

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง “การวิจัยเพื่อค้นหาสารต้านมาลาเรียจากพืชสมุนไพรไทย”

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. กิตติศักดิ์ ลิขิตวิทย์

ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์

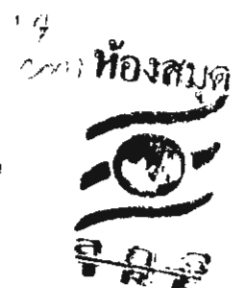
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2542

วันที่.....

เลขที่.....

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ธรรมชาติวิทยา (สศป.)
กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
เลขที่ ๓๖ หมู่ ๒ ถนนพหลโยธิน ตำบลบางพลีใหญ่ อำเภอบางพลี
จังหวัดสมุทรปราการ ๑๐๖๐๐
โทร. ๒๙๘-๐๔๕๕ โทรสาร ๒๙๘-๐๔๗๖
Home page: <http://www.trf.or.th>
E-mail: trf@trf.or.th



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ส่งเสริมและให้การสนับสนุนโครงการวิจัยนี้มาโดยตลอด ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จิระพันธ์ กริ่งไกร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี รองศาสตราจารย์ ธาตรี ผดุงเจริญ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิเชียร จงบุญประเสริฐ ที่ได้กรุณาเก็บตัวอย่างพืชหลายชนิด รวมทั้งนิสิตบัณฑิตศึกษาหลายท่านที่ได้มีส่วนร่วมในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้บริการนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

จากพืชสมุนไพรไทยจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Nepenthes thorelii*, *Garcinia dulcis*, *Garcinia cowa*, *Goniothalamus tenuifolius*, *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* และ *Murraya siamensis* สามารถแยกสารธรรมชาติได้ 31 ชนิด และเตรียมสารกึ่งสังเคราะห์ได้ 7 ชนิด เมื่อศึกษาโครงสร้างของสารเหล่านี้โดยวิธี spectroscopy (UV, IR NMR และ MS) พบว่า สารเหล่านี้อาจแบ่งกลุ่มได้เป็น naphthoquinones, xanthones, aporphinoid alkaloids, anthraquinones, naphthalenes และ carbazole alkaloids พบว่าสาร 7-O-methyl garcinone E ซึ่งเป็นสารที่แยกจาก *G. cowa* มีโครงสร้างใหม่ ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารทั้งหมดนี้โดยวิธี *in vitro* radio-labeled hypoxanthine incorporation จากผลการทดสอบของสารทั้งหมด พบว่าสารกลุ่ม aporphinoid alkaloids ซึ่งมีโครงสร้างเป็น 6a,7-dehydro มีฤทธิ์แรงที่สุด โดยมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ chloroquine จึงน่าที่จะมีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป ส่วนสารกลุ่ม xanthones นั้น แม้ว่าจะมีฤทธิ์ต้านมาลาเรียปานกลาง อาจจะนำมาพัฒนาใช้ร่วมกับยาด้านมาลาเรียชนิดอื่นได้

คำหลัก : ยาด้านมาลาเรีย, สมุนไพรไทย, *Nepenthes thorelii*, *Garcinia dulcis*, *Garcinia cowa*, *Goniothalamus tenuifolius*, *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana*, *Murraya siamensis*

Abstract

From eight species of Thai medicinal plants namely, *Nepenthes thorelii*, *Garcinia dulcis*, *Garcinia cowa*, *Goniothalamus tenuifolius*, *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* and *Murraya siamensis*, 38 compounds were isolated and prepared. These compounds could be categorized as naphthoquinones, xanthenes, aporphine alkaloids, anthraquinones and carbazole alkaloids. It was found that the aporphine alkaloids with 6a,7-dehydro structure possessed the strongest antimalarial activity with potency nearly equal to that of chloroquine, and thereby provided the possibilities for future research and development. It was also discovered that the xanthenes, demonstrating moderate antimalarial activity, may have potential use if given simultaneously with other available antimalarial agents.

Key words : Antimalarials, Thai Medicinal Plants, *Nepenthes thorelii*, *Garcinia dulcis*, *Garcinia cowa*, *Goniothalamus tenuifolius*, *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* and *Murraya siamensis*.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	2
บทคัดย่อ (ไทย).....	3
บทคัดย่อ (อังกฤษ).....	4
บทนำ.....	6
วิธีการทดลองและผลการทดลอง.....	13
อภิปราย วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง.....	51
เอกสารอ้างอิง.....	61
ผลงานตีพิมพ์.....	72
ภาคผนวก (^1H NMR spectra ของสาร).....	73

บทนำ

มาลาเรียเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิต (parasite) พวก *Plasmodia* โดยมียุงก้นปล่อง (*Anopheles*) เป็นพาหะ แม้ว่าจะได้มีการรณรงค์พยายามที่จะกำจัดมาลาเรียให้หมดไปจากโลกมาเป็นเวลานานกว่าสามสิบปีแล้วก็ตาม มาลาเรียก็ยังคงเป็นโรคร้ายที่คอยบั่นทอนสุขภาพ อนามัย และทำลายคุณภาพชีวิตของมนุษย์มาตลอดโดยไม่มีทีท่าว่าจะลดน้อยลงไป (1) จากสถิติขององค์การอนามัยโลก แต่ละปีจะมีผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียมากกว่าหนึ่งร้อยล้านคน และในจำนวนนี้ประมาณกันว่าผู้ป่วยจำนวนมากกว่าหนึ่งล้านคนจะมีอาการรุนแรงถึงแก่ชีวิต (2) ลักษณะโดยทั่วไปของโรคมาลาเรียนั้น นอกจากจะอาจก่อให้เกิดอาการป่วยรุนแรงแบบเฉียบพลันจนถึงแก่ชีวิตแล้ว ยังอาจก่อความทรมาณให้แก่ผู้ป่วยในเวลาต่อมา ด้วยอาการป่วยเรื้อรังอันเนื่องมาจากเชื้อที่หลบซ่อนอยู่ในตับ ทำให้ผู้ป่วยเสียขวัญ กำลังใจ และกำลังกายในการประกอบกิจการงาน จึงนับได้ว่ามาลาเรียเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างสูงทั้งทางเศรษฐกิจและสังคม (3) จากสาเหตุดังกล่าวองค์การอนามัยโลกจึงได้พยายามทบทวนและประเมินผลการกำจัดและควบคุมมาลาเรียที่ได้ดำเนินการตลอดมา ซึ่งแม้ว่าจะได้ทุ่มเทพยายามมากมายเพื่อการวิจัยผลิตวัคซีนป้องกันมาลาเรีย แต่ก็ยังไม่ประสบความสำเร็จ (4) ความพยายามครั้งล่าสุดได้เริ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2536 โดยองค์การอนามัยโลกได้ออกประกาศ "กลยุทธ์ในการควบคุมมาลาเรียทั่วโลก (Global Malaria Control Strategy)" โดยนอกจากจะเน้นการตรวจวินิจฉัย การรักษา การป้องกัน และการควบคุม

การระบาดของโรคแล้ว ยังประกาศส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยมาลาเรียทั้งในแง่ของการวิจัยพื้นฐานและการวิจัยประยุกต์ (2)

สำหรับบ้านเรานั้น ปัญหาของมาลาเรียถ้ามองอย่างผิวเผินแล้ว จะดูเหมือนว่าได้บรรเทาลงไปมาก ถ้าพิจารณาจากอัตราป่วย และอัตราตายต่อปีของประชากร จากสถิติในปี พ.ศ. 2535 พบว่าเรามีอัตราป่วย 3.15 คนต่อประชากร 1,000 คน และอัตราตาย 1.80 คนต่อประชากร 100,000 คน (5) ซึ่งเป็นค่าตัวเลขที่ชี้แนวโน้มการควบคุมโรคที่จะเป็นไปตามเป้าหมายของแผนพัฒนาการสาธารณสุขตามแผนพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2535-2539) ที่กำหนดไว้ว่าจะลดอัตราการป่วยให้เหลือเป็น 3.0 คนต่อประชากร 1,000 คน และลดอัตราตายให้เป็น 1.5 คนต่อประชากร 100,000 คน (7) แต่ถ้าเราวิเคราะห์อย่างลึกซึ้งแล้ว จะพบว่าสถานการณ์ของโรคมาลาเรียในปัจจุบันยังคงอยู่ในลักษณะที่น่าเป็นห่วงอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากมาลาเรียยังคงเป็นโรคที่พบอยู่ทั่วไปทุกภาค ยกเว้นเพียงบางจังหวัดใหญ่เท่านั้น นอกจากนี้การควบคุมการระบาดของโรคกำลังกลายเป็นปัญหาที่ทวีความสลับซับซ้อนมากขึ้น โดยมีสาเหตุมาจากปัจจัยคุกคามที่สำคัญ 2 ประการ ประการแรกได้แก่ ความลำบากในการติดตามดูแล รักษา ฝึกระวัง และควบคุมไข้มาลาเรียในกลุ่มคนที่มีการเดินทางย้ายถิ่นฐานอยู่เสมอ ซึ่งได้แก่ กลุ่มชนที่มีการอพยพเคลื่อนย้ายสูง ชนกลุ่มน้อย กลุ่มคนที่อาศัยบริเวณชายแดน รวมถึงนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและต่างประเทศอีกด้วย (7) ปัจจัยคุกคามประการที่สองซึ่งมีความสำคัญไม่น้อยกว่าประการแรกได้แก่ ปัญหาการดื้อยาของเชื้อมาลาเรีย ซึ่งก่อให้เกิดความยุ่งยากในการ

รักษามานบางครั้งไม่อาจรักษาชีวิตผู้ป่วยไว้ได้ หรือในบางกรณีรักษาได้แต่ไม่หายขาด เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องระยะเวลาที่ผู้ป่วยยอมรักษาตัวในโรงพยาบาล (7, 8)

เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อ *Plasmodium falciparum* ที่พบในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งในประเทศไทยเราดื้อต่อยา chloroquine และ sulfadoxine/pyrimethamine (9) นอกจากนี้ เชื้อมาลาเรียดังกล่าวยังเริ่มดื้อต่อยารักษามาลาเรียที่ออกมาใหม่และเคยใช้ได้ผลดีเช่น mefloquine อีกด้วย (10) ทำให้การรักษามาลาเรียให้หายขาดเป็นไปได้ยากขึ้น ต้องใช้ยาตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปเช่น quinine ร่วมกับ tetracycline เพื่อให้ได้ผลดีในการรักษา แต่ก็พบว่าเชื้อดังกล่าวเริ่มดื้อกับยา quinine แล้วเช่นกัน (9) จะเห็นได้ว่าเชื้อมาลาเรียมีการปรับตัวและพัฒนาให้มีความทนและดื้อต่อยาที่เราใช้อยู่เสมอ ทำให้การวิจัยค้นหายาชนิดใหม่เพื่อใช้ฆ่าเชื้อมาลาเรียเป็นสิ่งที่ละเลยมิได้ ในทางตรงกันข้ามกลับจะต้องกระทำกันอย่างเป็นระบบและต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ยาใหม่ไว้ใช้แทนยาเก่าได้ทันต่อสถานการณ์ ในขณะที่ทิศทางการวิจัยยารักษามาลาเรียทางคลินิกในบ้านเรามุ่งศึกษาฤทธิ์ของสารจากธรรมชาติชื่อ artemisinin รวมทั้งอนุพันธ์กึ่งสังเคราะห์ของสารนี้ เนื่องจากพบว่าสารเหล่านี้ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *P. falciparum* ในผู้ป่วยได้ดี (11) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารอนุพันธ์ชื่อ artesunate นั้นใช้รับประทานให้ผลในการรักษามาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม (*falciparum malaria*) แบบเฉียบพลันได้ผลดีเทียบเท่ากับการรักษาด้วย quinine ร่วมกับ tetracycline (12) อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่รักษามานอาการดีขึ้นด้วยสารในกลุ่มนี้จะมีอัตราป่วยกลับ (recrudescence rate) สูง (13) ซึ่งอาจนับได้ว่าเป็นข้อด้อยของยาในกลุ่มนี้ สาร artemisinin (จีน

เรียก Qinghaosu) นั้นโดยข้อเท็จจริงแล้วเป็นสารธรรมชาติที่พบครั้งแรกในพืชชื่อ *Artemisia annua* L. (จีนเรียก Qinghao) ซึ่งเป็นยาพื้นบ้านใช้รักษาไข้มาลาเรียในประเทศจีนมาหลายพันปี

(14) ถ้าเรามองย้อนกลับไปจะพบว่า โดยข้อเท็จจริงแล้วยาด้านมาลาเรียที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ล้วนมีจุดเริ่มต้นมาจากการศึกษาสารที่ได้จากธรรมชาติมาแทบทั้งสิ้น โดยเริ่มตั้งแต่การพบ quinine ในเปลือกต้น *Cinchona* ในปี พ.ศ. 2363 ซึ่งการศึกษาฤทธิ์และโครงสร้างของ quinine ในเวลาต่อมาได้นำไปสู่การสังเคราะห์ยาด้านมาลาเรียหลายชนิด เช่น chloroquine และ primaquine (15) ยาด้านมาลาเรียชนิดใหม่ artemisinin และอนุพันธ์แม้ว่าจะมีข้อจำกัดในการใช้ แต่ก็ก็เป็นสิ่งที่ตอกย้ำให้เห็นถึงความสำคัญและความสำเร็จของการวิจัยหาใหม่ที่เริ่มต้นจากการศึกษาสมุนไพร และตำรายาพื้นบ้าน นอกจากนี้ยังเป็นเครื่องชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะพบสารด้านมาลาเรียชนิดใหม่จากแหล่งธรรมชาติอื่นๆอีก ซึ่งอาจมีฤทธิ์ดีกว่าและสามารถนำมาพัฒนาใช้แทนยาที่ใช้ไม่ได้ผลได้ในอนาคต

ในโครงการวิจัยเพื่อค้นหาสารด้านมาลาเรียจากพืชสมุนไพรไทยนี้ ได้ทำการเก็บตัวอย่างพืชจำนวนทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง มาสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้เป็นสิ่งสกัดหยาบ ทำการตรวจสอบฤทธิ์ด้านมาลาเรียของสิ่งสกัดเหล่านี้ แล้วคัดเลือกมาจำนวน 8 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาอย่างละเอียดต่อไป ได้แก่ (1) น้ำเต้าลม *Nepenthes thorelii* (2) มะพูด *Garcinia dulcis* (3) ชะมวง *Garcinia cowa* (4) *Goniothalamus tenuifolius* (5) สบู่เลือด *Stephania venosa* (6) พญาครุฑ

Prismatomeris sessiliflora (7) มะเกลือป่า *Diospyros montana* และ (8) ไปรงฟ้า *Murraya siamensis*

(1) *Nepenthes thorelii*

พืชสกุล *Nepenthes* เป็นพืชกินแมลง จัดอยู่ในวงศ์ *Nepenthaceae* ในบ้านเราพบว่ามียู่ 6 ชนิด แต่ชนิดที่เราคุ้นชื่อกันดีได้แก่ หม้อแกงลิง (*Nepenthes ampullaria* Jack) (16) ต้นหม้อแกงลิงนี้แม้ว่าจะไม่มีการกล่าวไว้ในตำรายาไทย แต่ในมาเลเซียนั้นชาวบ้านนำต้นมาต้มดื่มแก้ อาการจับไข้เป็นระยะ (remittent fever) (17) ส่วนต้นน้ำเต้าลม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nepenthes thorelii* Lec. มีลักษณะเป็นพืชไม้เถา (climber) (16) จากการตรวจสอบสิ่งสกัด chloroform พบว่ามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Plasmodium* ในจานทดลอง (*in vitro*) โดยมีค่า IC_{50} 10 $\mu\text{g/ml}$

(2) *Garcinia dulcis*

มะปูด *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz เป็นไม้ยืนต้นในวงศ์ *Guttiferae* ในตำรายาไทยไม่ปรากฏว่ามีการใช้ประโยชน์ในทางยา อย่างไรก็ตามในโครงการวิจัยนี้ เมื่อนำสิ่งสกัด methanol ของเปลือกต้นทดสอบ พบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 5 $\mu\text{g/ml}$) จากการสำรวจรายงานการวิจัยที่ผ่านมามีการศึกษาการแยกสารกลุ่ม xanthones หลายชนิดจากเปลือกต้น กิ่ง และรากของ พืชนี้ (18-19) แต่ยังไม่มียานการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียของพืชชนิดนี้ หรือสารกลุ่ม xanthones เลย

(3) *Garcinia cowa*

ชะมวง เป็นไม้ยืนต้น จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia cowa* Roxb. พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ในตำรายาไทยโบราณใช้ใบและผลเป็นยาระบาย แก้ไข้ กัดฟอกเสมหะ แก้อาตุพิการ และใช้รากเป็นยาแก้ไข้ (20) จากการสำรวจงานวิจัยที่ผ่านมา พบรายงานการแยกสารในกลุ่ม xanthones หลายชนิด (21-22) แต่ไม่พบว่าเคยมีการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียของต้นไม้อหรือสารกลุ่มดังกล่าว เมื่อนำสิ่งสกัด methanol ของเปลือกต้นไปทดสอบ พบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 5 μ g/ml)

(4) *Goniothalamus tenuifolius*

Goniothalamus tenuifolius King จัดอยู่ในวงศ์ Annonaceae ไม่ปรากฏว่ามีชื่อไทย นอกจากนี้ไม่เคยมีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชนี้มาก่อน ไม่ว่าจะเป็นในทางเคมี หรือฤทธิ์ชีวภาพ สิ่งที่น่าสนใจก็คือ ใน *G. giganteus* ซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกัน มีผู้พบสารซึ่งมีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เมื่อนำสิ่งสกัด methanol ของเปลือกต้น *G. tenuifolius* มาทำ partition ระหว่างน้ำ และ chloroform แล้วนำสิ่งสกัด chloroform มาตรวจสอบพบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 5 μ g/ml)

(5) *Stephania venosa*

สบู่เลือด *Stephania venosa* Spreng วงศ์ Menispermaceae เป็นพืชเลื้อย ถ้ำหักต้น หรือก้านใบจะเห็นน้ำสีแดงคล้ายเลือด ส่วนลำต้นที่อยู่ใต้ดินจะโป่งออกเป็นหัว (tuber) ในตำรายาไทยใช้

หัวเป็นยาเจริญอาหาร มีรายงานการศึกษาทางพิษเคมีหลายชิ้น (23-26) โดยกล่าวถึงการพบสารพวก alkaloids ในกลุ่ม protoberberines, proaporphines และ aporphines แต่ยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เมื่อนำสิ่งสกัด methanol มาตรวจสอบ พบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 2 $\mu\text{g/ml}$)

(6) *Prismatomeris sessiliflora*

พญาครุฑ *Prismatomeris sessiliflora* Pierre ex Pitard วงศ์ Rubiaceae เป็นต้นไม้ที่ยังไม่มีการศึกษามาก่อน รากของพืชนี้เมื่อนำมาสกัดด้วย methanol แล้วนำสิ่งสกัดที่ได้ไปทดสอบ พบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 10 $\mu\text{g/ml}$)

(7) *Diospyros montana*

ได้มีผู้ศึกษาทางพิษเคมีของส่วนต่างๆ ของมะเกลือป่า *Diospyros montana* Roxb. วงศ์ Ebenaceae โดยพบสารในกลุ่ม naphthoquinones หลายชนิด (27-37) ในงานวิจัยนี้พบว่าสิ่งสกัด ethyl acetate ของส่วนรากมะเกลือป่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 10 $\mu\text{g/ml}$)

