difference NMR experiment showed an enhancement of the intensity of one of the diastereotopic CH<sub>2</sub>-7 protons ( $\delta_H$  4.68) after irradiation of the oxymethine H-2 ( $\delta_H$  4.19), which demonstrated that these protons were located on the same face of the cyclohexene ring (Figure 2). The absolute configuration of **10** was determined by a single-crystal X-ray structural analysis {Figure 2, Cu K $\alpha$  radiation, Flack parameter =  $-0.02(3)$ }. Thus, cherrevenol J (**10**) had the (1*R*,2*R*,3*S*,6*R*) absolute configuration, indicating that it was a diastereomer of cleistenechlorohydrins A and B isolated from *Cleistochlamys kirkii*.<sup>19</sup>

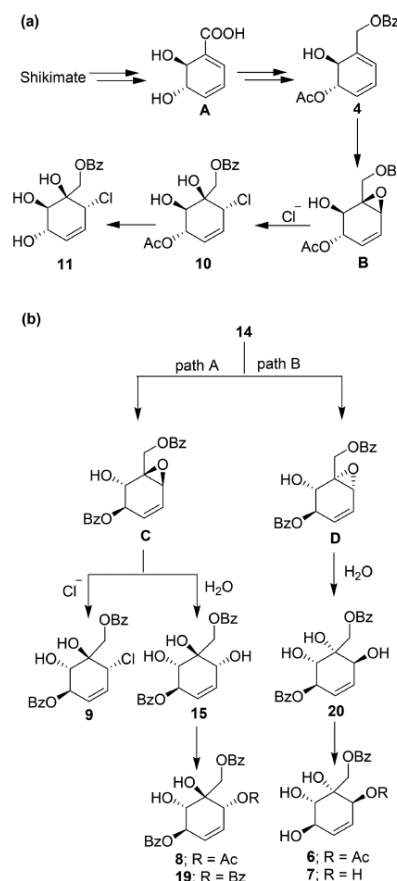
Compound **11**  $\{[\alpha]_D^{22} -112$  (*c* 0.1, MeOH) $\}$  was obtained as a yellow, amorphous solid, mp 120–122 °C. Its molecular formula was defined as C<sub>14</sub>H<sub>15</sub><sup>35</sup>ClO<sub>5</sub> from the HRESIMS data ( $[M + Na]^+$  *m/z* 321.0516, calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub><sup>35</sup>ClO<sub>5</sub>Na<sup>+</sup> *m/z* 321.0506). The UV, IR, and <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic data (Tables 4 and 5) were similar to those of **10** except that the resonances for the C-3 acetoxy group were replaced by those for a C-3 hydroxy substituent. The olefinic H-5 ( $\delta_H$  5.84) showed HMBC correlations to C-1 ( $\delta_C$  76.9) and C-3 ( $\delta_C$  71.6), which were both substituted with a hydroxy group based on their low-field <sup>13</sup>C NMR chemical shifts. The NOE enhancements were observed between H-2 and CH<sub>2</sub>-7 (Supporting Information), and the value of *J*<sub>2,3</sub> (7.9 Hz) corresponded to a *trans*-1,2-diaxial-like coupling, as was observed in **10**. A comparison of the specific rotation of **11**  $\{[\alpha]_D^{22} -112$  (*c* 0.1, MeOH) $\}$  with that of **10**  $\{[\alpha]_D^{19} -84$  (*c* 0.2, MeOH) $\}$  and their similar ECD spectra (Figure S113, Supporting Information) indicated that cherrevenol K (**11**) had the same (1*R*,2*R*,3*S*,6*R*) absolute configuration as **10**.

Compound **12**  $\{[\alpha]_D^{25} -3$  (*c* 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  was obtained as a yellow, viscous oil. Its molecular formula was C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> from the ion at *m/z* 377.1361  $[M + Na]^+$  (calcd for C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>Na, 377.1365) in the HRESIMS data. The UV, IR, and NMR spectroscopic data of **12** (Table 3) were similar to those of uvamolol F (**13**), except for the resonances for C-3 ( $\delta_H$  1.70/ $\delta_C$  32.7, H-3/C-3) and C-4 ( $\delta_H$  2.33, 2.26/ $\delta_C$  28.4, H-4/C-4), which indicated the absence of the C-3/C-4 double bond in **13**. The absolute configuration of **12** was assigned via an appraisal of the sign of its specific rotation  $\{[\alpha]_D^{25} -3$  (*c* 0.1, CHCl<sub>3</sub>) $\}$  with the related synthesized compound (+)-(2*S*,3*E*,5*E*)-nona-3,5-diene-1,2-diol  $\{[\alpha]_D^{25} +10$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>) $\}$ .<sup>20</sup> Therefore, cherrevenol L (**12**) was tentatively

assigned the *R* configuration. However, an insufficient amount of **12** was available for Mosher ester analysis.

Polyoxygenated cyclohexenes, and their chlorine-containing derivatives, have been isolated from other *Uvaria* species<sup>21,22</sup> and other plant species (e.g., *Cleistochlamys kirkii*<sup>19</sup> and *Dasymaschalon sootepense*).<sup>23</sup> A putative biosynthetic scheme for compounds **4**, **10**, and **11**, starting from the known carboxylic acid **A** from the shikimate pathway,<sup>24</sup> is shown in Scheme 2(a). This proposed biosynthesis involves the

**Scheme 2.** Putative Biosynthetic Pathway for Compounds **4**, **6–11**, **14**, **15**, **19**, and **20**



hypothetical epoxide **B**, which upon enzyme-assisted ring opening by chloride, at the sterically and electronically favored allylic epoxide carbon, would give the *trans*-chlorohydrin **10** and then compound **11** by acetate hydrolysis. A related biosynthetic pathway starting from the isolated compound **14** and involving hypothetical epoxide **C** would lead to compounds **8**, **9**, **15**, and **19**, as shown in Scheme 2(b) [path A]. Epoxidation of **14** at the least substituted olefinic moiety and O-acetylation could provide the isolated epoxide **16** (Chart 1), while epoxide **D** may serve as intermediate in the biosynthesis of compounds **6**, **7**, and **20** [Scheme 2(b), path B].

Based on previous reports on the bioactivity of related cyclohexene natural products<sup>6,19,24</sup> the isolated compounds,

except 12, 14, 16, and 18, which were not available in sufficient quantities, were tested for their antimalarial activities against two *P. falciparum* strains (TM4/8.2 and K1CB1) and their cytotoxic activities against human mouth epidermal carcinoma (KB cells) and normal kidney epidermal cells of African green monkey (Vero cells). However, these compounds were found to be inactive ( $IC_{50} > 50 \mu M$ ) in all of the above assays (see Supporting Information for specific details).

In conclusion, the chemical study of the leaf extracts of *U. cherreensis* resulted in the isolation and characterization of 11 new polyoxygenated cyclohexenes, of which three compounds were cyclohexene chlorohydrin derivatives, and a new related seco-cyclohexene. Nine known phytochemicals were also isolated. The structures of the isolated compounds were determined by spectroscopic techniques: in four cases by single-crystal X-ray structural analysis and in two cases by chemical correction. Compounds 8 and 10 are new diastereomers of known natural products whose structures were confirmed by single-crystal X-ray analysis, while compounds 6 and 7 were both isolated as scalemic mixtures (ee 23–24%).

## EXPERIMENTAL SECTION

**General Experimental Procedures.** These were identical to those previously reported.<sup>2,3</sup> The enantiomeric excess of 6a was determined by UHPLC on a Shimadzu Nexera X2 using a Daicel Chiralpak IA-U column (30 × 100 mm).

**Plant Material.** The plant material was collected and identified as described earlier.<sup>2,3</sup>

**Extraction and Isolation.** The leaves of *U. cherreensis* (1.30 kg) were extracted with MeOH (3 × 3 L), and the extracts were evaporated. To the residue was added acetone (500 mL), and the mixture was filtered to give the crude acetone extract (126.8 g). The resulting dark brown gum was separated by quick column chromatography (QCC) using hexanes to acetone to MeOH to give 10 fractions (1–10). Fraction 1 (1.76 g) was fractionated by reverse-phase column chromatography (RPCC) by elution with MeOH to give three subfractions (1A–1C). Fraction 1B (201.1 mg) was fractionated by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to give three subfractions (1B1–1B3). Subfraction 1B2 (27.6 mg) was purified by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to give compound 1 (3.3 mg) as a yellow oil. Fraction 1C (50.1 mg) was purified by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to provide three subfractions (1C1–1C3). Subfraction 1C2 (10.2 mg) was purified by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to give compound 12 (2.2 mg) as a yellow, viscous oil. Fraction 2 (754.0 mg) was fractionated by CC [silica gel, acetone/hexanes (15:85)] to afford three subfractions (2A–2C). Subfraction 2B (224.3 mg) was further purified over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to furnish compound 3 (12.9 mg) as a brown, viscous oil. Fraction 3 (4.33 g) was subjected to RPCC (MeOH elution) to give three subfractions (3A–3C). Subfraction 3B (410.0 mg) was separated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to give seven subfractions (3B1–3B7). Subfraction 3B2 (99.8 mg) was separated by CC (Sephadex LH-20, MeOH elution) to provide five subfractions (3B2A–3B2E). Subfraction 3B2B (62.7 mg) was purified by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (1:4)] to afford compound 13 (1.2 mg) as a brown, viscous oil. Subfraction 3B2D (16.0 mg) was purified by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (1:4)] to afford compound 14 (1.7 mg) as a brown, viscous oil. Compound 4 (11.3 mg), a brown oil, was obtained from subfraction 3B4 (18.1 mg) after Sephadex LH-20 CC (MeOH elution). Subfraction 3B6 (14.6 mg) was separated by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (1:4)] to give compound 15 (9.9 mg) as a brown, viscous oil. Fraction 4 (5.08 g) was separated by QCC (silica gel, hexanes to acetone) to give five subfractions (4A–4E). Compound 16 (2.1 mg), a brown viscous oil, was obtained from fraction 4B (31.3 mg) by Sephadex LH-20 CC (MeOH elution). Fraction 4D (650.6 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20

(MeOH elution) to give four subfractions (4D1–4D4). Compound 17 (141.4 mg), a yellow, viscous oil, was obtained from subfraction 4D2 after evaporation. Subfraction 4D3 (72.0 mg) was separated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to give compound 2 (17.2 mg) as white crystals. Fraction 5 (1.45 g) was separated by RPCC (MeOH elution) to give six subfractions (5A–5F). Subfraction 5B (104.2 mg) was separated over Sephadex LH-20 CC (MeOH elution) to give three subfractions (5B1–5B3); then subfraction 5B2 (21.7 mg) was purified by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (15:85)] to give compound 5 (7.4 mg) as a white solid. Subfraction 5C (715.5 mg) was separated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to afford three subfractions (5C1–5C3). Subfraction 5C2 (589.3 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 CC (MeOH elution) to give compound 9 (5.7 mg) as a yellow solid. Compound 11 (4.3 mg), a yellow solid, was obtained from subfraction 5E (296.4 mg) by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution). Fraction 7 (1.08 g) was separated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to provide five subfractions (7A–7E). Subfraction 7B (160.1 mg) was fractionated by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to provide five subfractions (7B1–7B5). Subfraction 7B2 (38.7 mg) was purified by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (3:7)] to give compounds 8 (18.6 mg) and 18 (2.0 mg) as white crystals and a brown, viscous oil, respectively. Subfraction 7B4 (26.9 mg) was fractionated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99)] to give three subfractions (7B4A–7B4C). Compound 19 (4.7 mg), a brown, viscous oil, was obtained from subfraction 7B4B (19.1 mg) by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution). Subfraction 7D (115.0 mg) was purified by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to give compound 10 (98.2 mg) as white crystals. Fraction 9 (4.64 g) was separated by RPCC with MeOH elution to give three fractions (9A–9C). Subfraction 9B (590.6 mg) was separated by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (1:2)] to afford seven subfractions (9B1–9B7). Subfraction 9B2 (29.7 mg) was purified by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to give compound 20 (24.9 mg) as a yellow, viscous oil. Subfraction 9B4 (46.1 mg) was purified by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (1:2)] to give compound 21 (14.6 mg) as a yellow, viscous oil. Subfraction 9B6 (50.3 mg) was fractionated by CC [silica gel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:97)] to give three subfractions (9B6A–9B6C). Subfraction 9B6B (38.7 mg) was purified by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution) to give compound 7 (14.9 mg) as a brown, viscous oil. Fraction 10 (2.45 g) was subjected to RPCC (MeOH elution) to give three fractions (10A–10C). Subfraction 10B (727.6 mg) was separated by CC [silica gel, EtOAc/hexanes (4:1)] to provide three fractions (10B1–10B3). Compound 6 (9.1 mg), as white crystals, was obtained from subfraction 10B2 (19.1 mg) by CC over Sephadex LH-20 (MeOH elution).

**Cherrevenol A (1):** yellow oil,  $[\alpha]_D^{26} +41$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 228 (1.86); ECD (c 0.15 mM, MeOH)  $\lambda_{max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 256 (8.26); IR (neat)  $\nu_{max}$  3340, 1721, and 1274 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Table 1; ESITOFMS  $m/z$  311.0900 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>Na, 311.0895).

**Cherrevenol B (2):** white crystals (Et<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); mp 132–134 °C;  $[\alpha]_D^{25} -30$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 230 (3.79); ECD (c 0.38 mM, MeOH)  $\lambda_{max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 215 (−1.34) and 237 (+1.51); IR (neat)  $\nu_{max}$  3462, 1720, and 1315 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Table 2; ESITOFMS  $m/z$  509.1578 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>Na, 509.1576).

**Cherrevenol C (3):** brown, viscous oil;  $[\alpha]_D^{25} -26$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 228 (3.72); ECD (c 0.35 mM, MeOH)  $\lambda_{max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 216 (−2.85); IR (neat)  $\nu_{max}$  3442, 1714, and 1270 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Table 2; ESITOFMS  $m/z$  479.1476 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub>Na, 479.1471).

**Cherrevenol D (4):** brown oil,  $[\alpha]_D^{24} +228$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 237 (3.91); ECD (c 0.26 mM, MeOH)  $\lambda_{max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 208 (−10.3), 237 (+14.6), and 261 (+11.1); IR (neat)  $\nu_{max}$  3456, 1718, and 1271 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C

NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Table 1; ESITOFMS *m/z* 311.08901 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>Na, 311.08899).

**Cherrevenol E (5):** white, amorphous solid; mp 92–94 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> –134 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 230 (3.82); ECD (c 0.35 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 230 (–11.8); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3475, 1722, and 1270 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Table 3; ESITOFMS *m/z* 447.1422 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>Na, 447.1420).

**Cherrevenol F (6):** white crystals (Et<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); mp 156–158 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>26</sup> –65 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 226 (3.45); ECD (c 0.47 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 222 (–0.42); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3398, 1718, and 1279 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 345.09433 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>Na, 345.09447).

**Cherrevenol G (7):** brown, viscous oil; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> –39 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 227 (3.53); ECD (c 0.71 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227 (–1.11); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3378, 1701, and 1281 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 303.08391 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>Na, 303.08391).

**Cherrevenol H (8):** white crystals (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexanes); mp 112–114 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> –114 (c 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 229 (3.43); ECD (c 1.1 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 202 (–12.7), 230 (–7.11); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3460, 1719, and 1271 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 449.12056 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>Na, 449.12069).

**Cherrevenol I (9):** yellow, amorphous solid; mp 124–126 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> –133 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 227 (3.93); ECD (c 0.05 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227 (–24.4); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3445, 1722, and 1271 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (methanol-*d*<sub>4</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (methanol-*d*<sub>4</sub>, 125 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 425.07627 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>21</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>ClO<sub>6</sub>Na, 425.07624).

**Cherrevenol J (10):** white crystals (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexanes); mp 118–120 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>19</sup> –84 (c 0.2, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 230 (3.27); ECD (c 0.89 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 203 (–4.36); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3448, 1719, and 1275 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 363.0609 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>17</sub><sup>35</sup>ClO<sub>6</sub>Na, 363.0611).

**Cherrevenol K (11):** yellow, amorphous solid; mp 120–122 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> –112 (c 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 224 (1.88); ECD (c 0.24 mM, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 206 (–6.43); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3341, 1698, and 1283 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (methanol-*d*<sub>4</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (methanol-*d*<sub>4</sub>, 125 MHz) data, see Tables 4 and 5; ESITOFMS *m/z* 321.0516 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub><sup>35</sup>ClO<sub>5</sub>Na, 321.0506).

**Cherrevenol L (12):** yellow, viscous oil; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> –3 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 224 (2.20); IR (neat)  $\nu_{\max}$  3489, 1718, and 1273 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Table 3; ESITOFMS *m/z* 377.1361 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>Na, 377.1365).

**X-ray Crystallographic Analysis.** Diffraction images were collected on a Rigaku SuperNova CCD diffractometer (Cu K $\alpha$ , graphite monochromator,  $\lambda$  = 1.541 84 Å) and data extracted using CrysAlis PRO. Structure solution was by direct methods (SIR92).<sup>25</sup> The structures of compound 2, 6, 8, and 10 were refined using the CRYSTALS program package.<sup>26</sup> The graphics of molecules were performed by PLATON. Atomic coordinates, bond lengths and angles, and displacement parameters have been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC deposition numbers 1857707–1857710, respectively). These data can be obtained free of charge via [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

**Acetylation of 2, 6, and 7.** A mixture of compound 2 (2.0 mg), Ac<sub>2</sub>O (4.0  $\mu$ L), and DMAP (1 crystal) in pyridine (3.5  $\mu$ L) was stirred at room temperature for 12 h. The reaction was quenched with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> and then extracted with EtOAc. The crude mixture was purified by CC over silica gel with EtOAc/hexanes (1:4) to yield 2a (1.5 mg, 69%) as a yellow, viscous oil: [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>26</sup> –51 (c

0.1, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Table 2.