(8) *Murraya siamensis*

โปรงฟ้า *Murraya siamensis* เป็นพืชที่มีผู้ศึกษาทางด้านพิษเคมีแล้ว โดยพบสารกลุ่ม carbazole alkaloids (38) จากการทดสอบของสิ่งสกัด chloroform ของรากโปรงฟ้า พบว่ามีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50} 4 $\mu\text{g/ml}$)

วิธีการทดลองและผลการทดลอง

I. การสกัดแยกสารบริสุทธิ์

1.1 *Nepenthes thorelii*

การศึกษาด้านมาลาเรียจากน้ำเต้าสมนี้แบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนได้แก่ (ก) การสกัดแยก
เอสารบริสุทธิ์ และ (ข) การสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารที่แยกได้

(ก) การสกัดแยกเอสารบริสุทธิ์จากสิ่งสกัด

เก็บต้นน้ำเต้าสมมาจากจังหวัดชุมพร อบแห้ง (1.3 kg) จากนั้นนำมาแช่สกัดด้วย ethanol
(4 x 3 L) นำสิ่งสกัด (30 g) ที่ได้นี้มาทำ partition โดยใช้ น้ำ chloroform และ n-butanol ได้
เป็นสิ่งสกัดน้ำ (3.5 g) สิ่งสกัด chloroform (18 g) และสิ่งสกัด n-butanol (7.8 g) เมื่อนำสิ่ง
สกัดแต่ละส่วนไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย พบว่าสิ่งสกัด chloroform มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (IC_{50}
= 10 $\mu\text{g/ml}$) ส่วนสิ่งสกัดน้ำ และสิ่งสกัด n-butanol ไม่มีฤทธิ์ ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$) นำสิ่งสกัด
chloroform มาทำการแยกต่อ โดยวิธี column chromatography ใช้ silica gel เป็น adsorbent โดย
มี petroleum ether และ ethyl acetate เป็น eluant ในลักษณะ polarity-gradient แยกได้เป็น 4
ส่วน

ส่วนที่หนึ่ง นำไปตกผลึกใน petroleum ether/acetone ได้เป็นสาร plumbagin [1] (3 g) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ ผลึกรูปเข็มสีส้ม; mp 77-78 °C; EIMS m/z (% relative intensity) 188 (100), 173 (25), 160 (25), 145 (5), 131 (45), 120 (23), 114 (4), 103 (9), 92 (27), 77 (12), 74 (6), 63 (26), 51 (11); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 209 (4.50), 264 (4.06), 418 (3.58) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 1664, 1455, 1364, 1259 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.19 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, 2-Me), 6.79 (1H, q, $J = 1.5$ Hz, H-3), 7.24 (1H, dd, $J = 1.8, 7.6$ Hz, H-6), 7.59 (1H, dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, H-7), 7.62 (1H, dd, $J = 1.8, 7.6$ Hz, H-8), 11.95 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 16.5 (2-Me), 115.1 (C-4a), 119.2 (C-8), 124.1 (C-6), 132.0 (C-8a), 135.4 (C-3), 136.0 (C-7), 149.6 (C-2), 161.1 (C-5), 184.7 (C-1), 190.2 (C-4).

ส่วนที่สอง นำไปแยกโดยวิธี column chromatography ใช้ silica gel เป็น adsorbent โดยมี chloroform กับ ethyl acetate เป็น eluant ในลักษณะ polarity-gradient แยกได้เป็น 2 ส่วน

ส่วนแรกนำไปแยกต่อโดยวิธี preparative thin-layer chromatography โดยใช้ silica gel เป็น adsorbent และ petroleum ether - ethyl acetate (85:15) เป็น eluant ได้สาร isoshinanolone [2] (14 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 192 (79), 177 (14), 163 (9), 150 (36), 131 (13), 121 (100), 115 (7), 103 (6), 93 (15), 83 (20), 77 (11), 65 (24), 55 (3); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 214

(3.99), 258 (3.8), 332 (3.33) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3101, 1638, 1455, 1343, 1243 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 1.17 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, 2-Me), 2.42 (1H, m, H-2), 2.56 (1H, dd, $J = 4.3, 17.7$ Hz, H-3_e), 2.86 (1H, dd, $J = 17.7, 11.0$ Hz, H-3_a), 4.74 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-1), 6.92 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-8), 6.93 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-6), 7.47 (1H, dd, $J = 7.3, 7.3$ Hz, H-7), 12.40 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 16.1 (2-Me), 34.4 (C-2), 40.7 (C-3), 71.1 (C-1), 114.9 (C-4a), 118.1 (C-6), 118.6 (C-8), 136.9 (C-7), 145.0 (C-8a), 162.7 (C-5), 204.7 (C-4).

ส่วนหลังนำไปแยกต่อในลักษณะคล้ายกันแต่ใช้ petroleum ether - ethyl acetate

(8:2) เป็น eluant ได้สาร octadecyl caffeate [3] (25 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้
 EIMS m/z (% relative intensity) 432 (11), 180 (42), 163 (28), 111 (11), 97 (22), 83 (43), 69 (53), 55 (73), 43 (100); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3500, 2990, 2800, 1700, 1610, 1230, 1190 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5) δ 0.87 (3H, dd, $J = 7.0, 7.0$ Hz, H-18'') 1.24 - 1.31 (m, 30H, H₂-3' - H₂-17'), 1.68 (2H, m, H₂-2'), 4.29 (2H, dd, $J = 6.7, 6.7$ Hz, H-1'), 6.65 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2), 7.22 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.20 (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6'), 7.62 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 8.01 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (125 MHz, pyridine- d_5) δ 14.3 (C-18''), 22.9,

26.3, 29.2, 29.6, 29.8, 29.9, 30.0, 32.1 (C-3' - C-17'), 29.6 (C-2'), 64.4 (C-1'), 115.1 (C-2), 115.8 (C-2'), 116.7 (C-6'), 122.0 (C-5'), 126.9 (C-1'), 145.8 (C-3), 147.7 (C-4'), 150.5 (C-3'), 167.6 (C-1).

ส่วนที่สาม นำไปแยกในคอลัมน์ของ sephadex LH 20 โดยใช้ methanol เป็น eluant แล้วนำไปแยกต่อโดยวิธี preparative TLC บนแผ่น silica gel ใช้ toluene – ethyl acetate (95:5) เป็น developing solvent แยกได้สาร 2-methylnaphthazarin [4] (2 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 204 (94), 189 (83), 175 (18), 161 (76), 156 (39), 147 (39), 141 (27), 133 (53), 128 (18), 119 (71), 105 (100), 91 (87), 81 (47), 77 (42), 67 (23), 61 (10), 55 (26); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 2922, 1640, 1230 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.01 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, 2-Me), 6.81 (q, $J = 1.5$ Hz, H-3), 7.20 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-7), 7.29 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6), 12.60 (2H, s, 5-OH และ 8-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 16.6 (2-Me), 115.5 (C-4a), 124.3 (C-6), 128.2 (C-8a), 134.9 (C-3), 135.6 (C-8), 138.0 (C-7), 150.0 (C-2), 161.4 (C-5), 185.2 (C-1), 190.5 (C-4).

ส่วนที่สี่ นำไปแยกโดยวิธี column chromatography 2 ครั้ง ครั้งแรกใช้ silica gel ร่วมกับ petroleum ether – ethyl acetate (8:2) แล้วนำมาแยกต่อด้วย silica gel ร่วมกับ petroleum ether – acetone (7:3) ได้สาร droserone [5] (7 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้

EIMS m/z (% relative intensity) 204 (53), 158 (19), 147 (61), 130 (45), 121 (48), 97 (9), 91 (48), 83 (22), 75 (35), 69 (26), 63 (79), 55 (81); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 228 (4.70), 279 (4.68), 401 (4.15) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3485, 1626, 1450, 1100 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.10 (3H, s, 2-Me), 7.20 (1H, dd, $J = 1.2$, 8.2 Hz, H-6), 7.23 (1H, br s, 3-OH), 7.62 (1H, dd, $J = 7.7$, 7.7 Hz, H-7), 7.66 (1H, dd, $J = 1.2$, 7.7 Hz, H-8), 11.1 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 8.8 (2-Me), 112.9 (C-4a), 119.6 (C-8), 121.8 (C-2), 123.2 (C-6), 132.7 (C-8a), 137.5 (C-7), 152.8 (C-3), 161.2 (C-5), 184.2 (C-1), 184.5 (C-4).

นำสารที่แยกได้ทั้งหมดมาศึกษาโครงสร้าง โดยวิเคราะห์คุณสมบัติของสารทางกายภาพของสาร และเปรียบเทียบข้อมูลที่มีผู้รายงานไว้ก่อน ได้ข้อสรุปดังนี้

สาร plumbagin [1] (39-41) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR ของสารนี้อย่างละเอียดโดยใช้เทคนิค DEPT, HMQC และ HMBC เข้าช่วย พบว่า ^{13}C NMR assignments ของสารนี้ที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง C-2, C-6, C-7, C-8, C-4a และ C-8a (21) มีความผิดพลาดต้องมีการแก้ไข

สาร isoshinanolone [2] (39, 42) ได้ทำการทดลอง NMR เพิ่มเติมซึ่งได้แก่ ^1H - ^1H COSY, NOESY, DEPT, HMQC และ HMBC ซึ่งยืนยันโครงสร้างของสารดังกล่าว นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังช่วยให้สามารถทำ ^{13}C NMR assignment ของสารนี้ได้สมบูรณ์

สาร octadecyl caffeate [3] (43) ได้ทำการทดลอง ^1H - ^1H COSY, NOESY, DEPT, HMQC และ HMBC เพิ่มเติมเช่นเดียวกันเพื่อทำ ^{13}C NMR assignments ของสารนี้ เนื่องจากยังไม่มีผู้ศึกษามาก่อน

สาร methylnaphthazarin [4] (44) ได้ทำการทดลอง ^1H - ^1H COSY, NOESY, DEPT, HMQC และ HMBC เพิ่มเติมเพื่อทำ complete assignments ของทั้ง ^1H และ ^{13}C NMR resonances เนื่องจากยังไม่มีผู้ศึกษามาก่อน

สาร droserone [5] (45) ได้ทำการทดลอง ^1H - ^1H COSY, NOESY, DEPT, HMQC และ HMBC เพิ่มเติมเพื่อแก้ไข ^{13}C NMR assignments ที่มีผู้รายงานไว้ (46)

(ข) การสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารที่แยกได้

เนื่องจากสาร plumbagin ที่แยกได้มีปริมาณมาก (3 g) จึงได้ใช้สาร plumbagin ดังกล่าวเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารที่มีโครงสร้างต่างออกไป ได้สารอนุพันธ์ทั้งสิ้น 7 ชนิด สารเหล่านี้ได้นำไปศึกษาคุณสมบัติทาง NMR อย่างละเอียดโดยใช้เทคนิค HMQC และ HMBC ช่วยในการทำ ^1H และ ^{13}C NMR assignments อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียเพื่อเก็บข้อมูลที่อาจเป็นประโยชน์ในการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้

การสังเคราะห์สาร 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [6]

ละลาย plumbagin (1) 750 mg ใน chloroform 10 ml เติม silver (I) oxide 3 g และ iodomethane 15 ml คนทิ้งไว้ค้างคืน กรองเอา filtrate มาระเหยให้แห้งได้ 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [6] (737 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 202 (100), 189 (8), 173 (22), 156 (15), 145 (12), 128 (14), 115 (22), 104 (26), 88 (14), 76 (42), 69 (12), 55 (17), 39 (26), 32 (11); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 2900, 1660, 1590, 1430, 1300, 1220 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.14 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, 2-Me), 4.01 (3H, s, 5-OMe), 6.74 (1H, q, $J = 1.5$ Hz, H-3), 7.29 (1H, dd, $J = 0.9, 8.7$ Hz, H-6), 7.66 (1H, dd, $J = 8.7, 8.7$ Hz, H-7), 7.76 (1H, dd, $J = 0.9, 8.7$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 15.8 (2-Me), 56.4 (5-OMe), 117.6 (C-4a), 119.3 (C-6), 120.0 (C-8), 134.4 (C-8a), 134.6 (C-3), 137.8 (C-7), 145.4 (C-2), 159.4 (C-5), 184.5 (C-4), 185.8 (C-1). คุณสมบัติทาง ^1H และ ^{13}C NMR ของสารนี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (40, 47)

การสังเคราะห์สาร 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide [7]

อุ่นสารละลายของ 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [6] 700 mg ใน methanol 10 ml แล้วเติมสารละลายซึ่งประกอบด้วย hydrogen peroxide 1 ml ใน sodium carbonate solution (5% w/v) จำนวน 7 ml เขย่าอย่างแรงให้เข้ากัน นำ reaction mixture ได้

มาสกัดด้วย chloroform 70 ml นำสิ่งสกัดที่ได้มาระเหยให้แห้งได้สาร 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide [7] (517 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 218 (100), 203 (32), 189 (29), 175 (44), 161 (34), 147 (23), 135 (35), 119 (30), 91 (21), 76 (61), 63 (32), 50 (29), 43 (92), 32 (18); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 2947, 2922, 1690, 1588, 1451, 1255 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 1.71 (3H, s, 2-Me), 3.83 (1H, s, H-3), 3.95 (3H, s, 5-OMe), 7.27 (1H, J = 0.9, 7.9 Hz, H-6), 7.56 (1H, dd, J = 0.9, 7.6 Hz, H-8), 7.64 (1H, dd, J = 7.6, 7.6 Hz, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 14.4 (2-Me), 56.4 (5-OMe), 61.5 (C-2), 61.6 (C-3), 117.6 (C-6), 119.5 (C-8), 120.5 (C4a), 134.3 (C-8a), 135.0 (C-7), 158.9 (C-5), 191.2 (C-4), 192.9 (C-1). สารนี้เคยมีผู้สังเคราะห์ไว้ (46) แต่ไม่มีรายงานคุณสมบัติทาง ^1H และ ^{13}C NMR

การสังเคราะห์ 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8]

นำ 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide [7] 400 mg มาเติม sulfuric acid จำนวน 1 ml รอจน reaction mixture เปลี่ยนเป็นสีแดงแล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เติมน้ำลงไปจนเห็นตะกอนสีเหลืองตกลงมา กรองเอาตะกอนที่ได้ ทำให้แห้ง ได้เป็นสาร 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8] จำนวน 242 mg ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 218 (100), 200 (7), 189 (10), 172

(16), 147 (14), 131 (14), 105 (13), 91 (12), 84 (18), 76 (29), 65 (15), 55 (30), 43 (35), 32 (50); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3255, 2811, 1658, 1636, 1538, 1202 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.07 (3H, s, 2-Me), 4.03 (3H, s, 5-OMe), 7.24 (1H, dd, $J = 0.8, 8.4$ Hz, H-6), 7.69 (1H, dd, $J = 8.4, 8.0$ Hz, H-7), 7.71 (1H, s, 3-OH), 7.79 (1H, dd, $J = 0.8, 8.0$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 8.4 (2-Me), 56.5 (5-OMe), 116.6 (C-6), 116.9 (C-4a), 118.0 (C-2), 119.6 (C-8), 135.2 (C-8a), 136.2 (C-7), 153.6 (C-3), 160.0 (C-5), 179.6 (C-4), 184.8 (C-1). คุณสมบัติทาง UV และ ^1H NMR ของสารนี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (48)

การสังเคราะห์ 3-acetyloxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [9]

นำสาร 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8] 40 mg ละลายใน pyridine 0.5 ml เติม acetic anhydride 1 ml คนทิ้งไว้ค้างคืน แล้วเติมน้ำนำมาสกัดด้วย chloroform นำชั้น chloroform มากำจัดน้ำด้วย anhydrous Na_2SO_4 แล้วระเหยให้แห้งได้สาร 3-acetoxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [9] 20 mg ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 260 (2), 218 (85), 200 (12), 172 (12), 161 (9), 131 (6), 91 (6), 76 (15), 63 (9), 55 (14), 43 (100), 32 (7); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3454, 1663, 1276, 1165 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.06 (3H, s, 2-Me), 2.40 (3H, s, 3-OCOMe), 4.00 (5-OMe), 7.28 (1H, dd, $J = 0.9, 7.9$ Hz, H-6), 7.67

(1H, dd, $J = 7.6, 7.9$ Hz, H-7), 7.79 (1H, $J =$ dd, 0.9, 7.6 Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 9.6 (2-Me), 20.4 (3-OCOMe), 56.5 (3H, 5-OMe), 117.8 (C-6), 118.5 (C-4a), 119.4 (C-8), 133.5 (C-2), 134.3 (C-8a), 135.2 (C-7), 151.9 (C-3), 160.1 (C-5), 167.9 (3-OCOCH₃), 176.6 (C-4), 185.0 (C-1). สารนี้ไม่เคยมีรายงานว่าพบในธรรมชาติ หรือมีผู้สังเคราะห์มาก่อน

การสังเคราะห์ 3,5-dimethoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [10]

ละลายสาร 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8] 70 mg ใน chloroform 10 ml เติม silver (I) oxide 400 mg และ methyl iodide 10 mg คนทิ้งไว้ค้างคืน นำ reaction mixture ที่ได้มาระเหยให้แห้ง แล้วนำมาแยกด้วยวิธี preparative thin-layer chromatography (silica gel, petroleum ether – ethyl acetate 7:3) ได้สาร 2 ชนิดคือ 3,5-dimethoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [10] (12 mg) และ สาร 11 (7 mg)

สาร 10 มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 232 (100), 217 (42), 202 (13), 189 (23), 173 (22), 159 (12), 145 (10), 135 (16), 115 (20), 91 (12), 76 (43), 63 (23), 55 (20), 39 (26); IR (KBr) ν_{max} 3471, 2970, 2847, 1690, 1584, 1256 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.50 (3H, s, 2-Me), 4.00 (5-OMe), 4.11 (3-OMe), 7.25 (1H, dd, $J = 1.1, 8.8$ Hz, H-6) 7.63 (dd, $J = 8.8, 8.8$ Hz, H-7), 7.73 (1H, dd, $J = 1.1, 8.8$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

δ 8.9 (2-Me), 56.4 (5-OMe), 60.9 (3-OMe), 117.2 (C-6), 118.9 (C-8), 119.3 (C-4a), 128.9 (C-2), 134.4 (C-8a), 134.7 (C-7), 158.7 (C-3), 159.5 (C-5), 180.2 (C-4), 185.8 (C-1). คุณสมบัติทาง ^1H NMR ของสารนี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (49)

สาร 11 มีโครงสร้างเป็น 2,2-dimethyl-3-hydroxy-3-methoxycarbonyl-4-methoxy-1H-inden-1-one และมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ HRFABMS 265.1088 (M+H) calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_5$ (265.1076); EIMS m/z (% relative intensity) 264 (0.1), 205 (100), 190 (9), 175 (2), 144 (3), 115 (3), 91 (4), 77 (4), 63 (2), 51 (2), 45 (6), 32 (1); IR (KBr) ν_{max} 3443, 2961, 2931, 1726, 1272, 1004 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 1.12 (3H, s, 2-Me), 1.22 (3H, s, 2-Me), 3.67 (3H, s, 3-COOMe), 3.90 (3H, s, 4-OMe), 7.11 (1H, d, $J = 7.93$ Hz, H-5), 7.40 (1H, dd, $J = 0.6, 7.6$ Hz, H-7), 7.48 (1H, dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 18.3 (2-Me), 23.0 (2-Me), 52.9 (3-COOMe), 55.0 (C-2), 55.8 (4-OMe), 82.1 (C-3), 115.8 (C-7), 116.2 (C-5), 131.5 (C-6), 137.2 (C-7a), 138.2 (C-3a), 157.0 (C-4), 174.1 (OCOMe), 206.3 (C-1). สารนี้ไม่มีผู้รู้จักมาก่อน

การสังเคราะห์ 3-chloro-2-methyl-5-methoxy-1,4-naphthoquinone [12]

นำสาร 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide [7] 70 mg มาละลายด้วย 5% HCl ใน MeOH 20 ml แล้ว reflux เป็นเวลา 2 ชม. นำ reaction mixture ไปผ่าน

ion-exchange column แล้วนำมาแยกต่อโดยวิธี preparative TLC ได้ สาร 3-chloro-2-methyl-5-methoxy-1,4-naphthoquinone [12] 12 mg และสารที่เป็นผลพลอยได้อีก 2 ชนิดคือ 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8] 14 mg และ สาร 3,5-dimethoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [10] 10 mg

สาร 12 มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 238 (36), 236 (100), 219 (4), 201 (28), 186 (8), 171 (48), 158 (9), 143 (70), 130 (11), 115 (90), 102 (32), 91 (16), 76 (57), 63 (35), 50 (24); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3400, 2800, 1656, 1585, 1321, 1275, 1055 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.30 (3H, s, 2-Me), 4.02 (3H, s, 5-OMe), 7.34 (1H, dd, $J = 0.9, 8.4$ Hz, H-6), 7.68 (1H, dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, H-7) 7.77 (1H, dd, $J = 0.9, 7.6$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 14.1 (2-Me), 56.5 (5-OMe), 117.9 (C-6), 119.2 (C-4a), 119.7 (C-8), 133.9 (C-8a), 135.1 (C-7), 142.4 (C-3), 145.0 (C-2), 160.0 (C-5), 176.0 (C-4), 182.9 (C-1). สารนี้ไม่เคยมีรายงานว่าพบในธรรมชาติหรือสังเคราะห์มาก่อน

1.2 *Garcinia dulcis*

นำเปลือกสด (27 kg) จากจังหวัดอยุธยา มาสับให้ละเอียด แล้วแช่ด้วย 95% ethanol (4 x 30 L) นำสิ่งสกัดที่ได้มาทำ partition ด้วย chloroform, n-butanol และน้ำ นำสิ่งสกัด

chloroform (IC_{50} 5 $\mu\text{g/ml}$) มาแยกต่อโดยวิธี quick column chromatography (silica gel, hexane-EtOAc, polarity gradient) แบ่งได้เป็น 4 ส่วน นำส่วนที่สองมาแยกต่อด้วย sephadex LH-20 ด้วย eluant คือ MeOH นำ eluate ที่ได้มาระเหยให้แห้ง ได้สาร 1,7-dihydroxyxanthone [13] (7 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ mp 238–240 °C; UV (MeOH) λ_{max} 385, 287, 259, 234 nm; IR (film) ν_{max} 3500, 2960, 1630, 1460, 1220 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 228 (M^+ , 100), 200 (18), 172 (5), 171 (12), 144 (17), 115 (42), 107 (15), 89 (14), 63 (41), 53 (24); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.77 (1H, dd, J = 8.2, 0.6 Hz, H-2), 7.03 (1H, dd, J = 8.2, 0.6 Hz, H-4), 7.35 (1H, dd, J = 8.8, 3.0 Hz, H-6), 7.44 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-8), 7.53 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.69 (1H, d, J = 8.2, 8.2 Hz, H-3), 10.7 (1H, s, 7-OH), 12.62 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 107.1 (C-4), 107.7 (C-8), 107.8 (C-9a), 109.6 (C-2), 119.3 (C-5), 120.4 (C-8a), 125.5 (C-6), 137.1 (C-3), 149.3 (C-10a), 154.1 (C-7), 160.8 (C-1). ข้อมูลเหล่านี้ตรงกับค่าที่มีผู้รายงานไว้ (50–51)

นำส่วนที่สามมาแยกด้วย sephadex LH-20 โดยมี CHCl_3 -MeOH (1:1) เป็น eluant หลังจากที่จะระเหย eluate ให้แห้งได้สาร 12b-hydroxy-des-D-garcigerrin A [14] (22 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ mp 220–222 °C; UV λ_{max} 406, 316, 265, 248 nm; IR (film) ν_{max} 3300, 2960, 1585, 1460, 1290 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 312

(M^+ , 66), 297 (100), 279 (22), 271 (22), 269 (16), 257 (31), 229 (3), 189 (7), 141 (12), 137 (11), 121 (8), 107 (8), 91 (4), 77 (10), 65 (10), 53 (9); 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 1.46 (6H, s, H_3-4 และ H_3-5), 4.99 (1H, dd, $J = 18.0, 1.5$ Hz, H-3'a), 5.00 (1H, t, $J = 10.3, 1.5$ Hz, H-3'b), 6.23 (1H, dd, $J = 18.0, 10.3$ Hz, H-2'), 7.27 (1H, s, H-3), 7.28 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-7), 7.34 (1H, dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, H-6), 7.59 (1H, dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, H-8), 12.75 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 26.4 (C-4' และ C-5'), 40.0 (C-1'), 108.2 (C-9a), 110.7 (C-3'a), 114.7 (C-8), 120.5 (C-8a), 120.8 (C-6), 122.0 (C-3), 127.5 (C-2), 136.2 (C-4), 141.2 (C-4a), 144.7 (C-10a), 146.4 (C-5), 146.6 (C-2'), 151.0 (C-1), 182.8 (C-9). ข้อมูลเหล่านี้ตรงกับค่าที่มีผู้รายงานไว้

นำสิ่งสกัด chloroform มาอีก 50 g แยกด้วย sephadex LH-20 แล้ว elute ด้วย MeOH แบ่งสิ่งสกัดออกได้เป็น 4 ส่วน นำส่วนที่สามมาแยกต่อด้วย sephadex LH-20 ได้เป็น 7 ส่วน (A-G) นำส่วน B มาแยกซ้ำอีกครั้งด้วย centrifugal thin-layer chromatography และ preparative thin-layer chromatography จนได้สาร 1-O-methylsymploxanthone [15] (9 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 342 (M^+ , 11), 324 (4), 295 (11), 281 (15), 267 (18), 255 (9), 239 (6), 152 (20), 115 (27), 91 (21), 77 (65), 63 (39), 53 (79), 41 (100), 31 (18); UV (MeOH) λ_{max} 257, 320 nm; IR

(film) $\nu_{\max}$ 3300, 1600, 1490, 1200 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.59 (6H, s, H_3-4' และ H_3-5'), 3.74 (3H, s, OMe), 5.01 (1H, dd, $J = 10.6, 1.2$ Hz, H-3'b), 5.09 (1H, dd, $J = 17.7, 1.2$ Hz, H-3'a), 6.39 (1H, dd, $J = 17.7, 10.6$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 7.26 (1H, s, H-3), 7.45 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 26.8 (C-4' และ C-5'), 40.2 (C-1'), 60.6 (OMe), 111.2 (C-3'a), 112.4 (C-7), 115.2 (C-8a), 115.9 (C-8), 116.2 (C-9a), 121.1 (C-3), 132.2 (C-4), 132.4 (C-5), 143.3 (C-1), 145.1 (C-2), 145.3 (C-10a), 146.6 (C-2'), 147.9 (C-4a), 150.2 (C-6), 175.1 (C-9). ข้อมูล ^1H NMR ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (54) ในการศึกษาได้ทำการแก้ไข ^{13}C NMR assignments ที่เคยมีรายงานไว้ (54) โดยอาศัยผลการทดลอง HMQC และ HMBC

นำส่วน C มาแยกด้วยวิธี centrifugal thin-layer chromatography ได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกซึ่งมี polarity สูงกว่านำไปแยกด้วยวิธี preparative TLC ได้สาร symphoxanthone [16] (20 mg) ส่วนที่สองซึ่งมี polarity น้อยกว่านำไปแยกด้วย sephadex LH-20 โดยมี MeOH เป็น solvent ได้สาร garciniaxanthone [17] (20 mg)

สาร 16 มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 328 (M^+ , 86), 313 (41), 295 (100), 287 (43), 267 (65), 189 (26), 170 (27), 153 (46), 91

(31), 77 (51); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 257, 320 nm; IR (film) $\nu_{\max}$ 3300, 1600, 1490, 1200 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.57 (6H, s, H_3-3' และ H_3-4'), 4.99 (1H, dd, $J = 10.6, 1.2$ Hz, H-3'b), 5.08 (1H, dd, $J = 17.7, 1.2$ Hz, H-3'a), 6.32 (dd, $J = 17.7, 10.6$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 7.23 (1H, s, H-3), 7.52 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-8), 12.96 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 26.8 (C-3' และ C-4'), 39.7 (C-1'), 108.2 (C-9a), 111.0 (C-3'a), 112.3 (C-8a), 113.1 (C-7), 115.7 (C-8), 122.0 (C-3), 124.7 (C-4), 132.7 (C-5), 138.6 (C-4a), 145.9 (C-1), 146.2 (C-2), 146.4 (C-10a), 152.1 (C-6), 181.3 (C-9). ข้อมูล ^1H NMR ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (19) แต่ยังไม่มีการศึกษา ^{13}C NMR

สาร 17 มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 464 (M^+ , 4), 339 (17), 325 (13), 69 (48), 55 (33), 44 (100); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 255, 325 nm; IR (film) $\nu_{\max}$ 3500, 1650, 1450, 1270 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.50 (3H, s, H_3-9''), 1.57 (3H, s, H_3-8''), 1.61 (3H, s, H_3-5'), 1.69 (3H, s, H_3-10''), 1.91 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H_2-4''), 2.00 (1H, td, $J = 7.3, 6.7$ Hz, H-5''), 3.31 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-1''), 3.95 (H-1'), 4.98 (3H, m, H-2', H-2'' และ H-6''), 6.10 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 6.34 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-4), 13.54 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR

(125 MHz, DMSO- d_6) δ 16.0 (C-10''), 17.4 (C-8''), 17.8 (C-4'), 24.1 (C-1''), 25.4 (C-5' และ C-9''), 26.0 (C-5''), 27.8 (C-1'), 39.0 (C-4''), 93.0 (C-4), 97.6 (C-2), 102.1 (C-9a), 110.1 (C-8a), 122.8 (C-2''), 124.0 (C-6''), 124.4 (C-2'), 125.2 (C-7), 129.4 (C-3'), 129.9 (C-5), 130.6 (C-7''), 132.9 (C-8), 134.3 (C-3''), 145.7 (C-10a), 149.8 (C-6), 156.1 (C-4a), 163.1 (C-1), 164.4 (C-3), 181.8 (C-9). ข้อมูลเหล่านี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (54)

1.3 *Garcinia cowa*

เก็บเปลือกต้นชะมวงจากสวนสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อบแห้ง (2 kg) นำมาแช่ใน ethanol (8 x 3 L) ได้สิ่งสกัด (50 g) นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียพบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 5 $\mu\text{g/ml}$ แบ่งสิ่งสกัดดังกล่าว ออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กัน แต่ละส่วนนำไปแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้ silica gel เป็น adsorbent และมี eluant คือ hexane, toluene และ EtOAc ได้เป็น 8 ส่วน (A-H) โดยมีน้ำหนัก 9.6, 1.9, 8.5, 3.1, 2.4, 17.1, 7.0 และ 0.3 g ตามลำดับ

นำส่วน A มาทำการแยกออกเป็นส่วนย่อยด้วยวิธี column chromatography โดยใช้ silica gel และ CHCl_3 นำส่วนย่อยที่สาม (240 mg) มาแยกต่อไปอีกด้วยวิธี column chromatography โดยใช้ silica gel เป็น adsorbent และ solvent ซึ่งเป็นของผสมระหว่าง hexane กับ AcOEt ในลักษณะ polarity gradient elution จนแยกออกได้เป็นอีก 6 ส่วน นำส่วนที่สามมาทำการตกผลึก

ใน hexane ได้เป็นสาร 7-O-methylgarcinone E [18] (4 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้

EIMS m/z (% relative intensity) 478 (M^+ , 89), 451 (29), 435 (99), 407 (100), 391 (25), 379 (35), 367 (20), 353 (31), 323 (43), 295 (26), 183 (33), 168 (41), 69 (61); HRMS (FAB) 479.2430 [$M+H$], calculated for $C_{29}H_{35}O_6$ (479.2434); 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1.67 (6H, br s, H_3-5'' และ H_3-5'''), 1.75 (3H, br d, $J = 1.22$ Hz, H_3-5'), 1.81 (3H, br d, $J = 0.92$ Hz, H_3-4'''), 1.83 (3H, br d, $J = 0.91$ Hz, H_3-4'), 1.85 (3H, br d, $J = 0.92$ Hz, H_3-4''), 3.44 (2H, br d, $J = 7.37$ Hz, H_2-1'), 3.55 (2H, br d, $J = 7.33$ Hz, H_2-1''), 3.79 (3H, s, 7-OMe), 4.05 (2H, br d, $J = 6.41$ Hz, H_2-1'''), 5.25 (1H, m, $H-2'''$), 5.27 (1H, m, $H-2''$), 5.28 (1H, m, $H-2'$), 6.15 (1H, br s, 3-OH), 6.39 (1H, br s, 6-OH), 13.82 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR δ 17.9 ($C-4'$ และ $C-4''$), 18.1 ($C-4'''$), 21.4 ($C-1'$), 22.6 ($C-1''$), 25.8 ($C-5'$, $C-5''$ และ $C-5'''$), 26.4 ($C-1'''$), 93.2 ($C-4$), 103.6 ($C-9a$), 108.3 ($C-2$), 111.9 ($C-8a$), 113.9 ($C-5$), 121.1 ($C-2''$), 121.5 ($C-2'$), 123.5 ($C-2'''$), 131.8 ($C-8$), 132.6 ($C-3''$), 133.9 ($C-3'''$), 135.7 ($C-3'$), 142.2 ($C-7$), 152.3 ($C-6$), 153.5 ($C-10a$), 155.0 ($C-4a$), 160.5 ($C-1$), 161.5 ($C-3$), 182.4 ($C-9$). สารนี้เป็นสารใหม่ ไม่มีผู้ใดพบมาก่อน

นำส่วน B มาทำการแยกต่อในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ใช้วิธี repetitive chromatography เป็นจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งใช้ silica gel เป็น adsorbent โดยใช้ CHCl_3 เป็นตัว eluant ในครั้งแรก ส่วนในครั้งที่สองและสามนั้นใช้ของผสมระหว่าง hexane และ AcOEt ในลักษณะ polarity-gradient ได้ส่วนย่อยซึ่งนำมาตกผลึกใน hexane/AcOEt ได้สาร cowanin [19] (10 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 424 (M^+ , 46), 381(27), 369(41), 368(30), 353(100), 354(25), 325(19), 323(12), 299(28), 169(20); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 1.66, 1.67, 1.78, 1.81 (3H each, s, $\text{H}_3\text{-4}'$, $\text{H}_3\text{-5}'$, $\text{H}_3\text{-4}''$ และ $\text{H}_3\text{-5}''$), 3.33 (2H, d, $J = 7.01$ Hz, $\text{H}_2\text{-1}'$), 3.79 (3H, s, 7-OMe), 3.88 (3H, s, 3-OMe), 4.08 (2H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{H}_2\text{-1}''$), 5.21 (1H, m, $\text{H-2}'$), 5.24 (1H, m, $\text{H-2}''$), 6.31 (1H, s, 6-OH), 6.32 (1H, s, H-4), 6.81 (1H, s, H-5), 13.39 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR δ 16.1 ($\text{C-4}''$), 17.4 ($\text{C-9}''$), 17.6 ($\text{C-4}'$), 20.9 ($\text{C-1}'$), 25.3 ($\text{C-10}''$), 25.4 ($\text{C-5}'$), 25.6 ($\text{C-1}''$), (26.0 ($\text{C-6}''$), 39.3 ($\text{C-5}''$), 60.1 (7-OMe), 92.2 (C-4), 101.7 (C-5), 101.9 (C-9a), 109.6 (C-2), 109.9 (C-8a), 122.5 ($\text{C-2}'$), 123.7 ($\text{C-2}''$), 124.1 ($\text{C-7}''$), 130.3 ($\text{C-3}'$), 130.4 ($\text{C-8}''$), 136.4 (C-8), 143.3 (C-7), 154.1 (C-4a), 154.5 (C-10a), 156.8 (C-6), 159.9 (C-1), 162.2 (C-3),

181.2 (C-9). ข้อมูลเหล่านี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (22) แต่คุณสมบัติทาง ^{13}C NMR ยังไม่มีผู้ศึกษา

นำส่วน C มาแยกด้วยวิธี repetitive chromatography เป็นจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งใช้ silica gel เป็นตัว adsorbent โดยใช้ CHCl_3 เป็น eluant ในครั้งแรกและครั้งที่สอง ส่วนในครั้งที่สามนั้นใช้ CH_2Cl_2 ได้ส่วนย่อยซึ่งนำมาตกผลึกใน MeOH ได้สาร cowanol [20] (100 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 478 (M^+ , 15), 410 (10), 409 (41), 354 (19), 353, (81) 297 (13); ^1H NMR (500 MHz, δ 1.49, 1.51, 1.60, 1.71, 1.75 (3H each, s, $\text{H}_3\text{-4}'$, $\text{H}_3\text{-5}'$, $\text{H}_3\text{-4}''$, $\text{H}_3\text{-9}''$ และ $\text{H}_3\text{-10}''$), 1.90 (2H, m, $\text{H}_2\text{-5}''$), 1.97 (2H, m, $\text{H}_2\text{-6}''$), 3.19 (2H, br d, $J = 7.02$ Hz, $\text{H}_2\text{-1}'$), 3.69 (3H, s, 7-OMe), 4.00 (2H, br d, $J = 6.67$ Hz, $\text{H}_2\text{-1}''$), 5.17 (2H, m, $\text{H-2}'$ and $\text{H-2}''$), 6.32 (1H, s, H-4), 6.78 (1H, s, H-5), 13.69 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 16.1 (C-4''), 17.4 (C-9''), 20.4 (C-2'), 21.1 (C-5'), 25.3 (C-10''), 26.0 (C-6''), 25.6 (C-1''), 39.3 (C-5''), 59.6 (C-4'), 60.1 (7-OMe), 92.9 (C-4), 101.8 (C-5), 101.9 (C-9a), 109.3 (C-2), 109.9 (C-8a), 123.4 (C-2'), 123.7 (C-2''), 124.1 (C-7''), 130.5 (C-8''), 135.1 (C-3'), 133.8 (C-3''), 136.5 (C-8),

143.3 (C-7), 154.6 (C-10a), 154.2 (C-4a), 156.9 (C-6), 159.9 (C-1), 162.2 (C-3), 181.2 (C-9). สารนี้มีผู้รายงานไว้ (22) แต่ยังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR

นำส่วน D มาแยกด้วยวิธี repetitive chromatography โดยใช้ของผสมระหว่าง hexane กับ AcOEt เป็น eluant ในลักษณะ polarity-gradient แยกออกได้เป็น 5 ส่วนย่อย