Compound 6 (3.0 mg) was acetylated using the aforementioned experimental procedure using Ac<sub>2</sub>O (26.5  $\mu$ L), DMAP (1 crystal), and pyridine (22.5  $\mu$ L). Purification by CC over silica gel (EtOAc/hexanes, 1:2) yielded 6a (2.3 mg, 55%) as a yellow, viscous oil: [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> –32 (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Tables 4 and 5.

Compound 7 (3.6 mg) was acetylated using Ac<sub>2</sub>O (48.5  $\mu$ L), DMAP (1 crystal), and pyridine (41.5  $\mu$ L). Purification by CC over silica gel (EtOAc/hexanes, 1:2) yielded 6a (1.9 mg, 33%) as a yellow, viscous oil: [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> –46 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Tables 4 and 5.

**Analysis of 6a by Chiral-Phase HPLC.** The enantiomeric excess of 6a was determined by chiral-phase HPLC using a Daicel Chiralpak IA-U column (30  $\times$  100 mm), hexanes/*i*-PrOH (98:2), flow rate 0.1 mL/min with detection at 228–229 nm. The retention times of the major and minor enantiomers were 4.92 and 5.81 min for the tetraacetate from 6 and 4.92 and 5.62 min for the tetraacetate from 7.

**Bioactivity Assays.** Testing for antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* TM4/8.2 (a wild-type sensitive strain) and K1CB1 (multidrug-resistant strain) was carried out as described previously<sup>3</sup> using standard protocols.<sup>27</sup> The cytotoxicity assay against normal Vero cells (kidney epithelial cells of African green monkey, *Cercopithecus aethiops*) and KB cells (human mouth epidermal carcinoma cells) was carried out as described in the previous report<sup>3</sup> using standard protocols.<sup>28–30</sup> These assays were performed at BIOTEC, NSTDA, Thailand.

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00794.

Copies of NMR spectra and HRESIMS of compounds 1–12, ECD spectra of 1–4 and 6–11, chiral HPLC chromatograms for 6a, and details for single-crystal X-ray structures of 2, 6, 8, and 10 (PDF)

Crystallographic data of 2 (CIF)

Crystallographic data of 6 (CIF)

Crystallographic data of 8 (CIF)

Crystallographic data of 10 (CIF)

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*Tel: +66 5394 3341, ext. 222. Fax: +66 5389 2277. E-mail: [thunwadee.r@cmu.ac.th](mailto:thunwadee.r@cmu.ac.th); [othunwadee@gmail.com](mailto:othunwadee@gmail.com) (T. Limtharakul).

### ORCID

Surat Laphookhieo: 0000-0002-4757-2781

Stephen G. Pyne: 0000-0003-0462-0277

Thunwadee Limtharakul: 0000-0002-0426-3663

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ■ ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Thailand Research Fund and Office of the Higher Education Commission (Grant No. MRG6180098) for supporting this project and the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC) and Chiang Mai University for partial support. C.A. and P.W. acknowledge the Graduate School of Chiang Mai University, the Science Achievement Scholarship of Thailand (SAST), and Development and Promotion for Science and Technology talents

project (DPST). S.K. thanks NSTDA's Cluster Program Management. We thank Mr. F. Zamani for chiral-phase HPLC analysis and Dr. W. Lie for advice on advanced NMR experiments.

## REFERENCES

- (1) Chalermglin, P. *Annonaceous Plants*; Amarin Printing and Publishing Public Co Ltd: Bangkok, 2001; p 17.
- (2) Auranwiwat, C.; Wongsomboon, P.; Thaima, T.; Rattajak, R.; Kamchonwongpaisan, S.; Willis, A. C.; Lie, W.; Pyne, S. G.; Limtharakul, T. *Fitoterapia* **2017**, *120*, 103–107.
- (3) Auranwiwat, C.; Rattajak, R.; Kamchonwongpaisan, S.; Laphookhieo, S.; Pyne, S. G.; Limtharakul, T. *Fitoterapia* **2018**, *130*, 198–202.
- (4) Kijjoa, A.; Bessa, J.; Pinto, M. M. M.; Anatachoke, C.; Silva, A. M. S.; Eaton, G.; Herz, W. *Phytochemistry* **2002**, *59*, 543–549.
- (5) Wirasathien, L.; Pengsuparp, T.; Moriyasu, M.; Kawanishi, K.; Suttisri, R. *Arch. Pharmacol. Res.* **2006**, *29*, 497–502.
- (6) Lekphrom, R.; Kanokmedhakul, K.; Schevenels, F.; Kanokmedhakul, S. *Fitoterapia* **2018**, *127*, 420–424.
- (7) Wang, S.; Chen, R.-Y.; Yu, S.-S.; Yu, D.-Q. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2003**, *5*, 17–23.
- (8) Schulte, G. R.; Kodpinid, M.; Thebtaranonth, C.; Thebtaranonth, Y. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4303–4304.
- (9) Awale, S.; Ueda, J.-Y.; Athikomkulchai, S.; Abdelhamed, S.; Yokoyama, S.; Saiki, I.; Miyatake, R. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 1177–1183.
- (10) Shi, Y.-N.; Xin, Y.; Ling, Y.; Li, X.-C.; Hao, C.-Y.; Zhu, H.-T.; Wang, D.; Yang, C.-R.; Xu, M.; Zhang, Y.-J. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2016**, *18*, 730–736.
- (11) Stevenson, P. C.; Veitch, N. C.; Simmonds, M. S. J. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 1579–1586.
- (12) Taneja, S. C.; Koul, S. K.; Pushpangadan, P.; Dhar, K. L.; Daniewski, W. M.; Schilf, W. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 871–874.
- (13) Boyd, D. R.; Sharma, N. D.; Llamas, N. M.; O'Dowda, C. R.; Allenc, C. C. R. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2208–2217.
- (14) Mahmood, K.; Fontaine, C.; Pa'is, M.; Ali, H. M.; Hadi, H. A.; Guittet, E. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *43*, 6117–6120.
- (15) Ogawa, S.; Takagaki, T. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2356–2359.
- (16) Pan, X.-P.; Chen, R.-Y.; Yu, D.-Q. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1063–1066.
- (17) Berova, N.; Ellestad, G. A.; Harada, N. In *Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology*; Mander, L., Lui, H.-W., Eds.; Elsevier: Oxford, 2010; Vol. 9, pp 91–146.
- (18) Zhang, C.-R.; Yang, S.-P.; Liao, S.-G.; Wu, Y.; Yue, J.-M. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 1408–1416.
- (19) Nyandoro, S. S.; Munissi, J. J. E.; Gruhonjic, A.; Duffy, S.; Pan, F.; Puttreddy, R.; Holleran, J. P.; Fitzpatrick, P. A.; Pelletier, J.; Avery, V. M.; Rissanen, K.; Erdélyi, M. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 114–125.
- (20) de la Pradilla, R. F.; Velado, M.; Colomer, I.; Simal, C.; Viso, A.; Gornitzka, H.; Hemmert, C. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 5200–5203.
- (21) Ho, D. V.; Kodama, T.; Le, H. T. B.; Phan, K. V.; Do, T. T.; Bui, T. H.; Le, A. T.; Win, N. N.; Imagawa, H.; Ito, T.; Morita, H.; Nguyen, H. T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 3246–3250.
- (22) Macabeo, A. P. G.; Letada, A. G.; Budde, S.; Faderl, C.; Dahse, H.-M.; Franzblau, S. G.; Alejandro, G. J. D.; Pierens, G. K.; Garson, M. J. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 3319–3323.
- (23) Hongthong, S.; Kuhakarn, C.; Jaipetch, T.; Prabpai, S.; Kongsaree, P.; Piyachaturawat, P.; Jariyawat, S.; Suksen, K.; Limthongkul, J.; Panthong, A.; Nuntasen, N.; Reutakul, V. *Fitoterapia* **2015**, *106*, 158–166.
- (24) Franke, D.; Lorbach, V.; Esser, S.; Dose, C.; Sprenger, G. A.; Halfar, M.; Thömmes, J.; Müller, R.; Takors, R.; Müller, M. *Chem. - Eur. J.* **2003**, *9*, 4188–4196.
- (25) Altomare, A.; Cascarano, G.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A.; Burla, M. C.; Polidori, G.; Camalli, M. *J. Appl. Crystallogr.* **1994**, *27*, 435.
- (26) Betteridge, P. W.; Carruthers, J. R.; Cooper, R. I.; Prout, K.; Watkin, D. J. *J. Appl. Crystallogr.* **2003**, *36*, 1487.
- (27) Smilkstein, M.; Sriwilaijaroen, N.; Kelly, J. X.; Wilairat, P.; Riscoe, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 1803–1806.
- (28) Hunt, L.; Jordan, M.; De Jesus, M.; Wurm, F. M. *Biotechnol. Bioeng.* **1999**, *65*, 201–205.
- (29) Vichai, V.; Kirtikara, K. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1112–1116.
- (30) Wangchuk, P.; Keller, P. A.; Pyne, S. G.; Taweechotipatr, M.; Tonsomboon, A.; Rattanak, R.; Kamchonwongpaisan, S. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, *137*, 730–742.