นำส่วนย่อยแรกไปตกผลึกใน MeOH ได้สาร cowaxanthone [21] (200 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 410 (16), 341 (51), 299 (13), 288 (34), 287 (100), 274 (13); ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1.49, 1.56 และ 1.73 (3H each, s, $\text{H}_3\text{-4}'$, $\text{H}_3\text{-9}'$ และ $\text{H}_3\text{-10}'$), 1.90, 1.97 (2H each, m, $\text{H}_2\text{-5}'$ และ $\text{H}_2\text{-6}'$), 3.21 (2H, br d, $J = 7.02$ Hz, $\text{H}_2\text{-1}'$), 3.87 (3H, s, 7-OMe), 5.01 (1H, br t, $J = 7.02$ Hz, $\text{H-7}'$), 5.17 (1H, br t, $J = 7.01$ Hz, $\text{H-2}'$), 6.39 (1H, s, H-4), 6.87 (1H, s, H-5), 7.41 (1H, s, H-8), 13.34 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) 15.9 (C-4'), 17.4 (C-9'), 20.9 (C-1'), 25.4 (C-10'), 26.1 (C-6'), 40.1 (C-5'), 55.8 (7-OMe), 92.9 (C-4), 101.4 (C-9a), 102.7 (C-5), 104.8 (C-8), 109.8 (C-2), 111.5 (C-8a), 122.2 (C-4'), 124.1 (C-7'), 130.6 (C-8'), 134.0 (C-3'), 145.9 (C-7), 154.4 (C-6), 155.0 (C-4a), 159.4 (C-1), 162.5 (C-3), 178.8 (C-9). คุณสมบัติเหล่านี้ตรงกับค่าที่มีผู้รายงานไว้ (22) แต่ข้อมูล ^{13}C NMR ยังไม่มีผู้รายงาน

นำส่วนย่อยที่สองไปแยกด้วยวิธี column chromatography ทำ gradient elution โดยใช้ของผสมระหว่าง hexane กับ AcOEt จนแยกออกได้เป็น 4 ส่วน นำส่วนที่สามมาตกผลึกใน MeOH ได้เป็นสาร β -mangostin [22] (250 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 494 (M^+ , 13), 425 (18), 407 (64), 69 (100); 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1.47, 1.51, 1.65 และ 1.75 (3H each, s, H_3-5' , H_3-4'' และ H_3-9'' , H_3-10''), 1.90 และ 1.97 (2H each, m, H_2-5'' และ H_2-6''), 3.25 (2H, br d, $J = 7.05$ Hz, $H-1'$), 3.68 (3H, s, 7-OMe), 4.00 (2H, br d, $J = 6.72$ Hz, H_2-1''), 4.12 (2H, br s, H_2-4'), 4.97 (1H, br t, $J = 6.75$ Hz, H_2-7''), 5.13 (1H, br t, $J = 6.75$ Hz, $H-2''$), 5.21 (1H, br t, $J = 7.54$ Hz, $H-2'$), 6.32 (1H, s, $H-4$), 6.78 (1H, s, $H-5$), 13.70 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 18.1 ($C-4'$), 18.6 ($C-4''$), 26.1 ($C-5'$ และ $C-5''$), 21.7 ($C-1'$), 26.9 ($C-1''$), 56.1 (3-OMe), 62.3 (7-OMe), 89.0 ($C-4$), 101.6 ($C-5$), 104.0 ($C-9a$), 111.7 ($C-2$), 112.6 ($C-8a$), 122.4 ($C-2'$), 123.3 ($C-2''$), 131.7 ($C-3'$), 132.1 ($C-3''$), 137.1 ($C-8$), 142.6 ($C-7$), 154.4 ($C-10a$), 155.3 ($C-6$), 155.7 ($C-4a$), 159.8 ($C-1$), 163.5 ($C-3$), 181.9 ($C-9$) ค่าเหล่านี้ตรงกับที่ปรากฏในรายงานก่อน (55) ยกเว้นค่า ^{13}C NMR ซึ่งยังไม่มีผู้ศึกษา

ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR ของสาร 18 – 22 อย่างละเอียด โดยใช้เทคนิค DEPT, HMQC และ HMBC จนสามารถกำหนดค่า ^{13}C NMR assignments ได้ทั้งหมด

1.4 *Goniiothalamus tenuifolius*

เก็บเปลือกต้น มาจากจังหวัดเพชรบุรี นำมาอบให้แห้ง แล้วสกัดด้วย petroleum ether และ ethanol นำสิ่งสกัด ethanol มาแยกออกเป็นส่วนด้วย chloroform, n-butanol และ น้ำ นำสิ่งสกัด chloroform มาแยกต่อด้วยวิธี vacuum liquid chromatography ได้ออกเป็น 10 ส่วน นำส่วนที่ 5 มาแยกโดย repetitive column chromatography โดยใช้ silica gel และ sephadex LH-20 เป็น stationary phase ได้สาร cepharanone B [23] (40 mg) และ taliscanine [24] (5 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้

สาร cepharanone B [23] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 231 (2.85), 262 (2.75), 275 (2.79), 286 (2.78), 315 (2.23), 382 (2.15) nm; IR (KBr) ν_{max} 3316–3104, 1715, 1379, 741 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 279 (M^+ , 100), 236 (14), 221 (13), 209 (14), 193 (34), 181 (34), 164 (52), 150 (14), 138 (27), 97 (11), 83 (27); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 4.03 (3H, s, 4-OMe), 4.04 (3H, s, 3-OMe), 7.13 (1H, s, H-9), 7.55 (1H, br dd, $J = 7.8$, 7.8 Hz, H-6), 7.58 (1H, br dd, $J = 7.8$, 7.8 Hz, H-7), 7.85 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 9.11 (1H, br d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 10.84 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (125 MHz,

CDCl₃) δ 56.9 (3-OMe และ 4-OMe), 104.6 (C-9), 109.9 (C-2), 119.9 (C-4a), 121.6 (C-1), 123.3 (C-10a), 125.5 (C-6), 125.9 (C-4b), 126.8 (C-5), 127.5 (C-7), 129.0 (C-8), 134.8 (C-8a), 135.1 (C-10), 150.4 (C-4), 154.2 (C-3), 168.4 (C=O). สารนี้มีรายงานมาแล้วจากพืชอื่น (56-57) แต่ยังไม่มีผู้ศึกษาคุณสมบัติทาง ¹³C NMR

สาร taliscanine [24] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 210 (3.39), 242 (2.85), 254 (2.85), 297 (2.47), 400 (2.17) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3700–3500, 3400–3300 cm⁻¹; EIMS m/z (% relative intensity) 309 (M⁺, 100), 294 (30), 251 (18); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.98 (3H, s, 8-OMe), 4.01 (3H, s, 4-OMe), 4.04 (3H, s, 3-OMe), 7.21 (1H, br d, J = 7.8 Hz, H-7), 7.42 (1H, s, H-9), 7.51 (1H, br dd, J = 7.8, 7.8 Hz, H-6), 7.87 (1H, s, H-2), 8.75 (br d, J = 7.8 Hz, H-5), 10.79 (1H, s, NH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 57.0 (3-OMe), 59.9 (4-OMe และ 8-OMe), 97.9 (C-9), 108.3 (C-7), 110.3 (C-2), 119.3 (C-5), 119.9 (C-4a), 121.6 (C-1), 123.1 (C-10a), 124.8 (C-8a), 125.7 (C-6), 126.7 (C-4b), 134.6 (C-10), 150.6 (C-4), 154.3 (C-3), 155.3 (C-8), 168.3 (C=O). สารนี้มีผู้รายงานไว้ก่อน (57) แต่ไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทาง ¹³C NMR

นำส่วนที่ 6-8 มาแยกต่อด้วย sephadex LH-20 (MeOH) ได้สาร aristolactam [25] ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 233 (2.90), 275 (3.86), 285 (3.86), 389 (2.26) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3600-3048, 2921, 1706, 1293 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 265 (M^+ , 100), 250 (45), 222 (16), 166 (77), 150 (16), 139 (66); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.01 (3H, s, 4-OMe), 7.08 (1H, s, H-9), 7.54 (1H, ddd, $J = 7.8, 7.8, 1.5$ Hz, H-6), 7.56 (1H, ddd, $J = 7.8, 7.8, 1.5$ Hz, H-7), 7.61 (1H, s, H-2), 7.93 (1H, dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, H-8), 9.09 (1H, dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, H-5), 10.78 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 59.5 (4-OMe), 103.9 (C-9), 113.4 (C-2), 120.4 (C-4a), 121.8 (C-1), 122.3 (C-10a), 125.3 (C-6), 125.4 (C-4b), 126.8 (C-5), 127.3 (C-7), 129.0 (C-8), 134.9 (C-8a), 135.3 (C-10), 149.8 (C-4), 152.3 (C-3). สารนี้เคยมีรายงานมาก่อน (57) แต่ยังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR

นำส่วนที่ 9 มาแยกต่อด้วย silica gel ได้เป็น 2 ส่วน คือ 9A และ 9B นำส่วนที่ 9A มาตกผลึกใน chloroform ได้สาร velutinam [26] (75 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 245 (2.48), 293 (2.03), 406 (1.82) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3531-3000, 1672, 1283 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 295 (M^+ , 100), 209 (11), 197 (12), 153 (13), 140 (11), 126 (30), 91 (22), 69 (19), 55 (45); ^1H NMR

(500 MHz, CDCl_3) δ 3.99 (3H, s, 4-OMe), 4.03 (3H, s, 3-OMe), 7.06 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-7), 7.36 (1H, dd, $J = 8.3, 8.3$ Hz, H-6), 7.40 (1H, s, H-9), 7.84 (1H, s, H-2), 8.61 (1H, br d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 10.11 (1H, s, 8-OH), 10.78 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 56.9 (3-OMe และ 4-OMe), 98.7 (C-9), 109.9 (C-2), 112.1 (C-7), 118.0 (C-5), 120.2 (C-4a), 121.6 (C-1), 123.3 (C-10a), 124.0 (C-8a), 125.8 (C-6), 127.1 (C-4b), 133.9 (C-10), 150.5 (C-4), 153.7 (C-8), 154.2 (C-3) สารนี้เคยมีผู้รายงาน (56) แต่ไม่มีผู้ศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR

ส่วนที่ 9B นำมาแยกต่อด้วย sephadex LH-20 (MeOH) ได้สาร norcepharadione B (15 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้ UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 209 (3.61), 235 (3.54), 301 (3.16), 315 (3.19), 440 (3.06) nm; IR (KBr) ν_{max} 3600-3300, 3200, 2780, 1700, 1394 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 307 (M^+ , 100), 279 (26), 264 (12), 236 (15), 221 (15), 209 (11), 193 (23), 181 (15), 164 (29), 138 (12) 83 (20); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (3H, s, 1-OMe), 4.09 (3H, s, 2-OMe), 7.52 (1H, s, H-7), 7.60-7.68 (2H, m, H-9 and H-10), 7.93 (1H, br d, $J = 7.6$ Hz, H-8), 8.16 (1H, s, H-3), 9.42 (1H, m, H-11), 12.05 (1H, s, 6-NH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 56.5 (2-OMe), 60.1 (1-OMe), 112.6 (C-3), 112.8 (C-7), 118.2 (C-1b), 123.6 (C-1a), 124.7 (C-3a), 126.0

(C-9 และ C-11a), 127.2 (C-11), 128.0 (C-10), 128.5 (C-8), 130.2 (C-6a), 132.4 (C-7a), 152.3 (C-2), 154.0 (C-1), 155.5 (C-5), 178.9 (C-4). สารนี้มีผู้รายงานไว้ (58-59) แต่ยังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR

1.5 *Stephania venosa*

นำ tuber ของสมุนไพร (Stephania venosa) จากสวนสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาปั่นแช่สกัดด้วย MeOH (3 x 10 L) นำสิ่งสกัดที่ได้มาทำ partition ด้วย chloroform และ น้ำ นำชั้น chloroform มาแยกด้วยวิธี vacuum liquid chromatography (silica gel, hexane-EtOAc polarity gradient elution) ได้เป็น 5 ส่วน (A – E) นำส่วน C มาแยกโดยใช้ silica gel และ hexane-EtOAc ในลักษณะ gradient elution ได้สาร dehydrostephanine [28] (12 mg) และ สาร stephanine [29] (18 mg)

สาร dehydrostephanine [28] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 307 (M^+ , 100), 292 (65), 277 (5); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.14 (3H, s, NMe), 3.20 – 3.45 (4H, m, H_2 -4 และ H_2 -5), 4.04 (3H, s, 8-OMe), 6.22 (2H, s, OCH_2O), 6.95 (1H, br d, $J = 7.5$ Hz, H-9), 7.03 (1H, s, H-7), 7.28 (1H, dd, $J = 8.3, 8.3$ Hz, H-10), 8.58 (1H, br d, $J = 8.3$ Hz, H-11).

สาร stephanine [29] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 309 (M^+ , 100); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.60 (3H, s, NMe), 3.89 (3H, s, 8-

OMe), 5.92 และ 6.07 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, OCH₂O), 6.58 (1H, s, H-3), 6.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-9), 7.29 (1H, dd, $J = 8.2$ Hz, H-10), 7.74 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11).

ส่วน D เมื่อนำมาแยกด้วย silica gel และ hexane-EtOAc ในลักษณะ gradient elution ได้สาร dehydrocrebanine [30] (8 mg) และสาร crebanine [31] (35 mg)

สาร dehydrocrebanine [30] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 337 (M^+ , 100), 322 (93), 279 (57), 200 (21); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.14 (3H, s, NMe), 4.00 (3H, s, 8-OMe), 4.01 (3H, s, 9-OMe), 6.20 (2H, s, OCH₂O), 6.87 (1H, s, H-3), 6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-10), 8.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11).

สาร crebanine [31] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative intensity) 339 (M^+ , 46), 338 (100), 324 (13), 296 (31), 265 (15); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.60 (3H, s, NMe), 3.83 (3H, s, 8-OMe), 3.92 (3H, s, 9-OMe), 5.93 และ 6.08 (1H each, d, $J = 1.0$ Hz, OCH₂O), 6.55 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-10), 7.83 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11).

ชั้นน้ำ เมื่อนำมาแยกบน silica gel ด้วย CHCl₃-MeOH และ NH₄OH (90:10:1) ได้สาร sukhodianine [32] (7 mg) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ EIMS m/z (% relative

intensity) 355 (M^+ , 20), 337 (75), 322 (100); 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.49 (3H, s, NMe), 3.79 (3H, s, 8-OMe), 3.85 (3H, s, 9-OMe), 5.57 (1H, br s, H-7), 5.96 และ 6.11 (1H each, s, OCH₂O), 6.60 (1H, s, H-3), 7.10 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-10), 7.75 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-11).

สารเหล่านี้ทั้งหมดมีคุณสมบัติทางกายภาพตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ (23-26)

1.6 *Prismatomeris sessiliflora*

เก็บรากพญาครุฑ (1.25 kg) มาจากจังหวัดหนองคาย นำมาตากแห้ง แล้วสับและบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาแช่สกัดด้วย methanol (5 x 4 L) นำสิ่งสกัดที่ได้มาทำ partition ด้วยน้ำ และ chloroform นำสิ่งสกัด chloroform (7.5 g) มาแยกด้วยวิธี quick column chromatography ทำ elution โดยใช้ chloroform และ MeOH ในลักษณะ polarity gradient ได้เป็น 8 ส่วน นำส่วนที่ 5 มาแยกต่อด้วยวิธีเดียวกัน แต่ใช้ hexane และ ethyl acetate เป็น eluant ได้สาร rubiadin [33] (86 mg) และ rubiadin-1-methyl ether [34] (53 mg)

สาร rubiadin [33] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 244 (4.34), 278 (4.41), 412 (3.75) nm; IR (film) ν_{max} 3398, 2923, 1664, 1589, 1433, 1339, 1311, 1123, 713 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 254 (M^+ , 100), 236 (10), 226 (25), 197 (29), 180 (17), 169 (13), 152 (42), 141 (29), 115 (50), 105 (30), 76 (62), 65 (41), 55 (55); 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.04 (3H, s, 2-Me), 7.21 (1H, s, H-4), 7.85 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, H-6), 7.88 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, H-7), 8.09 (1H, dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, H-5), 8.16 (1H, dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, H-8), 13.08 (1H, s, 1-OH); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 9.1 (2-Me), 108.3 (C-4), 109.5 (C-9a), 118.0 (C-2), 127.0 (C-8), 127.4 (C-5), 132.4 (C-4a), 133.6 (C-10a), 133.7 (C-8a), 135.0 (C-6), 135.1 (C-7), 163.1 (C-1), 163.8 (C-3), 182.4 (C-10), 186.6 (C-9). ข้อมูล ^1H NMR ตรงกับค่าที่มีผู้รายงานไว้ (60) แต่ค่า ^{13}C NMR assignments ในการศึกษานี้ได้ทำการแก้ไขให้ถูกต้อง

สาร rubiadin-1-methyl ether [34] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 238 (4.39), 279 (4.68), 361 (3.72) nm; IR (KBr) ν_{max} 3315, 2925, 1673, 1566, 1336, 1121, 713 cm^{-1} ; EIMS m/z (% relative intensity) 268 (M^+ , 100), 253 (42), 239 (27), 221 (34), 194 (13), 165 (20), 147 (35), 111 (17), 97 (30), 83 (41), 73 (68), 55 (69); ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.13 (3H, s, 2-Me), 3.77 (3H, s, 1-OMe), 7.45 (1H, s, H-4), 7.80 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, H-6), 7.86 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, H-7), 8.08 (1H, dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, H-5), 8.13 (1H, dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 9.91 (2-Me), 61.37 (1-OMe), 110.2 (C-4), 117.8 (C-9a), 126.8 (C-5), 127.1 (C-2), 127.5 (C-8),

132.9 (C-8a), 134.1 (C-6), 134.6 (C-4a), 135.3 (C-7), 135.5 (C-10a), 161.5 (C-1), 163.54 (C-3), 180.8 (C-9), 183.6 (C-10). ข้อมูล ^1H NMR ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้ แต่ค่า ^{13}C NMR assignments ได้ทำการแก้ไขในการศึกษานี้

1.7 *Diospyros montana*

นำรากอบแห้งของมะเกลือป่า (2.6 kg) ซึ่งเก็บจาก สวนสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาบดแช่สกัดด้วย petroleum ether, ethyl acetate และ MeOH นำสิ่งสกัด ethyl acetate (12 g) มาแยกด้วยวิธี quick column chromatography บน silica gel โดยใช้ petroleum ether, chloroform และ methanol ในลักษณะ polarity gradient ได้เป็น 6 ส่วน นำส่วนที่ 4 มาแยกต่อโดยมี silica gel เป็น stationary phase และ petroleum ether กับ chloroform เป็น mobile phase ได้เป็นส่วนย่อย 20 ส่วน นำส่วนย่อยที่ 11-13 มาตกผลึกใน MeOH ได้สาร diospyrin [35] (130 mg) ส่วนย่อยที่ 5-6 นำมาแยกโดยใช้ sephadex LH20 ได้สาร 5-hydroxy-4-methoxy-2-naphthaldehyde [36] (39 mg)

สาร diospyrin [35] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV λ_{max} 216 (4.48), 253 (4.08), 432 (3.65) nm; IR (KBr) ν_{max} 3438, 3058, 1670, 1664, 1611, 1382, 1333, 1259 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.29 (3H, s, 7'-OMe), 6.88 (1H, s, H-3), 6.94 (2H, s, H-2' และ H-3'), 7.11 (1H, d, $J = 1$ Hz, H-6), 7.49 (1H, d, $J = 1$ Hz, H-8), 7.54 (1H, s, H-8'), 11.86 (1H, s, 5-OH), 12.12 (1H, s, 5'-OH); ^{13}C NMR (75

MHz, CDCl_3) δ 21.2 (7'-Me), 22.4 (7-Me), 112.9 (C-9'), 113.1 (C-9), 120.6 (C-8'), 121.2 (C-8), 124.1 (C-6), 128.7 (C-6'), 131.2 (C-10'), 131.5 (C-10), 138.6 (C-3), 138.7 (C-3'), 139.3 (C-2'), 145.57 (C-2), 146.3 (C-7'), 148.5 (C-7), 159.0 (C-5'), 161.5 (C-5), 182.3 (C-1), 183.9 (C-1'), 188.6 (C-4), 189.4 (C-4'). ในการศึกษาได้ทำการแก้ไข ^{13}C NMR assignments ที่มีผู้รายงานไว้ก่อน (61)

สาร 5-hydroxy-4-methoxy-2-naphthaldehyde [36] มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้ UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 217 (4.26), 257 (4.27), 299 (3.42), 377 (3.57) nm; IR (film) ν_{max} 3390, 1691, 1613, 1587, 1514, 1398, 1363, 1248, 1124, 1080 cm^{-1} ; EIMS (% relative intensity) m/z 202 (M^+ , 100), 187 (97), 159 (94), 131 (97), 115 (65), 103 (71), 102 (80), 77 (81), 63 (66); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4.06 (3H, s, 4-OMe), 7.02 (1H, dd, $J = 2.57, 7.71$ Hz, H-6), 7.13 (1H, d, $J = 1.03$ Hz, H-3), 7.42 (2H, m, H-7 และ H-8), 7.82 (1H, d, $J = 1.03$ Hz, H-1), 9.24 (1H, s, 5-OH), 9.97 (1H, s, 2-CHO); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 56.4 (4-OMe), 98.5 (C-3), 114.3 (C-6), 117.3 (C-4a), 120.6 (C-8), 128.8 (C-7), 130.2 (C-1), 134.1 (C-2), 135.5 (C-8a), 154.5 (C-5), 156.9 (C-4), 191.4 (2-CHO) สารนี้เคยมีรายงาน ^1H NMR (62) แต่ยังไม่มีการศึกษา ^{13}C NMR

1.8 *Murraya siamensis*

สาร heptaphylline [37] และสาร 7-methoxyheptaphylline [38] ได้รับความอนุเคราะห์
จากรองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี (38)

II. การทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารที่สกัดและที่สังเคราะห์ได้

การทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียได้รับความอนุเคราะห์จากรองศาสตราจารย์ ดร. จิระพันธ์
กริ่งไกร ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้วิธี radioisotope-
labelled hypoxanthine incorporation (63) ในการตรวจสอบ โดยทดสอบกับเชื้อ *Plasmodium*
falciparum สายพันธุ์ T_{9/94} เลี้ยงใน candle jar การทดสอบทำใน microtiter plate

(2.1) การเตรียมสารละลายของสารทดสอบและอาหารเลี้ยงเชื้อ

(2.1.1) ภาชนะและเครื่องมือทุกชนิดก่อนใช้ต้องฆ่าเชื้อ (sterile) และตลอดการ
ทดลองจะต้องใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique)

(2.1.2) เตรียมอาหารเลี้ยงโดยนำ RPMI-1640 จำนวน 10.4 g ละลายในสาร
ละลายซึ่งประกอบด้วย HEPES buffer 5.49 g ในน้ำกลั่น 960 ml ปั่นให้เข้ากันแล้วเติมสาร
ละลาย gentamicin ในน้ำ (40 mg/ml) จำนวน 0.9 ml นำสารละลายที่ได้มากรองให้ปราศจาก
เชื้อ เมื่อนำมาใช้ แบ่งมาจำนวน 21.8 ml แล้วเติม สารละลาย 7.5% NaHCO₃ จำนวน 0.7 ml
และ serum ของเลือดกลุ่ม O จำนวน 2.5 ml ได้เป็น cRPMI ซึ่งมีปริมาตรรวมทั้งสิ้น 25.0 ml ซึ่ง
เพียงพอใช้ใน microtiter plate จำนวน 1 จาน

(2.2) การเตรียมเชื้อ

เตรียมจากเชื้อที่เลี้ยงไว้ นำมาผสมกับเลือดกลุ่ม O ให้ได้ parasitemia เป็นร้อยละ 0.5 และมี hematocrit ร้อยละ 1.6

(2.3) การทดสอบฤทธิ์

ทำใน microtiter plate ซึ่งแต่ละจานประกอบด้วยหลุมจำนวน 96 หลุม ในแต่ละหลุมประกอบด้วย

(2.3.1) สารละลายของสารทดสอบใน cRPMI ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันจำนวน 25 μ l

(2.3.2) suspension ของเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรียจำนวน 200 μ l ยกเว้นในหลุม baseline จะใช้ suspension ของเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีเชื้อมาลาเรีย (non-PRBC) จำนวน 200 μ l แทน หลังจากปล่อยให้เชื้อเจริญ 24 ชม. ใน candle jar แล้วนำมาเติม

(2.3.3) สารละลายของ [3 H]hypoxanthine ในอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 25 μ l จากนั้นปล่อยให้เชื้อเจริญต่อไปอีก 18 ชม. แล้วเก็บผลการทดลองโดยดูดเอาสิ่งทดสอบในแต่ละหลุมมากรองผ่านกระดาษกรอง ทั้งกระดาษกรองให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาตัดใส่ eppendorf ขนาด 1.5 ml เติม scintillation cocktail แล้ววัด radioactivity ที่เกาะอยู่บนกระดาษกรอง โดยใช้ scintillation counter นำค่า cpm ที่ได้มา plot กับความเข้มข้นของสารในหน่วย μ g/ml เพื่อคำนวณหา IC_{50} ผลการทดสอบของสารบริสุทธิ์ 1-39 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1-4

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านมาลาเรียของกลุ่มสาร naphthoquinones [1-12] จาก
Nepenthes thorelii

สาร	IC ₅₀
	µg/ml
1 Plumbagin	0.05
2 Isoshinanolone	4.00
3 Octadecyl caffeate	2.40
4 2-Methylnaphthazarin	2.50
5 Droserone	4.50
6 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone	0.18
7 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide	0.60
8 3-Hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone	7.00
9 3-Acetyloxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone	32.0
10 3,5-Dimethoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone	0.90
11 2,2-Dimethyl-3-hydroxy-3-methoxycarbonyl-4-methoxy-1H-inden-1-one	15.00
12 3-Chloro-2-methyl-5-methoxy-1,4-naphthoquinone	40.00
pyrimethamine	2.80
chloroquine	0.03

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านมาลาเรียของกลุ่มสาร xanthenes [13-22] จาก
Garcinia dulcis และ *G. cowa*

สาร	IC ₅₀
	µg/ml
13 1,7-Dihydroxyxanthone	3.88
14 12b-Hydroxy-der-D-garcigerrin A	2.08
15 1-O-Methylsymphoxanthone	3.71
16 Symphoxanthone	3.75
17 Garcinixanthone	0.96
18 7-O-Methylgarcinone E	2.50
19 Cowanin	3.00
20 Cowanol	1.60
21 Cowaxanthone	1.50
22 β-Mangostin	3.00
pyrimethamine	2.80
chloroquine	0.03

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านมาลาเรียของกลุ่มสาร aporphinoids [23-32] จาก
Goniiothalamus tenuifolius และ *Stephania venosa*

สาร	IC ₅₀
	µg/ml
23 Cepharanone B	11.01
24 Taliscanine	10.49
25 Aristolactam	9.54
26 Velutinam	7.51
27 Norcepharadione B	7.73
28 Dehydrostephanine	0.04
29 Stephanine	0.12
30 Dehydrocrebanine	0.07
31 Crebanine	0.28
32 Sukhodianine	0.31
pyrimethamine	2.80
chloroquine	0.03

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านมาลาเรียของกลุ่มสาร aporphinoids [33-38] จาก
Prismatomeris sessiliflora, *Diospyros montana* และ *Murraya*
siamensis.

สาร	IC ₅₀
	µg/ml
33 Rubiadin	13.00
34 Rubiadin-1-methyl ether	1.56
35 Diospyrin	2.50
36 5-Hydroxy-4-methoxy-2-naphthaldehyde	10.00
37 Heptaphylline	5.00
38 7-Methoxyheptaphylline	4.90
pyrimethamine	2.80
chloroquine	0.03

อภิปราย วิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง

1. *Nepenthes thorelii*

จากรากของน้ำเต้าลม สามารถแยกได้สารบริสุทธิ์จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ plumbagin [1], isoshinanolone [2], octadecyl caffeate [3], 2-methylnaphthazarin [4] และ droserone [5] โดยสาร 1 มีปริมาณมากที่สุด (3 g) เมื่อนำสารเหล่านี้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียในงานทดลองกับเชื้อ *Plasmodium falciparum* สายพันธุ์ T_{9/94} เพื่อคำนวณหาค่า IC₅₀ (μg/ml) ของสารเหล่านี้โดยมี chloroquine และ pyrimethamine เป็นสารอ้างอิงแล้ว พบว่า สาร 1 มีฤทธิ์แรงที่สุด โดยมีฤทธิ์แรงกว่า pyrimethamine แต่อ่อนกว่า chloroquine ส่วนสารอื่นๆ มีฤทธิ์ปานกลางถึงอ่อน จากผลการทดลองข้างต้นจึงสรุปได้ว่า plumbagin [1] ซึ่งเป็นสารที่พบในปริมาณมากที่สุด เป็นสารออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียของน้ำเต้าลม

นอกจากนี้ ยังได้สังเคราะห์อนุพันธ์โดยใช้สาร plumbagin [1] เป็นสารตั้งต้น ได้สารถึงสังเคราะห์ทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ สาร 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [6], 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone-2,3-epoxide [7], 3-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [8], 3-acetoxy-5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [9], 3,5-dimethoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone [10], 2,2-dimethyl-3-hydroxy-3-methoxycarbonyl-4-methoxy-1H-inden-1-one [11] และ 3-chloro-2-methyl-5-methoxy-1,4-naphthoquinone [12] สาร 11 เกิดขึ้นระหว่างการเตรียมสาร 10 จากปฏิกิริยา

ของสาร 8 กับ $\text{CH}_3\text{I}/\text{Ag}_2\text{O}$ เนื่องจากในปฏิกิริยาดังกล่าวได้เกิดสาร intermediate ที่มีลักษณะเป็น α -diketo สารนี้อยู่ในสารละลายต่างจึงเกิด benzil-benzilic re-arrangement ได้โครงสร้างซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยา methylation ต่อไปได้เป็นสาร 11 ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทาง ^{13}C NMR ของสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารทั้งสังเคราะห์เหล่านี้โดยพิจารณาจากค่า IC_{50} พบว่าโครงสร้างส่วน quinone ของสารกลุ่มนี้เป็นโครงสร้างที่มีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ ดังจะเห็นได้จากฤทธิ์ต้านมาลาเรียที่ลดลงในสาร 11 เมื่อเทียบกับสาร 10 ในกรณีของสาร 7 แม้แสดงฤทธิ์อยู่บ้างคงเนื่องมาจากโครงสร้างที่เป็น epoxide ring ที่อาจไวต่อ non-specific nucleophilic attack ผลของกลุ่มแทนที่ในโครงสร้างส่วนที่เป็น aromatic ring ที่มีต่อฤทธิ์ต้านมาลาเรียนั้นไม่ชัดเจน ส่วนการเติมกลุ่มแทนที่ซึ่งลดความหนาแน่นของอิเล็กตรอนรอบคาร์บอนที่ตำแหน่งที่ 3 ของโครงสร้าง naphthoquinone จะทำลายฤทธิ์ต้านมาลาเรียดังจะเห็นได้จากค่า IC_{50} ที่เพิ่มขึ้นในสาร 8, 9, 10 และ 12 ซึ่งมีกลุ่ม hydroxy, acetoxy, methoxy และ chloro ที่คาร์บอนที่ตำแหน่งที่ 3 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ เราอาจเสนอสมมติฐานสำหรับการวิจัยในขั้นต่อไปได้ว่าการเลือกเติมกลุ่มที่เพิ่มความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่สาม อาจให้ผลในทางตรงกันข้าม คือให้อนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ดีกว่าสารตั้งต้น ข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง 1,4-naphthoquinone เพื่อให้มีฤทธิ์แรงขึ้นต่อไป

2. *Garcinia dulcis* และ *G. cowa*

สารที่แยกได้จากต้นไม้มทั้งสองต้นนี้ [13-22] จัดอยู่ในกลุ่ม xanthenes ทั้งสิ้น ในแง่ของโครงสร้างนั้นสาร 7-*O*-methylgarcinone E [18] เป็นสารใหม่ ไม่เคยมีผู้ใดพบมาก่อน จึงได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพอย่างละเอียด นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์ค่า ^{13}C NMR assignments ของสารที่แยกได้ทั้งหมดด้วย เมื่อนำสารเหล่านี้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย พบว่าส่วนใหญ่มีฤทธิ์ปานกลาง คือมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ pyrimethamine แต่อ่อนกว่า chloroquine สารกลุ่มนี้จึงจัดว่าเป็นสารต้านมาลาเรียกลุ่มใหม่ แม้ว่าฤทธิ์จะไม่แรงเท่า chloroquine ก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าในเวลาต่อมาได้มีผู้รายงานการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ โดยมีกลไกต่างจากสารต้านมาลาเรียอื่นๆ โดยไปออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการ heme polymerization ของเชื้อมาลาเรีย (64) จึงช่วยเสริมฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารบางชนิดได้ จากข้อมูลดังกล่าวจึงเห็นได้ว่าน่าจะเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นยาร่วมกับยาต้านมาลาเรียชนิดอื่นต่อไป

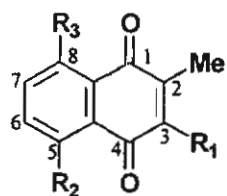
3. *Goniothalamus tenuifolius* และ *Stephania venosa*

สาร 23-27 ที่แยกได้จาก *Goniothalamus tenuifolius* ทั้งหมด จัดอยู่ในกลุ่มสาร aporphinoids จำพวก aristolactams สารเหล่านี้ไม่มีโครงสร้างส่วนที่เป็น methylenedioxy จึงมีฤทธิ์ที่อ่อนมาก สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ (65) ส่วนกลุ่มสาร aporphinoids [28-32] ซึ่งได้จากสับเล็ดทุกชนิดมีโครงสร้าง methylenedioxy อยู่ด้วยจึงมีฤทธิ์ต้านมาลาเรียที่เห็นได้ชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร dehydrostephanine [28] และสาร dehydrocrebanine [30] มีฤทธิ์แรงใกล้เคียง

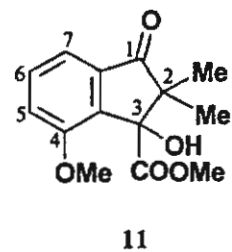
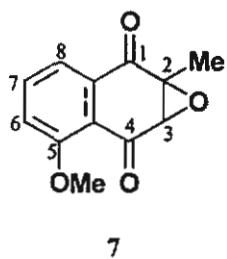
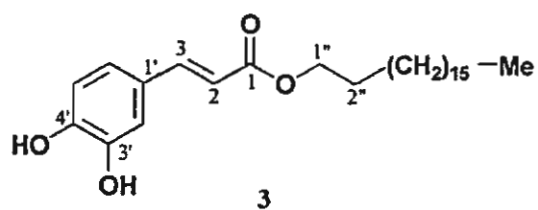
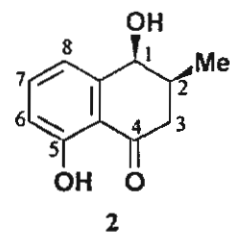
เคียงกับ chloroquine เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสาร 28 และสาร 29 แล้วจะพบว่า สาร 28 ซึ่งมีโครงสร้างเป็น 6a,7-dehydro derivative ของสาร 29 มีฤทธิ์แรงกว่า ในกรณีระหว่างสาร 30 และสาร 31 ก็เช่นเดียวกัน คือสาร 30 ซึ่งมีโครงสร้างเป็น 6a,7-dehydro derivative ของสาร 31 มีฤทธิ์แรงกว่า ข้อมูลนี้เป็นสิ่งที่ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของโครงสร้างส่วน 6a,7-dehydro ในการออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารกลุ่ม aporphinoids จึงอาจนำองค์ความรู้นี้มาใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารกลุ่มนี้ โดยการสังเคราะห์สารอนุพันธ์กลุ่ม aporphinoids ให้มีคุณสมบัติดังนี้ (ก) มีโครงสร้าง methylenedioxy ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 2 (ข) มี unsaturation ที่ตำแหน่ง 6a และ 7 และ (ค) มี substituents เช่น OH, OMe, F, Cl ฯลฯ ที่ตำแหน่ง 8, 9, 10 หรือ 11 ซึ่งอนุพันธ์ที่ได้อาจมีฤทธิ์แรงกว่า chloroquine ข้อมูลนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อนักเคมีสังเคราะห์ที่สนใจการค้นหายาต้านมาลาเรียชนิดใหม่โดยมีโครงสร้างหลักมาจากสารธรรมชาติในกลุ่ม aporphine alkaloids

4. *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* และ *Murraya siamensis*

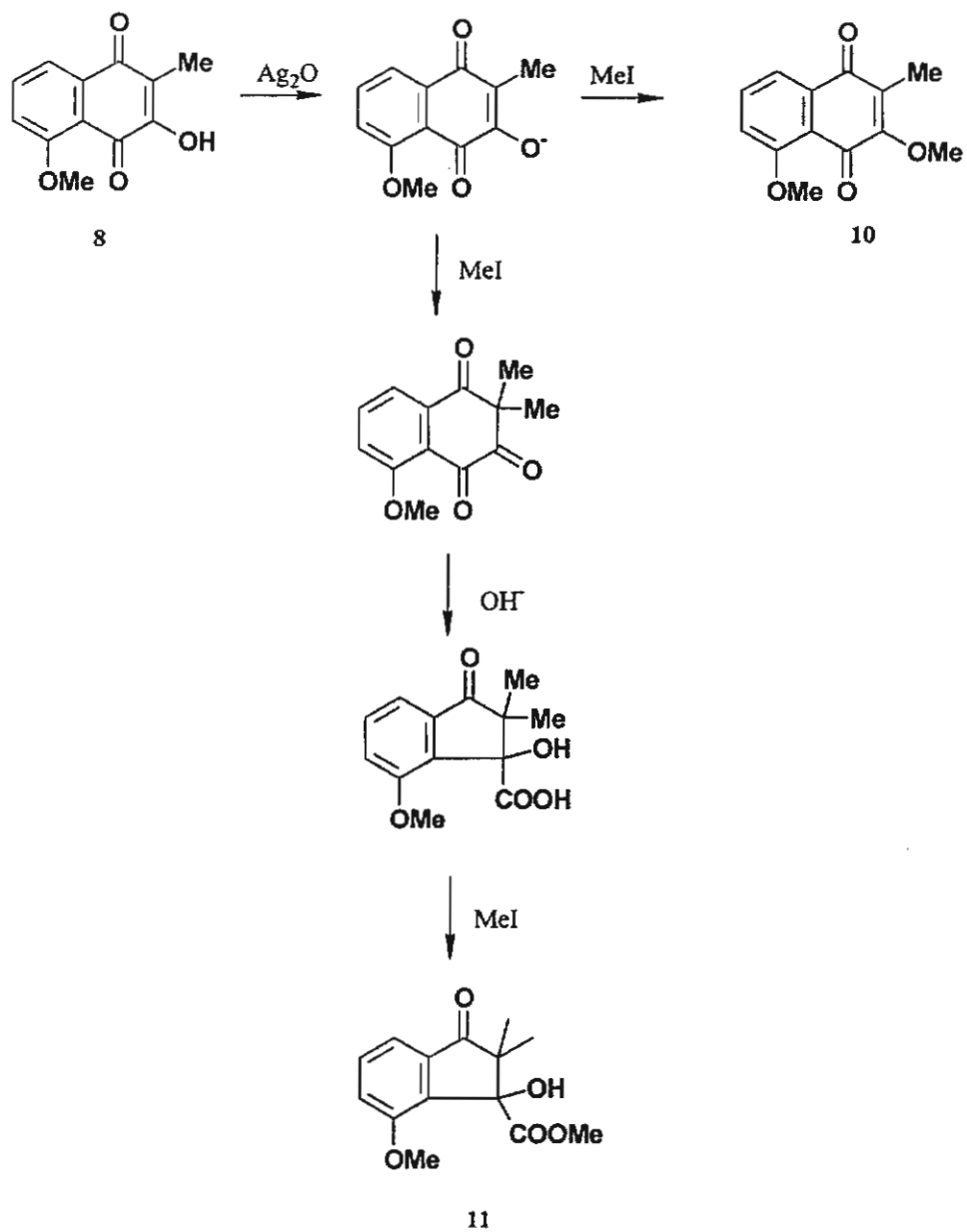
สาร 33 และ 34 ที่แยกได้จาก *Prismatomeris sessiliflora* มีโครงสร้างในกลุ่ม anthraquinones สาร 35 และ 36 จาก *Diospyros montana* มีโครงสร้างเป็น binaphthoquinone และ naphthalene ส่วนสาร 37 และ 38 จาก *Murraya siamensis* จัดอยู่ในกลุ่ม carbazole alkaloids สารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียอ่อนมาก ไม่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อไป