Contents lists available at ScienceDirect

Tetrahedron

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/tet](http://www.elsevier.com/locate/tet)

## Structure elucidation of cyclohexene (9Z)-octadec-9-enyl ethers isolated from the leaves of *Uvaria cherrevensis* (Annonaceae)

Chiramet Auranwiwat <sup>a,b,c</sup>, Alan T. Maccarone <sup>c,d</sup>, Anthony W. Carroll <sup>c</sup>,  
Roonglawan Rattanajak <sup>e</sup>, Sumalee Kamchonwongpaisan <sup>e</sup>, Stephen J. Blanksby <sup>f</sup>,  
Stephen G. Pyne <sup>c,\*</sup>, Thunwadee Limtharakul <sup>a,g,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Sutep, Muang, Chiang Mai, 50200, Thailand

<sup>b</sup> The Graduate School, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

<sup>c</sup> School of Chemistry and Molecular Bioscience, University of Wollongong, Wollongong, New South Wales, 2522, Australia

<sup>d</sup> Mass Spectrometry User Resource and Research Facility, University of Wollongong, Wollongong, New South Wales, 2522, Australia

<sup>e</sup> Medical Molecular Biology Research Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand Science Park, Pathumthani, 12120, Thailand

<sup>f</sup> Central Analytical Research Facility, Institute for Future Environments, Queensland University of Technology, Brisbane, Queensland, 4001, Australia

<sup>g</sup> Research Center on Chemistry for Development of Health Promoting Products from Northern Resources, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 31 January 2019

Received in revised form

28 February 2019

Accepted 5 March 2019

Available online 8 March 2019

#### Keywords:

*Uvaria cherrevensis*

Cyclohexenes

Ozone Induced Dissociation (OzID)

### ABSTRACT

The phytochemical investigation of the leaf extract of *Uvaria cherrevensis* (Annonaceae) yielded three new cyclohexene (9Z)-octadec-9-enyl ethers, cherrevenols M-O (1–3), and a known fatty ester derivative (4). The structures of the isolated compounds were elucidated by spectroscopic and computer-aided molecular modelling methods. Ozone Induced Dissociation (OzID) mass spectrometry was employed to determine the C-9 position of the side chain olefinic double bonds, while <sup>13</sup>C NMR spectroscopy indicated their (Z)-configurations. All isolated compounds were evaluated for their antimalarial and cytotoxic activities; all were inactive.

Crown Copyright © 2019 Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Cyclohexene long-chain saturated fatty esters were isolated in earlier studies from two species of *Uvaria*, *U. dulcis* and *U. dac* [1,2]. These compounds exhibited cytotoxic activities [2]. Previous studies on *U. cherrevensis*, Annonaceae family, found various types of secondary metabolites, including alkaloids, cyclohexenes, flavonoids, naphthalene derivatives, and terpenoids [3–8]. We report here the first isolation of cyclohexene (9Z)-octadec-9-enyl ethers, cherrevenols M-O (1–3), from the leaf extracts of *U. cherrevensis*. The application of <sup>13</sup>C NMR and Ozone Induced Dissociation (OzID) mass spectrometry were used to determine the (Z) configuration

and C-9 position of the olefinic moiety of the C-18 ether side chains, respectively. The latter would otherwise be difficult to determine because of the lack of 2D NMR correlations due to overlapping of the side chain <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR resonances. The isolated compounds were evaluated for their antimalarial and cytotoxic activities.

### 2. Results and discussion

The leaf extracts of *U. cherrevensis* were subjected to chromatographic separation techniques which led to the isolation and characterization of three new compounds, cherrevenols M-O (1–3), and a known compound, dulcisene A (4) (Fig. 1) [2].

Cherrevenol M (1) was obtained as a white amorphous solid. Its molecular formula, C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>O<sub>7</sub>, was deduced from its HRESIMS data, which showed an [M+Na]<sup>+</sup> ion at *m/z* 595.3615 (calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>O<sub>7</sub>Na, 595.3611). The UV spectrum exhibited a maximum absorption band at 207, 229, and 278 nm while the IR spectrum showed bands for hydroxy and carbonyl groups at 3454 and

\* Corresponding author.

\*\* Corresponding author. Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand.

E-mail addresses: [spyne@uow.edu.au](mailto:spyne@uow.edu.au) (S.G. Pyne), [thunwadee.r@cmu.ac.th](mailto:thunwadee.r@cmu.ac.th), [othunwadee@gmail.com](mailto:othunwadee@gmail.com) (T. Limtharakul).

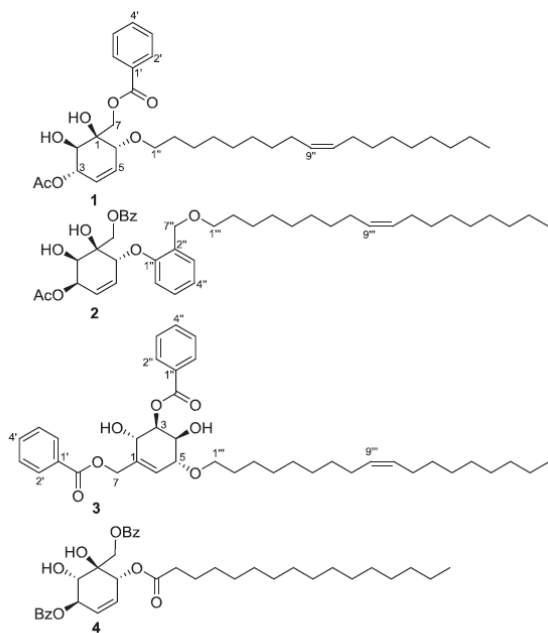


Fig. 1. The structures of isolated compounds from the leaves of *U. cherrevensis*.

1722 cm<sup>-1</sup>, respectively. The <sup>1</sup>H NMR spectroscopic data of **1** (Table 1) was very similar to that of ellipseipsol A (Fig. 2, see Supporting Information (Table S1) for details) previously isolated from this plant [3]. The main difference was the addition of resonances for an *O*-(*Z*)-octadec-9-enyl moiety. The diastereotopic oxymethylene protons CH<sub>2</sub>-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.65 and 3.47) showed HMBC cross-peaks to C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  75.9) and thus the 6-*O*-(*Z*)-octadec-9-enyl moiety was attached to the C-6 oxygen substituent. The position of the double bond in the C-18 side chain was determined by OzID mass spectrometry [9,10]. In this experiment, the sodiated molecular ion ( $m/z$  595.3605) was isolated in an ion trap and exposed to ozone for 4 s. This produced the ozonide intermediate ( $m/z$  643.3470 [ $M + Na + O_3$ ]<sup>+</sup>) and its oxidative cleavage products corresponding to aldehyde ( $m/z$  485.2146) and Criegee ions ( $m/z$  501.2091) (Figs. 4 and 5). These results allowed us to unequivocally assign the double

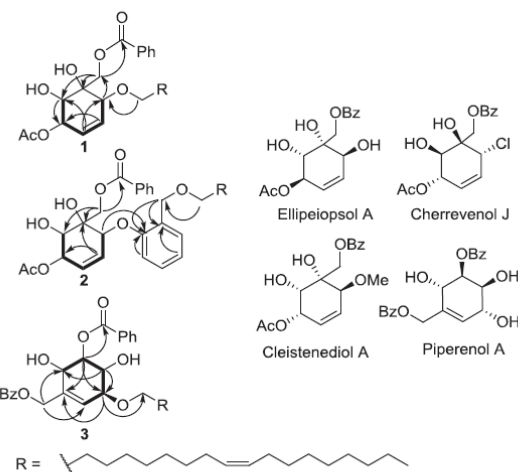


Fig. 2. Selected keys HMBC (<sup>1</sup>H → <sup>13</sup>C) and COSY (bold line) correlations for compounds **1**–**3** and the structures of known natural products.

bond at C-9'' [11,12]. The <sup>13</sup>C NMR chemical shifts for C-8''/C-11'' ( $\delta_{\text{C}}$  27.37 and 27.35), C-9'' ( $\delta_{\text{C}}$  130.0) and C-10'' ( $\delta_{\text{C}}$  130.1) indicated that double bond had the (*Z*)-configuration [12]. The relative configuration of **1** at C-2 and C-3 was assigned from the  $J_{2,3}$  value of 6.3 Hz which indicated that H-2 and H-3 had a *trans* 1,2-diaxial-like relationship [8]. The NOESY spectrum showed a correlation between the diastereotopic CH<sub>2</sub>-7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.79 and 4.60) resonances and the resonance for H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.04) and no correlations between H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.94) and CH<sub>2</sub>-7 or between H-6 and H-2. This indicated that CH<sub>2</sub>-7 and H-2 were on the same face of the cyclohexene ring structure, while H-6 was on the opposite face of the ring to H-2 and CH<sub>2</sub>-7. When the proposed structure of **1** was generated computationally, [B3LYP/6-31G(d)] using the Gaussian 09 basis set. (Fig. 3), the distance between H-2 and CH<sub>2</sub>-7 was calculated to be 2.58 Å, which correlated well with the experimental findings from the NOESY study. The specific rotation of **1** was of the same sign as that of cherrevenol J (Fig. 2), which was also isolated from this plant [8],  $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  –90 (c 0.1, MeOH) and  $[\alpha]_{\text{D}}^{19}$  –84 (c 0.2, MeOH), respectively). In addition to this, the ECD spectra of these compounds exhibited similar negative Cotton effects at 207 and 203 nm, respectively. Therefore, **1** (cherrevenol M) was assigned as having the 1*R*,2*R*,3*S*,