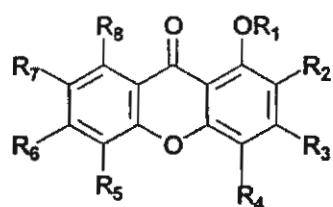
	R_1	R_2	R_3
1	H	OH	H
4	H	OH	OH
5	OH	OH	H
6	H	OMe	H
8	OH	OMe	H
9	OAc	OMe	H
10	OMe	OMe	H
12	Cl	OMe	H



รูปที่ 1 โครงสร้างของสาร 1 - 12 จาก *Nepenthes thorelii*

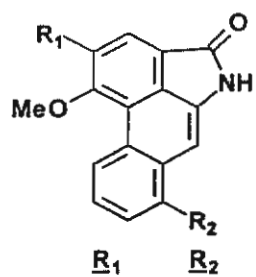


รูปที่ 2 การเตรียมสารกึ่งสังเคราะห์จากสาร 1

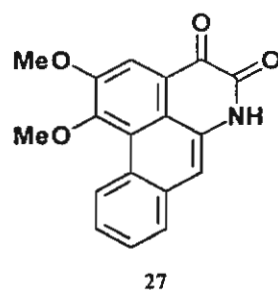


	<u>R₁</u>	<u>R₂</u>	<u>R₃</u>	<u>R₄</u>	<u>R₅</u>	<u>R₆</u>	<u>R₇</u>	<u>R₈</u>
13	H	H	H	H	H	H	OH	H
14	H		H	OH	OH	H	H	H
15	Me	OH	H		OH	OH	H	H
16	H	OH	H		OH	OH	H	H
17	H	H	OH	H	OH	OH		
18	H		OH	H		OH	OMe	
19	H		OH	H	H	OH	OMe	
20	H		OH	H	H	OH	OMe	
21	H		OH	H	H	OH	OMe	H
22	H		OMe	H	H	OH	OMe	

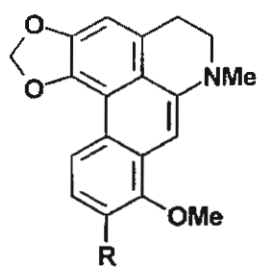
รูปที่ 3 โครงสร้างของ xanthones จาก *Garcinia dulcis* และ *G. cowa*



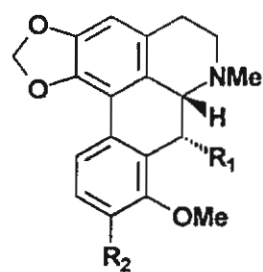
23	Me	H
24	Me	OMe
25	H	H
26	Me	OH



รูปที่ 4 โครงสร้าง Alkaloids จาก *Goniiothalamus tenuifolius*

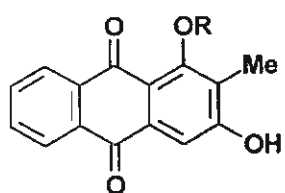


	<u>R</u>
28	H
30	OMe

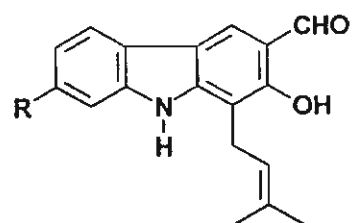


	<u>R₁</u>	<u>R₂</u>
29	H	H
31	H	OMe
32	OH	OMe

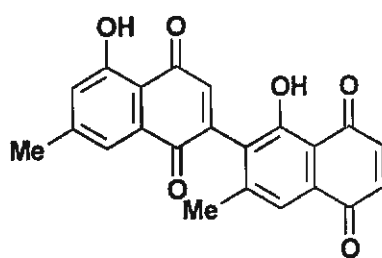
รูปที่ 5 โครงสร้างของ alkaloids จาก *Stephania venosa*



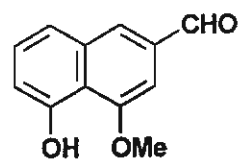
R
33 H
34 Me



R
37 H
38 OMe



35



36

รูปที่ 6 โครงสร้างของสาร 33 - 38

เอกสารอ้างอิง

- (1) Division of Control of Tropical Diseases, *World Health Statistics Quaterly* 43: 68-69, 1990.
- (2) WHO Malaria Unit: Global malaria control. *Bull. World Health Organization* 71: 281-281, 1993.
- (3) Wernsdorfer, G. and McGregor, I. *Malaria: principles and practice of malariology*, pp. 1421-1471. New York, Churchill Livingstone, 1988.
- (4) Siddiqui, W.A.: General conclusions and recommendations for the Asia and Pacific conference on malaria. In *Proceedings of the Asia and Pacific conference on malaria: practical considerations on malaria vaccines and clinical trials*. April 21-27, 1985, Honolulu, Hawaii, USA.
- (5) กรองทอง ทิมาสาร สถานการณ์มาลาเรียในปัจจุบัน เอกสารเผยแพร่ในการประชุมวิชาการเรื่องซิงเฮาและอนุพันธ์อาติมิซินิน 13 กันยายน 2537 องค์การเภสัชกรรม
- (6) คณะกรรมการวางแผนพัฒนาการสาธารณสุข แผนพัฒนาการสาธารณสุขตามแผนพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2535-2539)

- (7) Ruayajin, O.: Factors affecting malaria related behavior: a literature review of behavioral theories and relevant research. In *Social and economic aspects of malaria control*, eds. S. Sornmani and W. Fungladda, pp. 36-69. Bangkok, Mahidol University, 1991.
- (8) Butraporn, P. : Social epidemiology of malaria. In *Social and economic aspects of malaria control*, eds. S. Sornmani and W. Fungladda, pp. 14-35. Bangkok, Mahidol University, 1991.
- (9) Payne, D.: Annex I. In *Physician's Guide to effective management of cases of malaria, 1993*, ed. H.A.H. Marshall, pp. 98-101. Tokyo, International Medical Foundation of Japan, 1993.
- (10) Fontanet, A.L., Johnston, B.D., Walker, A.M., Bergquist, Y., Hellgren, U., and Rooney, W.: Falciparum malaria in eastern Thailand: a randomized trial of the efficacy of a single dose of mefloquine. *Bull. World Health organization* 72: 73-78, 1994.
- (11) Jiang, J.B., Li, G.Q., Guo, X.B., and Kong, Y.C.: Antimalarial activity of mefloquine and qinhaosu. *Lancet* 2: 285-288, 1982.

- (12) Karbwang, J., Na-Bangchang, K., Thanavibul, A., Bunnag, D., Chongsuphajasiddhi, T., and Harinasuta, T.: Comparison of oral artesunate and quinine plus tetracycline in acute uncomplicated falciparum malaria. *Bull. World Health Organization* 72: 233-238, 1994.
- (13) Looareesuwan, S. and Chongsuphajasiddhi, T.: Drug treatment of falciparum malaria. *J. Infect. Dis. Antimicrob. Agents* 11: 89-93, 1993.
- (14) Qinghaosu Research Group.: Crystal structure and absolute configuration of Qinghaosu. *Sci. Sin.* 23: 380-396, 1980.
- (15) James, D.M. and Gilles, H.M. *Human antiparasitic drugs: pharmacology and usage*, pp. 120-164. New York, John Wiley and Sons, 1985.
- (16) Smitinand, T. *Thai plant names*, pp. 239-240. Bangkok, Funny Publishing, 1980.
- (17) Perry, L.M. *Medicinal plants of east and southeast Asia* p. 287. Cambridge, MIT Press, 1980
- (18) Harrison, L.J., Leong, L.-S., Leong, Y.-W., Sia, G.-L., Sim, K.-Y. and Tan, H.T.-W.: Xanthone and flavonoid constituents of *Garcinia dulcis*. *Nat. Prod. Lett.* 5: 111-116, 1993.

- (19) Iinuma, M., Ito, T., Tosa, H. and Tanaka, T.: Five new xanthenes from *Garcinia dulcis*. *J. Nat. Prod.* 59: 472-475, 1996.
- (20) เสี่ยม พงษ์บุญรอด ไม่เทศเมืองไทย โรงพิมพ์กรุงธน กรุงเทพฯ พ.ศ. 2522 หน้า 183.
- (21) Lee, H.H. and Chan, H.K. : 1,3,6-Trihydroxy-7-methoxy-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)xanthone from *Garcinia cowa*. *Phytochemistry* 16: 2038-2040, 1977.
- (22) Na Pattalung, P., Thongtheraparp, W., Wiriyaichitra, P. and Taylor, W.C. : Xanthenes of *Garcinia cowa*. *Planta Medica* 60: 365-368, 1994.
- (23) Guinaudeau, H. and Shamma, M : 4,5,6,6a-Tetrahydro-N-methyl-7-oxo-aporphinium salts. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1118-1119, 1981.
- (24) Guinaudeau, H., Shamma, M., Tantisewie, B. and Pharadai, K. : Aporphine alkaloids oxygenated at C-7. *J. Nat. Prod.* 45: 355-357, 1982.
- (25) Pharadai, K., Pharadai, T., Tantisewie, B., Guinaudeau, H., Freyer, A.J. and Shamma, M.: (-)-O-Acetylsukhodanin and oxostephanosine: two new aporphinoids from *Stephania venosa*. *J. Nat. Prod.* 48: 658-659, 1985.

- (26) Charles, B., Bruneton, J., Pharadai, K., Tantisewie, B., Guinaudeau, H. and Shamma, M.: Some unusual proaporphine and aporphine alkaloids from *Stephania venosa*. *J. Nat. Prod.* **50**: 1113-1117, 1987.
- (27) Kapil, R.S. and Dhar, M.M.: Chemical constituents of *Diospyros montana* L. Isolation of diospyrin, a new binaphthyl derivative. *J. Sci. Ind. Res.* **20B**: 498-500, 1961.
- (28) Dutta, P.K., Dutta, N.L. and Chakravati, R.N.: Sterols and triterpenes of *Diospyros montana*. *Phytochemistry* **11**: 1180-1181, 1972.
- (29) Misra, G., Nigam, S.K. and Mitra, C.R.: Steroids and triterpenoids of *Diospyros montana*. *Phytochemistry* **11**: 1508-1509, 1972.
- (30) Pardhasaradhi, M. and Sindhu, G.S.: β' -Dihydrodiospyrin, the first reduced binaphthequinone. *Tetrahedron Lett.* **41**: 4201-4204, 1972.
- (31) Goutam, M.P. and Purohit, R.M.: Amino acid content of seeds of *Diospyros montana* Roxb. *J. Res. Indian Med.* **9**: 100-101, 1974.
- (32) Lillie, T.J., Musgrave, O.C. and Skoyles, D.: Ebenaceae extractives. Part V. New Diospyrin derivatives from *Diospyros montana* Roxb. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **20** : 2155-2161, 1976.

- (33) Narayan, G.K.A.S.S., Row, L.R and Satyanarayana, P.: Chemical examination of *Diospyros* species. *Curr. Sci.* **47**: 345, 1978.
- (34) Pardhasaradhi, M. and Krishnakumari, L.: Tetrahydrodiospyrin : a reduced binaphthoquinone from the bark of *Diospyros montana*. *Phytochemistry* **18**: 684-685, 1979.
- (35) Raj, K.P.S. and Agrawal, Y.K.: Studies on frutis of *Dispyros montana* Roxb. *Pol. J. Chem.* **53**: 735-736, 1976.
- (36) Pardhasaradhi, M. and Rao, B.N.: A naphthoquinone carboxylate from fungal infested *Diospyros montana*. *Phytochemistry* **29**: 2355-2356, 1990.
- (37) Zafar, R., Singh, V. and Khan, M.S.Y.: Chemical examination of the leaves of *Diospyros montana* Roxb. *Indian Drugs* **28**: 432-433, 1991.
- (38) Ruangrunsi, N., Ariyaprayoon, J., Lange, G.L. and Organ, M.G.: Three new carbozole alkaloids isolated from *Murraya siamensis*. *J. Nat. Prod.* **53**: 946-952, 1990.
- (39) Bhattacharyya J. and De Carvalho, V.R.: *Epi*-isoshinanolone from *Plumbago scandens*. *Phytochemistry* **25**: 764-765, 1986.

- (40) Sankaram, A. V.B., Narayana Reddy, V.V., Marthandamurthi, M.: ^{13}C NMR spectra of some naturally occurring binaphthoquinones and related compounds. *Phytochemistry* 25: 2867-2871, 1986.
- (41) Yue, J., Lin, Z., Wang, D., Feng, Y. and Sun, H.: Plumbasides A-C three naphthoquinone derivatives from *Ceratostigma minus*. *Phytochemistry* 35 : 1023-1025, 1994.
- (42) Tezuka, M., Takahashi, C., Kuroyanagi, M., Satake, M., Yoshihira, K. and Natori, S.: New naphthoquinones from *Diospyros*. *Phytochemistry* 12: 175-183, 1973.
- (43) Inuma, M., Ohyama, M. and Tanaka, T.: Flavonoids in roots of *Sophora prostrata*. *Phytochemistry* 38: 539-543, 1995.
- (44) Ferreira, M.A., Costa, M.A.C., Alves, A.C.: Identification of methylnaphthazarin in *Diospyros* species. *Phytochemistry* 11: 2352-2353, 1972.
- (45) Kreher, B., Neszelyi, A. and Wagner, H.: Naphthoquinones from *Dionaea muscipula*. *Phytochemistry* 29: 605-606, 1990.

- (46) Pluim, H. and Wynberg, H.: Catalytic asymmetric induction in oxidation reactions: synthesis of optically active epoxynaphthoquinones. *J. Org. Chem.* **45**: 2498-2502, 1980.
- (47) Dinda, B., Chel, G., Saha, S. and Patra, A.: Reactions of naturally occurring α -naphthoquinones: part I. *Indian J. Chem.* **33B**: 502-506, 1994.
- (48) Ghera, E. and Ben-David, Y.: Annulation reactions leading to naphthalene derivatives: new syntheses of natural 1,2- and 1,4-naphthoquinones. *J. Org. Chem.* **50**: 3355-3359, 1985.
- (49) Giles, R.G.F., Roos, G.H.P.: Syntheses of substituted 1,4-naphthoquinones by Diels-Alder addition of methoxycyclohexadienes to substituted 1,4-benzoquinones. *J. Chem. Soc. PerkinsI*: 2057-2060, 1976.
- (50) Gunatilaka, A.A.L., de Silva, A.M.J., Sotheewaran, S.: Minor xanthenes of *Hypericum mysorense*. *Phytochemistry* **21**: 1751-1753, 1982.
- (51) Westerman, P.W., Gunasekera, S.P., Uvais, M., Sultanbawa, S., Kazlanskas, R.: Carbon-13 NMR study of naturally occurring xanthenes. *Org. Magn. Reson.* **9**: 631-636, 1977.

- (52) Sordat-Diserens, I, Marston, A., Hamburger, M., Rogers, C., Hostettmann, K.: Novel prenylated xanthenes from *Garcinia gerrardii* Harvey. *Helv. Chim. Acta* 72: 1001-107, 1989.
- (53) Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Shimano, R.: Two new xanthenes from the root bark of *Garcinia subelliptica*. *Heterocycles* 40: 279-284, 1995.
- (54) Minami, H., Takahashi, E., Kodama, M., Fukuyama, Y.: Three xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry* 41: 629-633, 1996.
- (55) Mahabusarakam, W., Wiriyaichitra, P., Taylor, W.: Chemical constituents of *Garcinia mangostana*. *J. Nat. Prod.* 50: 474-478, 1987.
- (56) Omar, S., Chee, C.L., Ahmad, F., Ni, J.X., Hung, L., Nakatsu, T.: Phenanthrene lactams from *Goniothalamus velutinus*. *Phytochemistry* 31: 4395-4397, 1992.
- (57) Priestap, H.A.: Seven aristolactams from *Aristolochia argentina*. *Phytochemistry* 24: 849-857, 1985.