Table 1  
<sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C (125 MHz) NMR spectroscopic data of cherrevenol M (**1**) in CDCl<sub>3</sub>.

| 1         |                               |                          |                       |                               |                                                   |                 |
|-----------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|
| Position  | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ type | Position              | $\delta_{\text{H}}$ (J in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ type                          |                 |
| 1         |                               | 75.9 C                   | 1''                   | 3.65, dt (9.0, 6.4)           | 70.8                                              | CH <sub>2</sub> |
| 2         | 4.04, d (6.3)                 | 71.5 CH                  |                       | 3.47, dt (9.0, 6.4)           |                                                   |                 |
| 3         | 5.43, m                       | 74.0 CH                  | 2''                   | 1.53, m                       | 30.2                                              | CH <sub>2</sub> |
| 4         | 5.74, dd (10.2, 2.7)          | 126.9 CH                 | 3''                   | 1.26, m                       | 26.3                                              | CH <sub>2</sub> |
| 5         | 6.03, ddd (10.2, 3.9, 1.8)    | 128.2 CH                 | 4''–7'' and 12''–15'' | 1.26, m                       | 29.92, 29.9, 29.85, 29.7, 29.6, 29.5, 29.47, 29.4 | CH <sub>2</sub> |
| 6         | 3.94, d (3.9)                 | 75.9 CH                  | 8''                   | 2.00, m                       | 27.37 <sup>a</sup>                                | CH <sub>2</sub> |
| 7         | 4.79, d (12.0)                | 67.1 CH <sub>2</sub>     | 9''                   | 5.34, m                       | 130.0                                             | CH              |
|           | 4.60, d (12.0)                |                          | 10''                  | 5.34, m                       | 130.1                                             | CH              |
| 1'        |                               | 129.9 C                  | 11''                  | 2.00, m                       | 27.35 <sup>a</sup>                                | CH <sub>2</sub> |
| 2',6'     | 8.05, dd (7.6, 1.5)           | 129.8 CH                 | 16''                  | 1.26, m                       | 32.1                                              | CH <sub>2</sub> |
| 3',5'     | 7.46, t (7.6)                 | 128.7 CH                 | 17''                  | 1.26, m                       | 22.8                                              | CH <sub>2</sub> |
| 4'        | 7.59, tt (7.6, 1.5)           | 133.4 CH                 | 18''                  | 0.88, t (6.9)                 | 14.3                                              | CH <sub>3</sub> |
| 3-OC(O)Me |                               | 171.9 C                  | 7-OC(O)               |                               | 167.3                                             | C               |
| 3-OC(O)Me | 2.07, s                       | 21.3 CH <sub>3</sub>     |                       |                               |                                                   |                 |

<sup>a</sup> Exchangeable carbons.

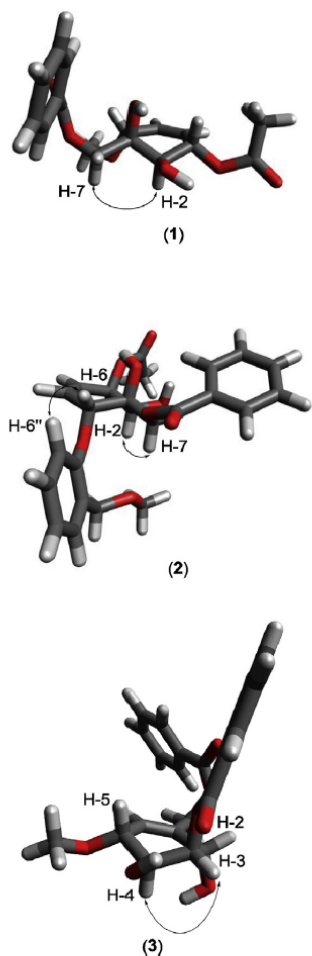


Fig. 3. Experimental NOE correlations projected onto DFT minimized molecular models [B3LYP/6-31G(d)] of 1–3 (calculated on the corresponding Me ethers).

6R configuration.

Cherrevenol N (**2**) was isolated as a colourless oil and showed an HRESIMS  $[M + Na]^+$  ion at  $m/z$  701.4019 (calcd for  $C_{41}H_{58}O_8Na$ , 701.4029). The UV spectrum showed absorption bands at 203, 230, and 275 nm and the IR spectrum showed bands for hydroxy and carbonyl functionalities at 3437 and 1723  $cm^{-1}$ , respectively. The  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectroscopic data were similar to those of **1** except for additional resonances characteristic of a 2-hydroxyphenylmethanol moiety [ $\delta_H$  7.32 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.8$  Hz), 7.26 (1H, td,  $J = 8.2, 1.8$  Hz), 6.99 (1H, td,  $J = 7.5, 1.8$  Hz), 6.96 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.81, and 4.28 (each 1H, d,  $J = 11.9$  Hz)] in **2**. The oxymethine proton H-6 ( $\delta_H$  4.97) showed a HMBC cross-peak to C-1'' ( $\delta_C$  157.3) while CH<sub>2</sub>-1''' ( $\delta_H$  3.49 and 3.46) correlated with C-7'' ( $\delta_C$  69.0) indicating that the 2-hydroxyphenylmethanol moiety was linked between C-6 of the cyclohexene ring structure and C-1''' of the (Z)-octadec-9-enyl substituent (Fig. 2). The  $^{13}C$  NMR chemical shifts of C-8''', C-9'', C-10''' and C-11''' at  $\delta_C$  27.4, 130.0, 130.1, and 27.4, respectively were characteristic of a (Z)-olefinic configuration [12]. The OzID mass spectrum of **2** exhibited aldehyde and Criegee ions at  $m/z$  591.2566 and 607.2517, respectively that indicated the alkene was located at C-9'' as shown in Figs. 4 and 5. The relative configuration of **2** was determined from the examination of the NOESY spectrum. Key correlations were observed between H-2 ( $\delta_H$  4.29) and CH<sub>2</sub>-7 ( $\delta_H$  4.87 and 4.72), and between H-6 ( $\delta_H$  4.97) and H-6'' ( $\delta_H$  6.96) which validated the optimized molecular model as the calculated distance between these protons were 2.52 Å and 2.00 Å, respectively. In contrast, H-6 showed no NOESY correlations to CH<sub>2</sub>-7, indicating that these protons were on the opposite face of the ring structure. In addition, the coupling constant value between H-2 and H-3 was 3.5 Hz which indicated their relative 1,2 equatorial-axial like relationship (Fig. 3). The specific rotation of **2** [ $\alpha_D^{25} -57$  (c 0.1, MeOH)] was opposite in sign to that of cleistenediol A [ $\alpha_D^{20} +190$  (c 0.3, MeOH)] (Fig. 2), isolated from *Cleistochlamys kirkii* [13], and so suggests an opposite configuration of the known compound. Therefore, the configuration of cherrevenol M (**2**) was assigned as 1*R*,2*R*,3*R*,6*R*.

Cherrevenol O (**3**) was isolated as a colourless oil. Its molecular formula,  $C_{39}H_{54}O_7$ , was deduced from its HRESIMS data, which showed an  $[M + Na]^+$  ion at  $m/z$  657.3770 (calcd for  $C_{39}H_{54}O_7Na$ , 657.3767). The UV spectrum exhibited adsorption bands at 234 and 274 nm, and the IR spectrum showed bands at 3423 and 1722  $cm^{-1}$  that corresponded to hydroxy and carbonyl groups, respectively. The NMR spectroscopic data of **3** were similar to those of piperenol A (Fig. 2), isolated from *Piper cubeb* [14], except that **3** contained  $^1H$

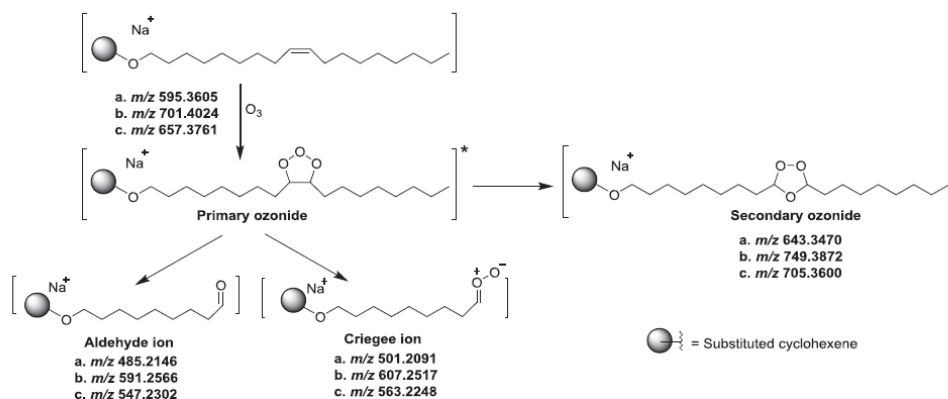


Fig. 4. Proposed mechanism for OzID fragmentation of 1–3 (a–c) [Criegee ion (representative structure shown but isomers of the carbonyl oxide cannot be excluded)].

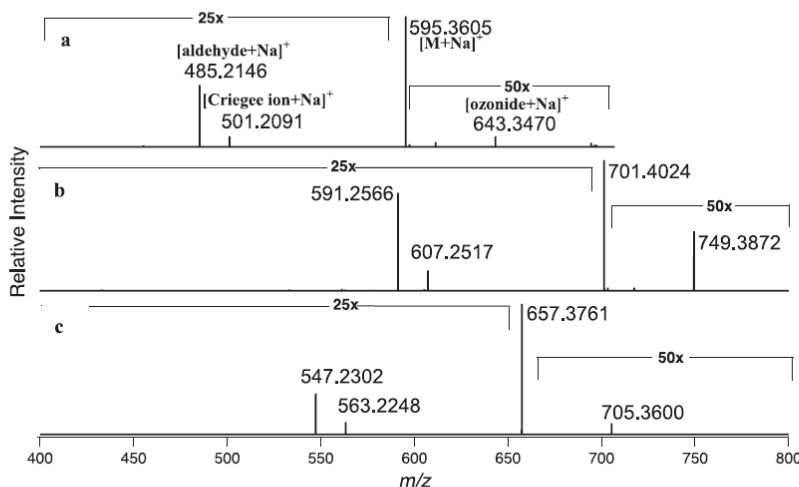


Fig. 5. The OzID spectra from sodium adducts of 1–3 (a–c).

and  $^{13}\text{C}$  NMR resonances characteristic of a (Z)-octadec-9-enyl moiety. The oxymethine proton H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  4.13/ $\delta_{\text{C}}$  76.8) and the diastereotopic oxymethylene protons  $\text{CH}_2\text{-1}''$  of the octadec-9-enyl moiety ( $\delta_{\text{H}}$  3.69 and 3.63/ $\delta_{\text{C}}$  70.4) showed HMBC cross-peaks to each other which indicated that the (Z)-octadec-9-enyl moiety was attached to the C-5 oxygen substituent of the cyclohexene ring (Fig. 2). The  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts for C-8'''/C-11''' ( $\delta_{\text{C}}$  27.4), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  130.0), and C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  130.1) corresponded to the (Z)-olefinic configuration [12]. The double bond position of the long chain unit was determined by the OzID method. More specifically, the OzID spectrum showed an ion at  $m/z$  705.3600  $[\text{M} + \text{Na} + \text{O}_3]^+$  for the corresponding ozonide. The corresponding aldehyde and Criegee ions were observed at  $m/z$  547.2302 and 563.2248, respectively which indicated that the double bond was at C-9''' as shown in Figs. 4 and 5. The relative configuration of **3** was assigned on the basis of the  $J_{2,3}$  value of 4.8 Hz and  $J_{4,5}$  value of 6.5 Hz which indicated 1,2-diequatorial-like and 1,2-diaxial-like couplings, respectively [8]. The correlations between H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.50) and H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4.31), and between H-3 and H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  4.52) in the NOESY spectrum, were consistent with the calculated inter-proton distances of 2.52 Å and 2.54 Å, respectively from the optimized structure (Fig. 3). These  $J$  values, NOESY correlations and molecular modelling results fully supported the proposed structure of **3**. The ECD spectrum of **3** was similar to that of piperenol A [14] which exhibited negative Cotton effects at 234 and 235 nm, respectively. This in combination with the above data led to the assignment of the configuration of **3** (Cherrevenol O) as 2S,3R,4S,5R.

These polyoxygenated long-chain cyclohexene compounds (**1–4**) were examined for their antimalarial activities against *P. falciparum* strains (TM4/8.2 and K1CB1) and for cytotoxicity against human mouth epidermal carcinoma (KB cells) and normal kidney epidermal cells of African green monkey (Vero cells). All compounds were inactive ( $\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$ ).

### 3. Conclusions

A phytochemical studied of the leaf extracts of *U. cherreensis* led to the isolation and characterization of three new cyclohexene (9Z)-octadec-9-enyl ethers (**1–3**), and a previously reported compound (**4**). While long chain ester derivatives are known (e.g. **4**),

this is the first report of analogous ether derivatives. The structures of these compounds were characterized using spectroscopic techniques. Ozone Induced Dissociation (OzID) mass spectrometry proved critical in determining the double bond position of the octadec-9-enyl side chain. Importantly, ozonide formation was chemoselective for the less hindered side chain double bond. This method has been successful in the determining the double bond position of natural fatty esters [15,16], but to the best of our knowledge, this is the first example of the application of OzID to naturally occurring long chain ethers.

## 4. Experimental section

### 4.1. General

Optical rotations were measured at the sodium D-line (590 nm) on a Jasco 2000 series polarimeter. Melting points were determined on a SANYO Gallenkamp melting point apparatus and are uncorrected. The UV–vis absorption spectra and circular dichroism (CD) were measured with a Jasco J-180 spectrophotometer. The infrared (IR) spectra were recorded on a Bruker Vertex 70 FT-IR spectrometer. The NMR spectra were recorded using both a 400 MHz or a 500 MHz Bruker NMR spectrophotometer. Chemical shifts were recorded in parts per million ( $\delta$ ) in  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  7.26 and  $\delta_{\text{C}}$  77.0 ppm) with TMS as an internal reference. High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectra (HRESIMS) were recorded on a Waters Xevo<sup>TM</sup> QToF mass spectrometer in positive ionization mode using the following conditions: 3 kV, 40 V, and 4 V applied to the ESI probe, sample, and extraction cone, respectively; cone and desolvation gas flows of 50 and 300 L/hour, respectively. Spectra were corrected using leucine enkephalin reference peaks from ESI on a 200 pg/ $\mu\text{L}$  solution in 1:1 water:acetonitrile with 0.1% formic acid infused through the LockSpray<sup>TM</sup> source. Ozone-Induced Dissociation (OzID) mass spectrometry was performed on a modified Thermo Fisher Scientific Orbitrap Fusion mass spectrometer. Thin-layer chromatography (TLC) was performed on silica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Column chromatography (CC) was carried out on silica gel (Merck) type 100 (62–400  $\mu\text{m}$ ) and type 60 (5–40  $\mu\text{m}$ ) for quick column chromatography (QCC), and Sephadex LH-20 with MeOH elution. All solvents for extraction and chromatography were distilled or purchased in high purities prior to use.

#### 4.2. Plant material

The leaves of *Uvaria cherrevensis* were collected from Doi Suthep National Park, Chiang Mai, Thailand in August 2015. This plant was identified by Dr. Tanawat Chaowasku, CMUB Herbarium, Chiang Mai University, Thailand, where a voucher specimen has been deposited (specimen no. T.Ritthiwigrom 5).

#### 4.3. Extraction and isolation

The leaves of *U. cherrevensis* (1.30 kg) were extracted with MeOH (3 × 3 L) and the extracts were evaporated. The residue was extracted with acetone (500 mL) and concentrated to give the crude acetone extract (126.8 g) as a dark brown gum. The extract was separated by Quick Column Chromatography (QCC) using hexanes to acetone to MeOH to give ten fractions (1–10). Fraction 3 (4.33 g) was subjected to Reversed Phase Column Chromatography (RPCC) by elution with MeOH to give three subfractions (3A–3C). Subfraction 3C (282.3 mg) was separated by CC over silica gel by elution with EtOAc/hexanes (1:4) to provide five subfractions (3C1–3C5). Compound **4** (39.2 mg) as a white amorphous solid, was obtained from subfraction 3C2 after evaporation. Subfraction 3C3 (31.0 mg) was purified after CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to provide compound **3** (24.8 mg) as a colourless oil. Subfraction 3C4 (61.1 mg) was isolated by Sephadex LH-20 CC after elution with MeOH to give three subfractions (3C4A–

3C4C). Subfraction 3C4B (25.9 mg) was isolated by CC over silica gel by elution with MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) to give compound **1** (7.2 mg) and **2** (10.7 mg) as a white amorphous solid and colourless oil, respectively.