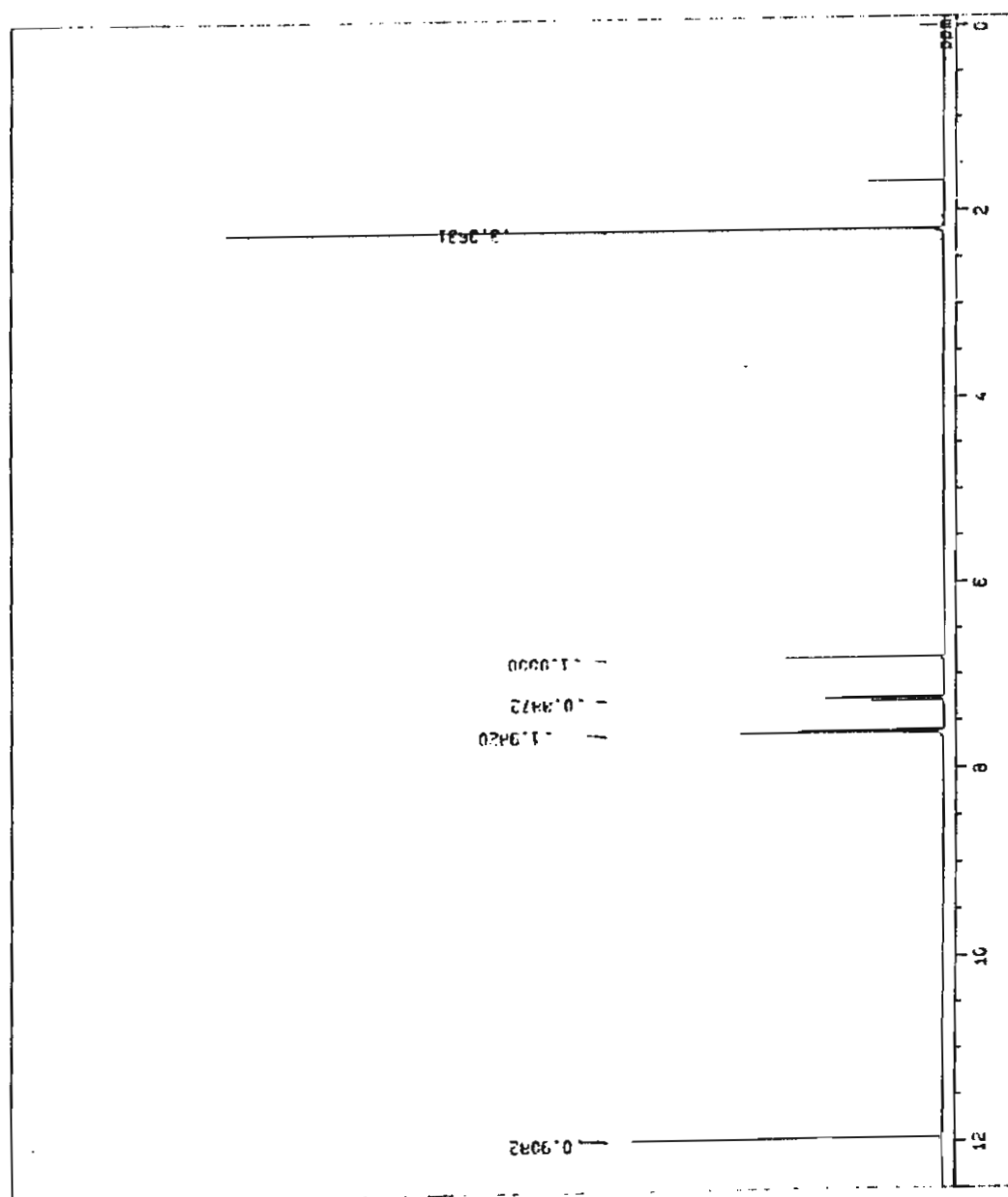
- (58) Achenbarch, H., Frey, D., Waibel, R.: 6a,7-Dehydro-2-hydroxy-4,5-dioxoaporphine and other alkaloids from *Monoclanthus vegnei*. *J. Nat. Prod.* **54**: 1331-1136, 1991.
- (59) Desai, S.J., Chatureedi, R.N., Badheka, L.P., Mulchandani, M.B.: Aristolactams and 4,5-dioxoaporphines from Indian *Piper* species. *Indian J. Chem.* **28B**: 775-777, 1989.
- (60) Kusamba, C., Federici, E., de Vicente, Y. and Galeffi, C.: Research on African medicinal plants XXVIII. The anthraquinones of *Pentas zanzibarica*. *Fitoterapia* **64**: 18-22, 1993.
- (61) Sankaram, A.V.B., Reddy, V.V.N., and Shoolery, J.N. : Conformational isomerism exhibited by 2',3'-epoxydiospyrin. *Indian J. Chem. Sect B* **26B**: 41-46, 1987.
- (62) Harper, S.H., Kemp, A.D. and Tannock, J.: Methoxynaphthaldehydes as constituents of the heartwood of *Diospyros quiloensis* and their synthesis by the Stobbe condensation. *J. Chem. Soc. C* **4**: 626-636, 1970.

- (63) Desjardins, R.E., Canfield, C., Haynes, J.D., and Chulay, J.J.: Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob. Agents Chemther.* **16**: 710-718, 1979.
- (64) Ignatushchenko, M.V., Winter, R.W., B?chinger, H.P., Hinrichs, D.J. and Riscoe, M.K.: Xanthones as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. *FEBS lett.* **409**: 67-73, 1997.
- (65) Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C.K., Chai, H., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A.: Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of *Stephania pierrei*. *J. Nat. Prod.* **56**: 1468-1478, 1993.

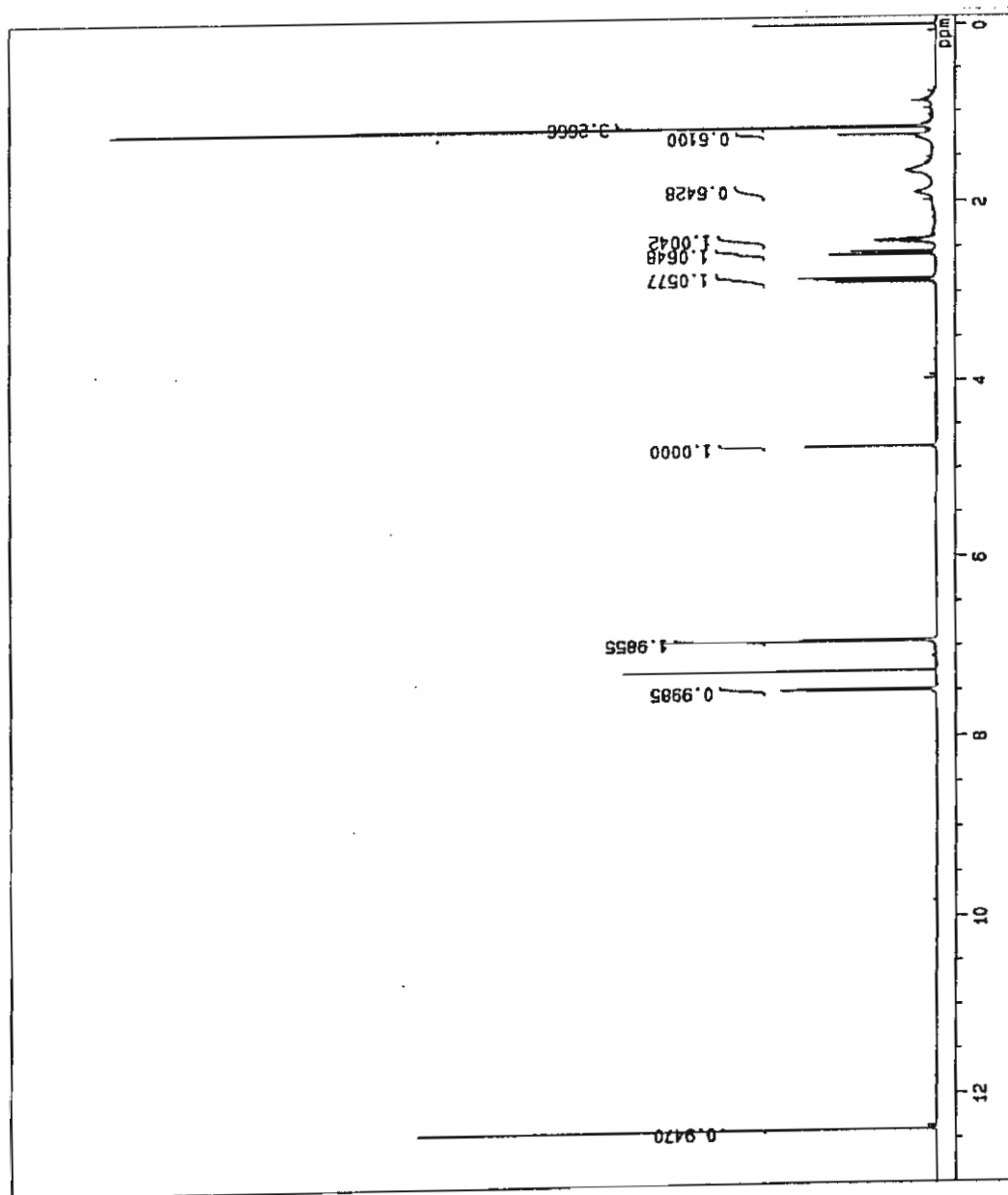
ผลงานที่ตีพิมพ์

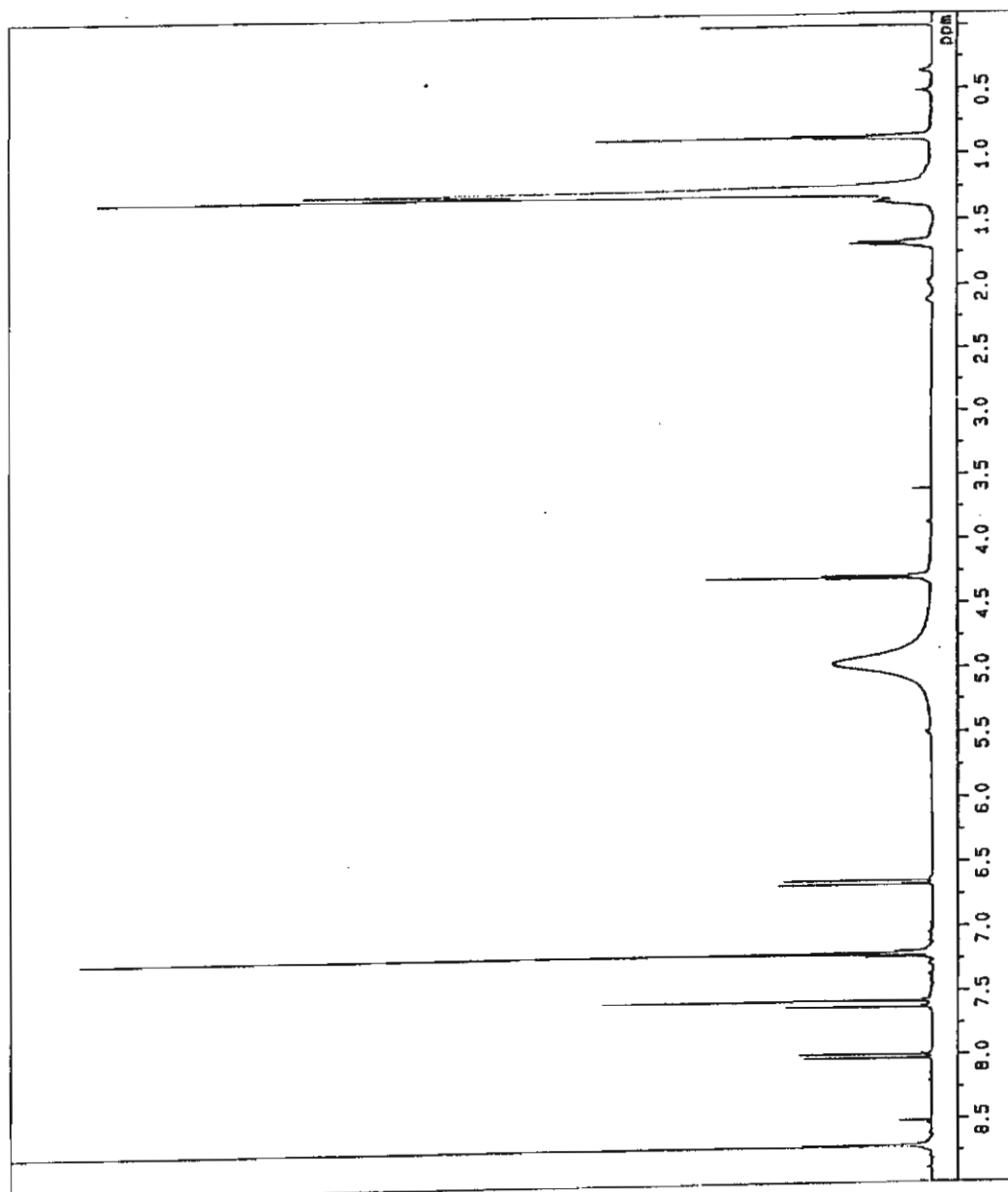
- ✓1. Likhitwitayawuid, K., Phadungcharoen, T., Mahidol, C. and Ruchirawzt, S.: 7-O-Methylgarcinone E from *Garcinia cowa*. *Phytochemistry* 45: 1299-1301, 1997.
- ✓2. Likhitwitayawuid, K., Wirasathien, L., Jongbunprasert, V., Krungkrai, J., Aimi, N., Takayama, H. and Kitajima, M.: Antimalarial alkaloids from *Goniothalamus tenuifolius*. *Pharm. Pharmacol. Lett.* 7: 99-102, 1997.
- ✓3. Likhitwitayawuid, K., Phadungcharoen, T., and Krungkrai, J.: Antimalarial xanthoness from *Garcinia cowa*. *Planta Med.* 64: 70-72, 1998.
- ✓4. Likhitwitayawuid, K., Kaewamatawong, R., Ruangrunsi, N. and Krungkrai, J.: Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii*. *Planta Med.* 64: 237-241, 1998.
- ✓5. Likhitwitayawuid, K., Chanmahasathien, W., Ruangrunsi, N. and Krungkrai, J.: Xanthoness with antimalarial activity from *Garcinia dulcis*. *Planta Med.* 64: 281-282, 1998.
6. Likhitiwitayawuid, K., Dej-adisai, S. and Krungkrai, J.: Antimalarials from *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora* and *Diospyros montana* (in preparation).