##### 4.3.1. Cherrevenol M (**1**)

White amorphous solid, mp. 70–71 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> –90 (c 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 207 (2.88), 229 (2.93), and 278 (2.55); ECD (c 3.22 mM, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ): 207 (–1.19) and 229 (0.04); IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3454, 1722, 1276, and 1248 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Table 1; HRESIMS  $m/z$  595.3615 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>O<sub>7</sub>Na, 595.3611).

##### 4.3.2. Cherrevenol N (**2**)

Colourless oil; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> –57 (c 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 203 (4.17), 230 (3.96), and 275 (3.59); ECD (c 0.33 mM, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ): 203 (–72.1) and 230 (–41.3); IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3437, 1723, 1274, and 1233 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) data, see Table 2; HRESIMS  $m/z$  701.4019 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>41</sub>H<sub>58</sub>O<sub>8</sub>Na, 701.4029).

##### 4.3.3. Cherrevenol O (**3**)

Colourless oil; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> –44 (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 234 (3.61) and 274 (3.34); ECD (c 0.53 mM, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ): 234 (–2.62); IR (neat)  $\nu_{\text{max}}$  3423, 1722, and 1272 cm<sup>–1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) data, see Table 2;

**Table 2**  
<sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C NMR data spectroscopic data of cherrevenols N and O (2–3) in CDCl<sub>3</sub>.

| Position                  | 2 <sup>a</sup>                   |                                                    |                 | 3 <sup>b</sup>                |                                                  |                 |
|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------|
|                           | $\delta_{\text{H}}$ (f in Hz)    | $\delta_{\text{C}}$ , type                         |                 | $\delta_{\text{H}}$ (f in Hz) | $\delta_{\text{C}}$ , type                       |                 |
| 1                         |                                  | 75.4                                               | C               |                               | 135.2                                            | C               |
| 2                         | 4.29, d (3.5)                    | 71.2                                               | CH              | 4.52, d (4.8)                 | 67.7                                             | CH              |
| 3                         | 5.46, m                          | 72.1                                               | CH              | 5.50, dd (4.8, 2.4)           | 76.1                                             | CH              |
| 4                         | 5.84, dddd (10.2, 3.3, 1.5, 0.8) | 127.1                                              | CH              | 4.31, dd (6.5, 2.4)           | 69.2                                             | CH              |
| 5                         | 6.14, ddd (10.2, 2.9, 1.5)       | 128.9                                              | CH              | 4.13, dd (6.5, 2.9)           | 76.8                                             | CH              |
| 6                         | 4.97, m                          | 78.2                                               | CH              | 6.09, d (2.9)                 | 127.3                                            | CH              |
| 7                         | 4.87, d (12.3)                   | 66.5                                               | CH <sub>2</sub> | 5.09, d (13.1)                | 65.2                                             | CH <sub>2</sub> |
|                           | 4.72, d (12.3)                   |                                                    |                 | 4.88, d (13.1)                |                                                  |                 |
| 1'                        |                                  | 129.82                                             | C               |                               | 129.88                                           | C               |
| 2',6'                     | 7.93, dd (7.8, 1.4)              | 129.76                                             | CH              | 8.04, dd (7.8, 1.4)           | 129.94                                           | CH              |
| 3',5'                     | 7.40, t (7.8)                    | 128.6                                              | CH              | 7.42, t (7.8)                 | 128.61                                           | CH              |
| 4'                        | 7.55, tt (7.8, 1.4)              | 133.4                                              | CH              | 7.59, tt (7.8, 1.4)           | 133.5                                            | CH              |
| 1''                       |                                  | 157.3                                              | C               |                               | 129.88                                           | C               |
| 2''                       |                                  | 127.8                                              | C               | 8.02, dd (7.6, 1.2)           | 129.82                                           | CH              |
| 3''                       | 7.32, dd (7.5, 1.8)              | 130.5                                              | CH              | 7.45, t (7.6)                 | 128.58                                           | CH              |
| 4''                       | 6.99, td (7.5, 1.8)              | 122.0                                              | CH              | 7.57, tt (7.6, 1.2)           | 133.4                                            | CH              |
| 5''                       | 7.26, td (8.2, 1.8)              | 129.6                                              | CH              | 7.45, t (7.6)                 | 128.58                                           | CH              |
| 6''                       | 6.96, d (8.2)                    | 114.3                                              | CH              | 8.02, dd (7.6, 1.2)           | 129.82                                           | CH              |
| 7''                       | 4.81, d (11.9)                   | 69.0                                               | CH <sub>2</sub> |                               |                                                  |                 |
|                           | 4.28, d (11.9)                   |                                                    |                 |                               |                                                  |                 |
| 1'''                      | 3.49, dt (9.0, 7.0)              | 71.3                                               | CH <sub>2</sub> | 3.69, dt (9.3, 6.8)           | 70.4                                             | CH <sub>2</sub> |
|                           | 3.46, dt (9.0, 7.0)              |                                                    |                 | 3.63, dt (9.3, 6.8)           |                                                  |                 |
| 2'''                      | 1.56, m                          | 29.6                                               | CH <sub>2</sub> | 1.64, m                       | 30.3                                             | CH <sub>2</sub> |
| 3'''                      | 1.26, m                          | 26.2                                               | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                       | 26.3                                             | CH <sub>2</sub> |
| 4'''–7''' and 12'''–15''' | 1.26, m                          | 29.92, 29.9, 29.7, 29.6, 29.57, 29.47, 29.47, 29.4 | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                       | 29.9, 29.9, 29.85, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.45 | CH <sub>2</sub> |
| 8'''                      | 1.99, m                          | 27.4                                               | CH <sub>2</sub> | 2.03, q (6.5)                 | 27.4                                             | CH <sub>2</sub> |
| 9'''                      | 5.34, m                          | 130.0                                              | CH              | 5.36, m                       | 130.0                                            | CH              |
| 10'''                     | 5.34, m                          | 130.1                                              | CH              | 5.36, m                       | 130.1                                            | CH              |
| 11'''                     | 1.99, m                          | 27.4                                               | CH <sub>2</sub> | 2.03, q (6.5)                 | 27.4                                             | CH <sub>2</sub> |
| 16'''                     | 1.26, m                          | 32.1                                               | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                       | 32.1                                             | CH <sub>2</sub> |
| 17'''                     | 1.26, m                          | 22.8                                               | CH <sub>2</sub> | 1.29, m                       | 22.8                                             | CH <sub>2</sub> |
| 18'''                     | 0.88, t (6.9)                    | 14.3                                               | CH <sub>3</sub> | 0.90, t (6.8)                 | 14.3                                             | CH <sub>3</sub> |
| 3-O <sup>+</sup> (O)Me    |                                  | 170.1                                              | C               |                               |                                                  |                 |
| 3-O <sup>+</sup> (O)Me    | 1.95, s                          | 21.0                                               | CH <sub>3</sub> |                               |                                                  |                 |
| 3-O <sup>+</sup> (O)      |                                  |                                                    |                 |                               | 166.64                                           | C               |
| 7-O <sup>+</sup> (O)      |                                  | 167.1                                              | C               |                               | 166.60                                           | C               |

<sup>a</sup> <sup>13</sup>C NMR recorded at 100 MHz.

<sup>b</sup> <sup>13</sup>C NMR recorded at 125 MHz.

HRESIMS  $m/z$  657.3770  $[M + Na]^+$  (calcd for  $C_{39}H_{54}O_7Na$ , 657.3767).

#### 4.4. Ozone Induced Dissociation (OzID) mass spectrometry

OzID was performed using a modified Thermo Fisher Scientific Orbitrap Fusion mass spectrometer. Compounds **1–3** were separately dissolved in MeOH to 100  $\mu$ M and then diluted to produce 10  $\mu$ M analyte in MeOH with 90  $\mu$ M sodium acetate. Infusion via syringe pump at 5  $\mu$ L/min through an EASY-Max NG source under the following conditions produced an adequate sodium adduct signal: +4.5 kV spray voltage, values of 4, 5, and 1 for sheath, auxiliary, and sweep gas (nitrogen), respectively, 300 and 30 °C ion transfer tube and vaporizer, respectively. The RF lens was set to 60% to transmit ions through the front of the instrument. This mass spectrometer has recently been modified in a manner similar to that reported recently by Paine et al. [17]. Oxygen with 0.5% nitrogen (Coregas, New South Wales, Australia) was supplied at 20 psig and 0.2 Standard liters per through a Titan 30 ozone generator (Absolute Ozone, Alberta, Canada) producing 225 g/Nm<sup>3</sup> ozone (10.5% by volume in oxygen) as measured in a MiniHICON analyzer (Teledyne API, California, USA). Gas flow was directed through a destruct catalyst (Teledyne API) before expulsion from the laboratory however, prior to destruction, a portion was split-off through a 25  $\mu$ m ID/10 cm length PEEKsil restriction (Trajan Scientific Australia, Victoria, Australia) into a flow of helium determined by a regulator upstream of a 50  $\mu$ m ID/10 cm length of PEEKsil (Trajan). Under normal operating conditions e.g. in the absence of ozone, the regulator is set such that the ion gauge reads ca.  $6 \times 10^{-5}$  Torr near the ion trap region. The mixture of ozone, oxygen and helium traveled to the ion trap through a 1.4 m length of grey PEEK tubing (381  $\mu$ m ID) which bypasses the helium open split inlet. In an MS [3] experiment sodiated precursor ions were isolated through the quadrupole with a 0.8 Da window and allowed to pass into the HCD cell (zero setting on the collision energy) followed by reisolation in the ion trap (2.0 Da window) for 4 s in the presence of ozone. Mass analysis was then performed in the orbitrap analyzer at a 50,000 resolution setting (specified at  $m/z$  200) and a 10000 AGC target. Spectra reported here represent the average over a 1 min acquisition time. The fluoranthene internal calibrant option was used to improve mass accuracy. We note the ozone generator is interlocked to a model 106-L ambient ozone monitor (2B Technologies, Colorado, USA) for safety such that ozone production ceases at or above 60 ppbv laboratory ozone concentration.