ภาคผนวก

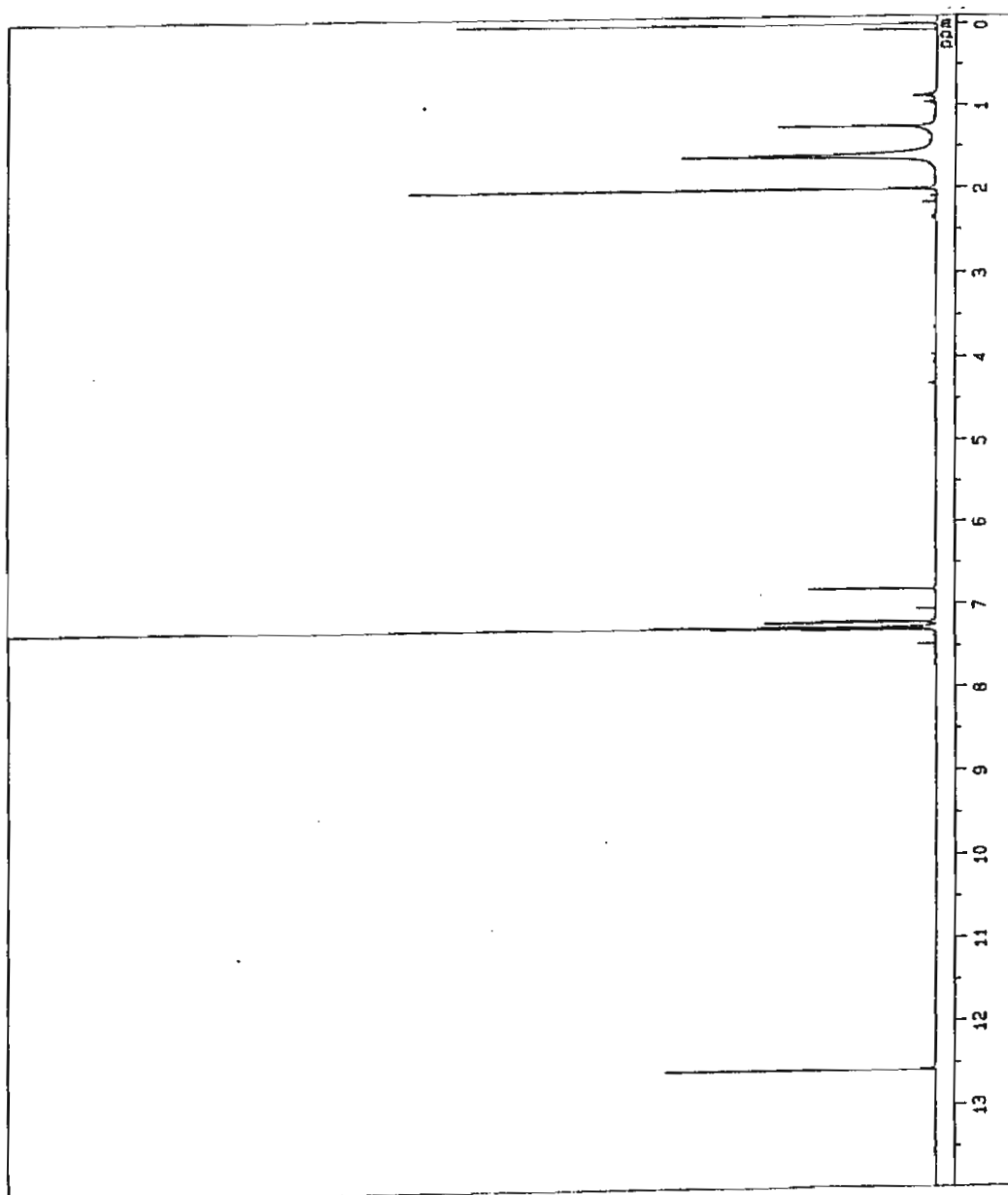


รูปที่ 1 ^1H NMR spectrum ของสาร 1

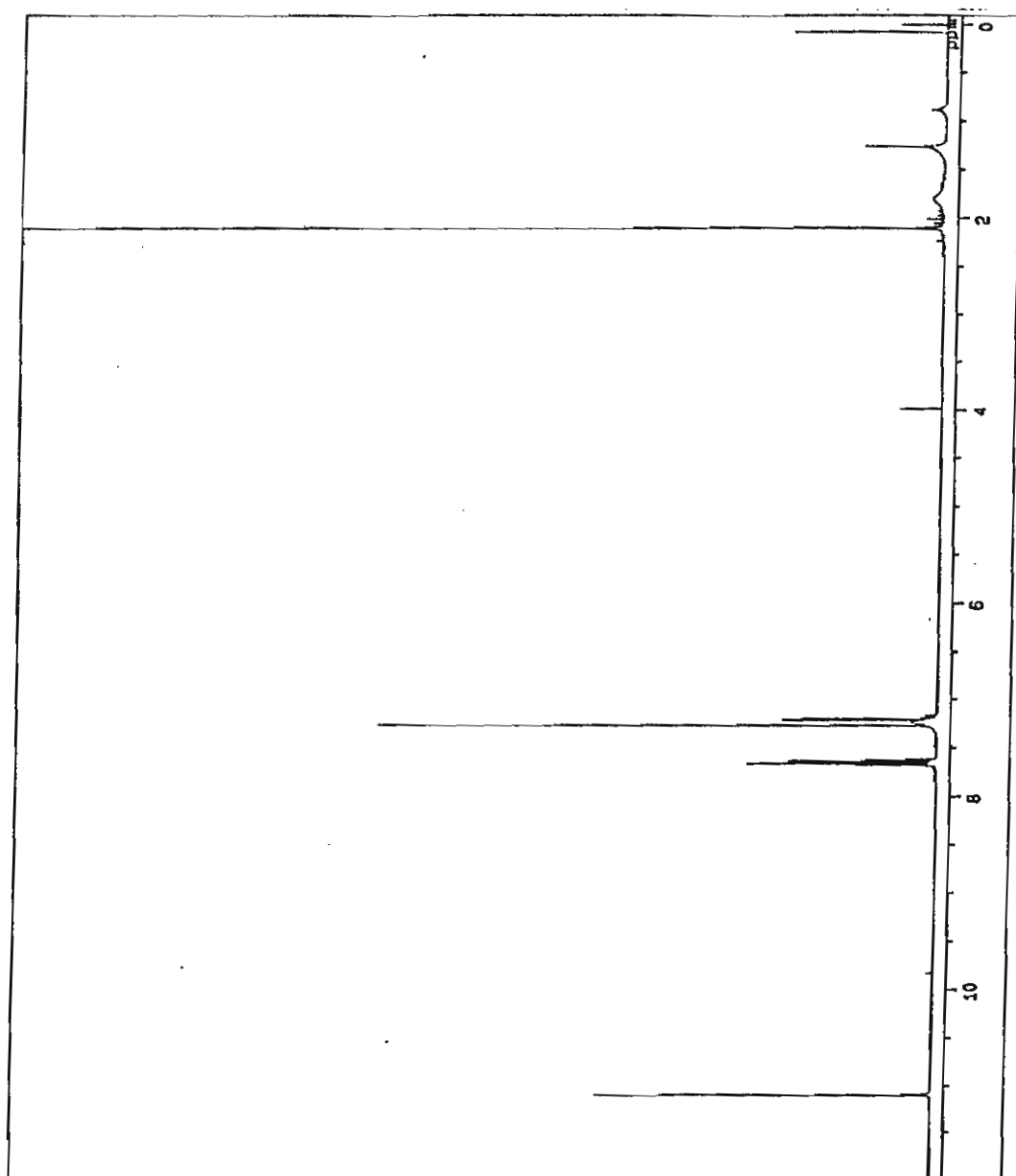
รูปที่ 2 ^1H NMR spectrum ของสาร 2



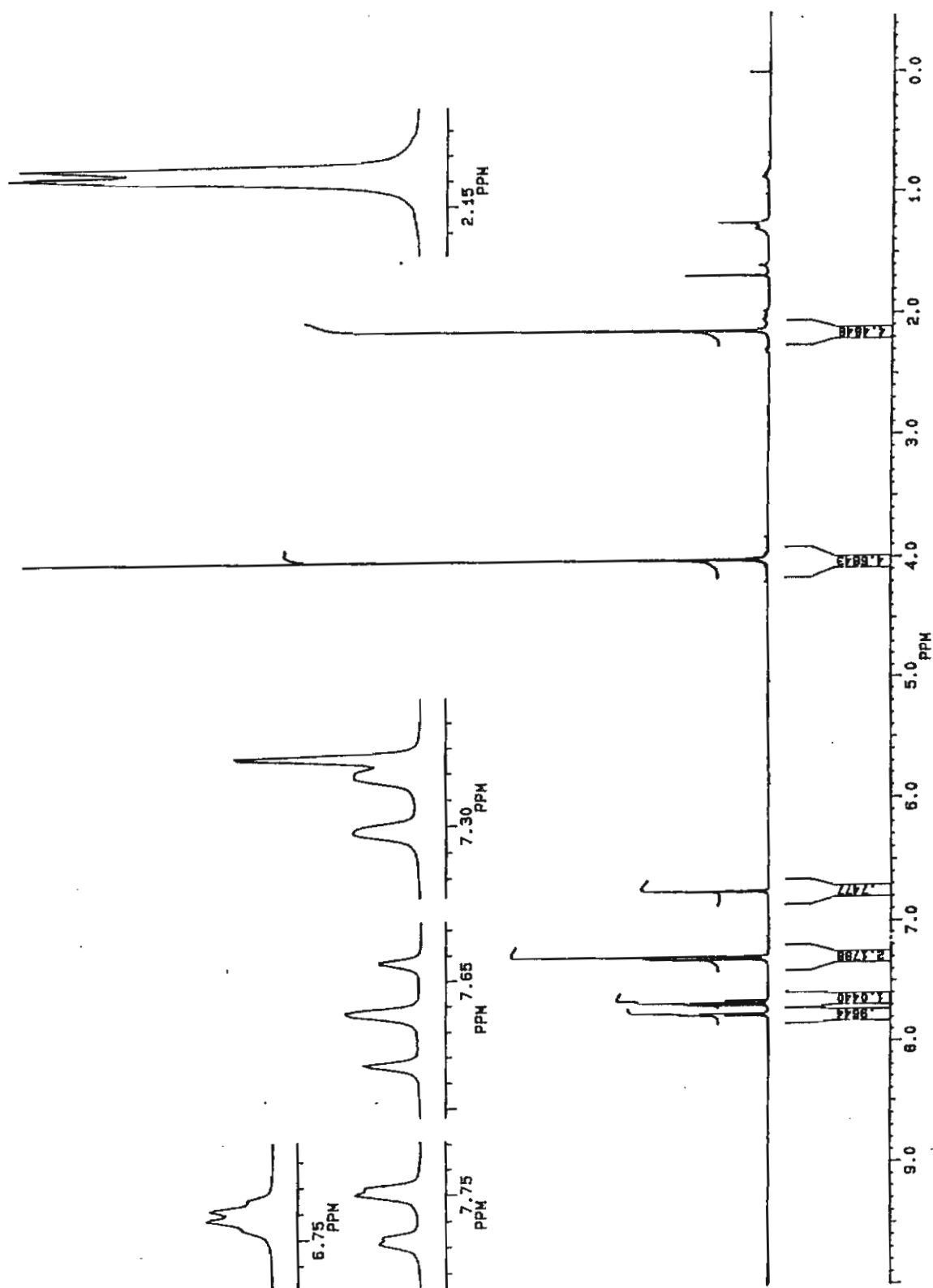
รูปที่ 3 ^1H NMR spectrum ของสาร 3

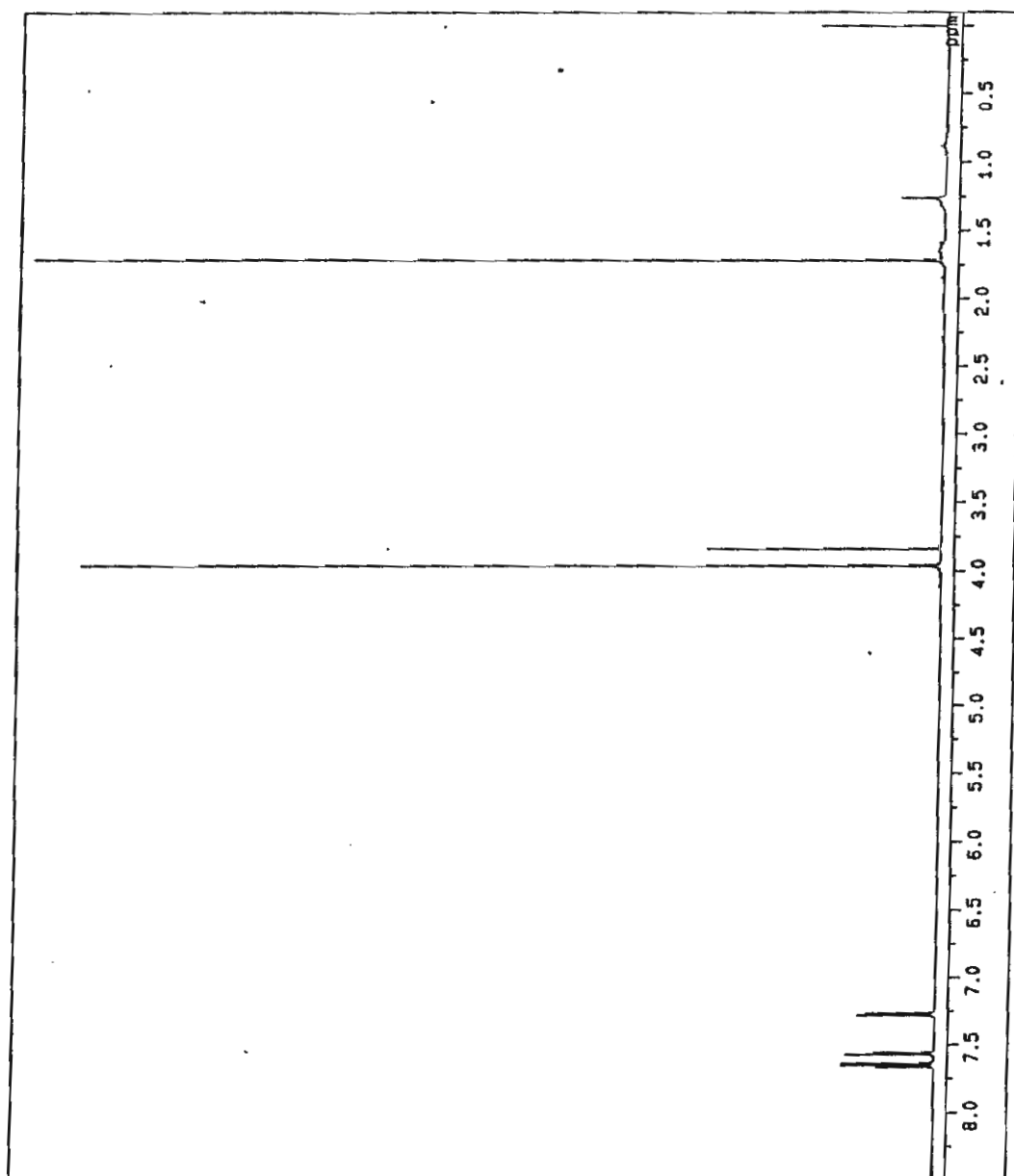


รูปที่ 4 ^1H NMR spectrum ของสาร 4

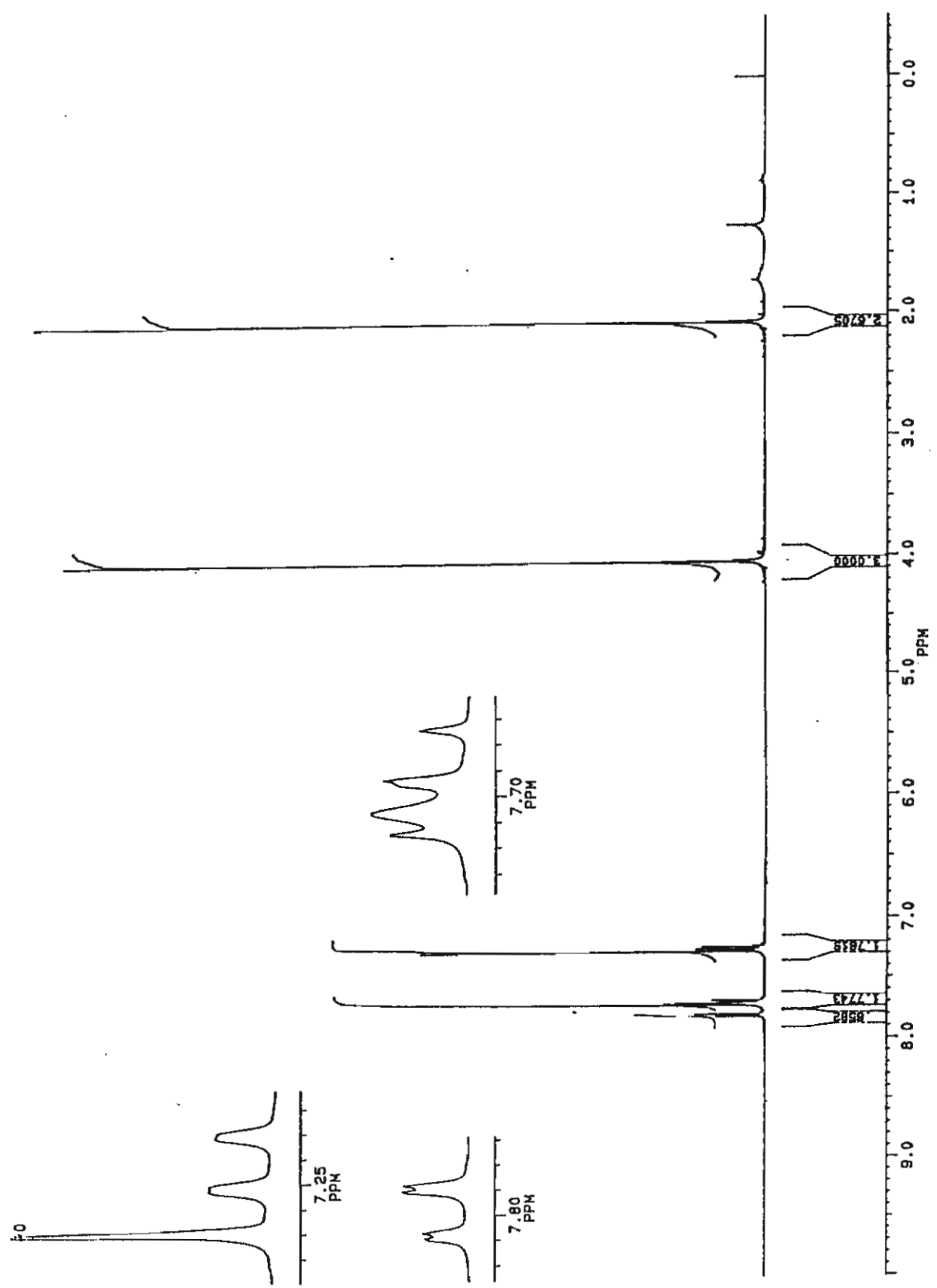


รูปที่ 5 ^1H NMR spectrum ของสาร 5

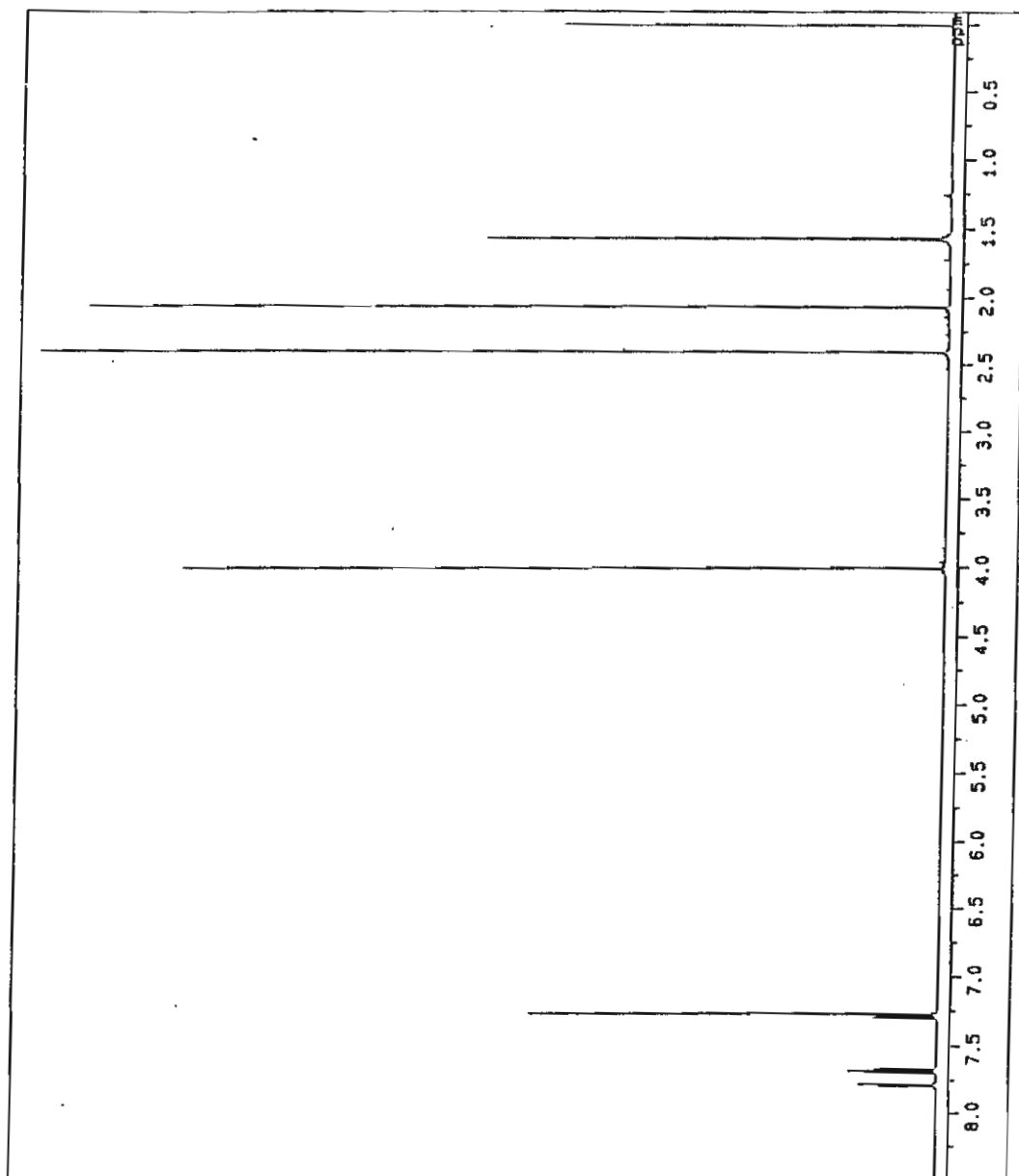
รูปที่ 6 ^1H NMR spectrum ของสาร 6



รูปที่ 7 ^1H NMR spectrum ของสาร 7

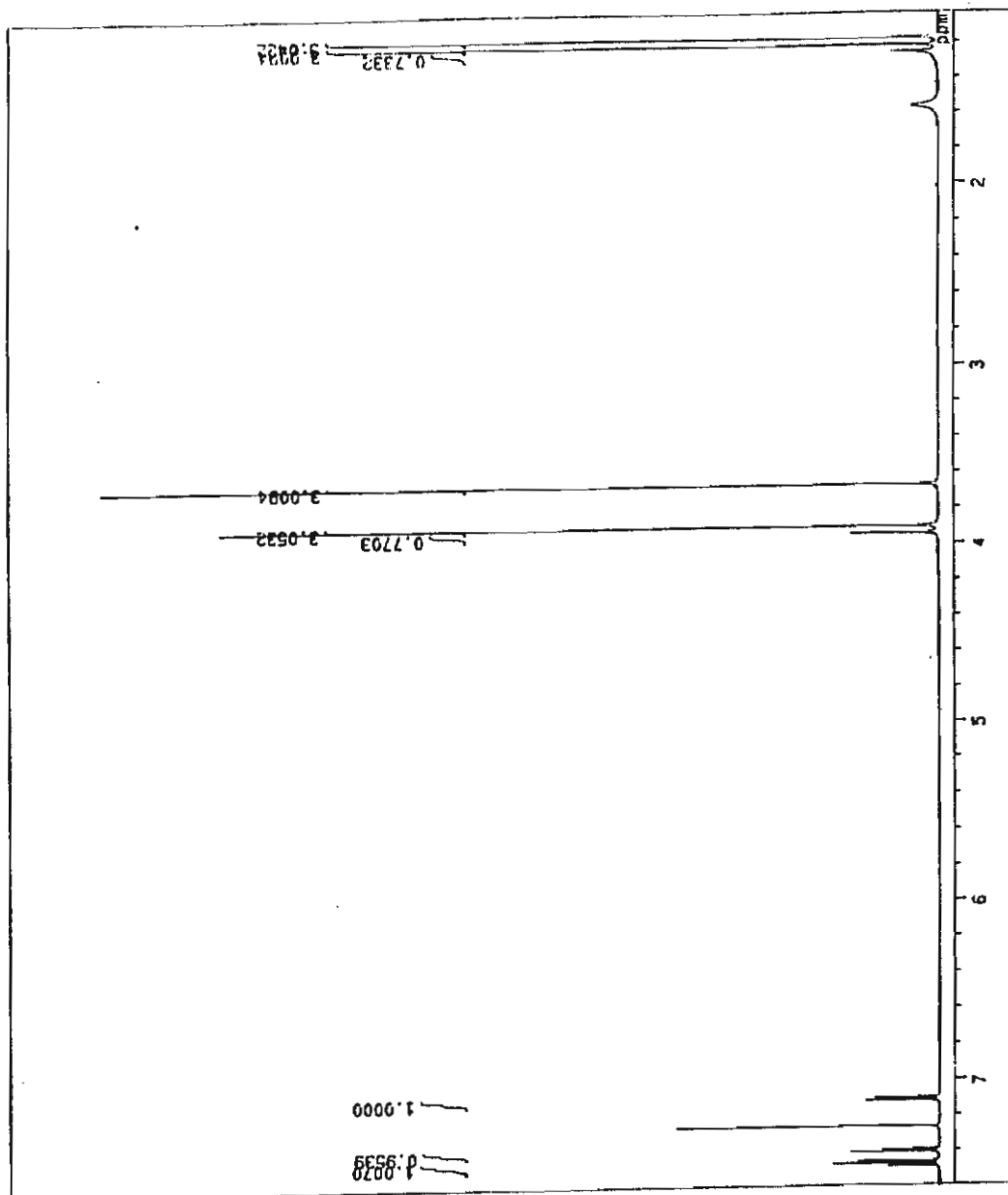


รูปที่ 8 ¹H NMR spectrum ของสาร 8