#### 4.5. Computational methods

The 3D structures generated were prepared with ChemDraw 17.0 and Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool, Version 1.2.0.61 [18]. The Density Functional Theory (DFT) used to minimize the three-dimensional structures was calculated with B3LYP/6-31G(d) [19–21] using the Gaussian 09 basis set [22].

#### 4.6. Bioactivity assays

Antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* TM4/8.2 (a wild type sensitive strain) and K1CB1 (multidrug resistant strain) was carried out as described in a previous report [6]. The cytotoxicity against normal Vero cells (kidney epithelial cells of African green monkey, *Cercopithecus aethiops*) and KB cells (human mouth epidermal carcinoma cells) were also carried out as previously described [6].

#### Acknowledgements

We thank the Thailand Research Fund and Office of the Higher Education Commission (Grant No. MRG6180098) for supporting this project and the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC) and Chiang Mai University, and the University of Wollongong for partial support. C.A. acknowledge the Graduate School of Chiang Mai University and the Science Achievement Scholarship of Thailand (SAST). A.T.M. thanks Drs. B.L.J. Poad and D.L. Marshall in the Central Analytical Research Facility at Queensland University of Technology for assistance with OzID implementation on the Orbitrap Fusion mass spectrometer in Wollongong and Assoc. Prof. T.W. Mitchell in the UOW School of Medicine for securing funding to purchase the Orbitrap Fusion mass spectrometer and associated OzID hardware. A.C. wishes to acknowledge that this research was undertake with assistance of resources from the National Computational Infrastructure (NCI), which is supported by Australian Government. S.K. thanks NSTDA's Cluster Program Management.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.03.004>.

#### References

- [1] S. Awale, A.M. Tawila, D.F. Dibwe, J.-y. Ueda, S. Sun, S. Athikomkulchai, C. Balachandran, I. Saiki, K. Matsumoto, H. Esumi, Bioorg. Med. Chem. Lett 27 (2017) 1967.
- [2] W. Kaweetripob, C. Mahidol, H. Prawat, S. Ruchirawat, Phytochem. Lett. 12 (2015) 248.
- [3] A. Kijjia, J. Bessa, M.M.M. Pinto, C. Anatchoke, A.M.S. Silva, G. Eaton, W. Herz, Phytochemistry 59 (2002) 543.
- [4] L. Wirasathien, T. Pengsuparp, M. Moriyasu, K. Kawanishi, R. Suttisri, Arch. Pharm. Res. 29 (2006) 497.
- [5] C. Auranwiwat, P. Wongsomboon, T. Thaima, R. Rattanajak, S. Kamchonwongpaisan, A.C. Willis, W. Lie, S.G. Pyne, T. Limtharakul (née Ritthiwigrom), Fitoterapia 120 (2017) 103.
- [6] C. Auranwiwat, R. Rattanajak, S. Kamchonwongpaisan, S. Laphookhieo, S.G. Pyne, T. Limtharakul (née Ritthiwigrom), Fitoterapia 130 (2018) 198.
- [7] R. Lekphrom, K. Kanokmedhakul, F. Schevenels, S. Kanokmedhakul, Fitoterapia 127 (2018) 420.
- [8] C. Auranwiwat, P. Wongsomboon, T. Thaima, R. Rattanajak, S. Kamchonwongpaisan, A.C. Willis, S. Laphookhieo, S.G. Pyne, T. Limtharakul, J. Nat. Prod. 82 (2019) 101.
- [9] M.C. Thomas, T.W. Mitchell, D.G. Harman, J.M. Deeley, J.R. Nealon, S.J. Blanksby, Anal. Chem. 80 (2008) 303.
- [10] S.H.J. Brown, T.W. Mitchell, S.J. Blanksby, Biochim. Biophys. Acta 1811 (2011) 807.
- [11] V. Criegee, Angew. Chem. 87 (1975) 765.
- [12] F.D. Gunstone, M.R. Pollard, C.M. Scrimgeour, H.S. Vedanayagam, Chem. Phys. Lipids 18 (1977) 115.
- [13] S.S. Nyandoro, J.J.E. Munissi, A. Gruhonjic, S. Duffy, F. Pan F, R. Puttreddy, J.P. Holleran, P.A. Fitzpatrick, J. Pelletier, V.M. Avery, K. Rissanen, M. Erdélyi, J. Nat. Prod. 80 (2017) 114.
- [14] S.C. Taneja, S.K. Koul, P. Pushpangadan, K.L. Dhar, W.M. Daniewski, W. Schilf, Phytochemistry 30 (1991) 871.
- [15] Q. Shou, L.K. Banbury, A.T. Maccarone, D.E. Renshaw, H. Mon, S. Griesser, H.J. Griesser, S.J. Blanksby, J.E. Smith, H. Wohlmuth, Fitoterapia 93 (2014) 62.
- [16] H. Wang, D.N. Leach, M.C. Thomas, S.J. Blanksby, P.I. Forster, P.G. Waterman, Nat. Prod. Commun. 4 (2009) 951.
- [17] M.R.L. Paine, B.L.J. Poad, G.B. Eijkel, D.L. Marshall, S.J. Blanksby, R.M.A. Heeren, S.R. Ellis, Angew. Chem. Int. Ed. 57 (2018) 10530.
- [18] M.D. Hanwell, D.E. Curtis, D.C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, G.R. Hutchison, J. Cheminf. 4 (2012) 17.
- [19] A.D. Becke, J. Chem. Phys. 98 (1993) 5648.
- [20] P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski, M.J. Frisch, J. Phys. Chem. 98 (1994) 11623.
- [21] W.J. Hehre, R. Ditchfield, J.A. People, J. Chem. Phys. 56 (1972) 2257.
- [22] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T.J. Vreven, A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers,

K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Kaghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi,

C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich S, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, J.D. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.

**Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.**

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

- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ 3 เรื่อง

ผู้แต่ง: Chiramet Auranwiwat, Roonglawan Rattanajak, Sumalee

Kamchonwongpaisan, Surat Laphookhieo, Stephen G. Pyne, Thunwadee  
Limtharakul\*

ชื่อเรื่อง: Four new C-benzyl flavonoids from the fruit of *Uvaria cherrevensis*

ชื่อวารสาร: Fitoterapia (IF 2.431)

ปี: 2018 เล่มที่: 130 หน้า: 198-202.

ผู้แต่ง: Chiramet Auranwiwat, Puttandon Wongsomboon, Thanaphat Thaima,

Roonglawan Rattanajak, Sumalee Kamchonwongpaisan, Anthony C. Willis,  
Surat Laphookhieo, Stephen G. Pyne, Thunwadee Limtharakul\*

ชื่อเรื่อง: Polyoxygenated Cyclohexenes and Their Chlorinated Derivatives from the  
Leaves of *Uvaria cherrevensis*

ชื่อวารสาร: Journal of Natural Products (IF 4.257)

ปี: 2019 เล่มที่: 82 หน้า: 101-110.

ผู้แต่ง: Chiramet Auranwiwat, Alan T. Maccarone, Anthony C. Willis, Roonglawan

Rattanajak, Sumalee Kamchonwongpaisan, Stephen J. Blanksby, Stephen  
G. Pyne, Thunwadee Limtharakul\*

ชื่อเรื่อง: Structure elucidation of cyclohexene (9Z)-octadec-9-enyl ethers isolated from the leaves of *Uvaria cherrevensis* (Annonaceae)

ชื่อวารสาร: Tetrahedron (IF 2.379)

ปี: 2019 เล่มที่: 75 หน้า: 2336-2342.

## 2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

### - เชิงวิชาการ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากพืชทั้ง 2 ชนิดทำให้ทราบว่าเฉพาะต้นนมแมวป่า มีโครงสร้างที่หลากหลายและน่าสนใจหลายชนิด สารบริสุทธิ์ส่วนใหญ่ มีฤทธิ์ในการต้านมาลาเรียบ้าง จากองค์ความรู้นี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยารักษาโรค หรือนำมาเป็นพื้นฐานในการค้นคว้างานวิจัยด้านนี้และร่วมมือกับหลายๆสาขาได้ต่อไป เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด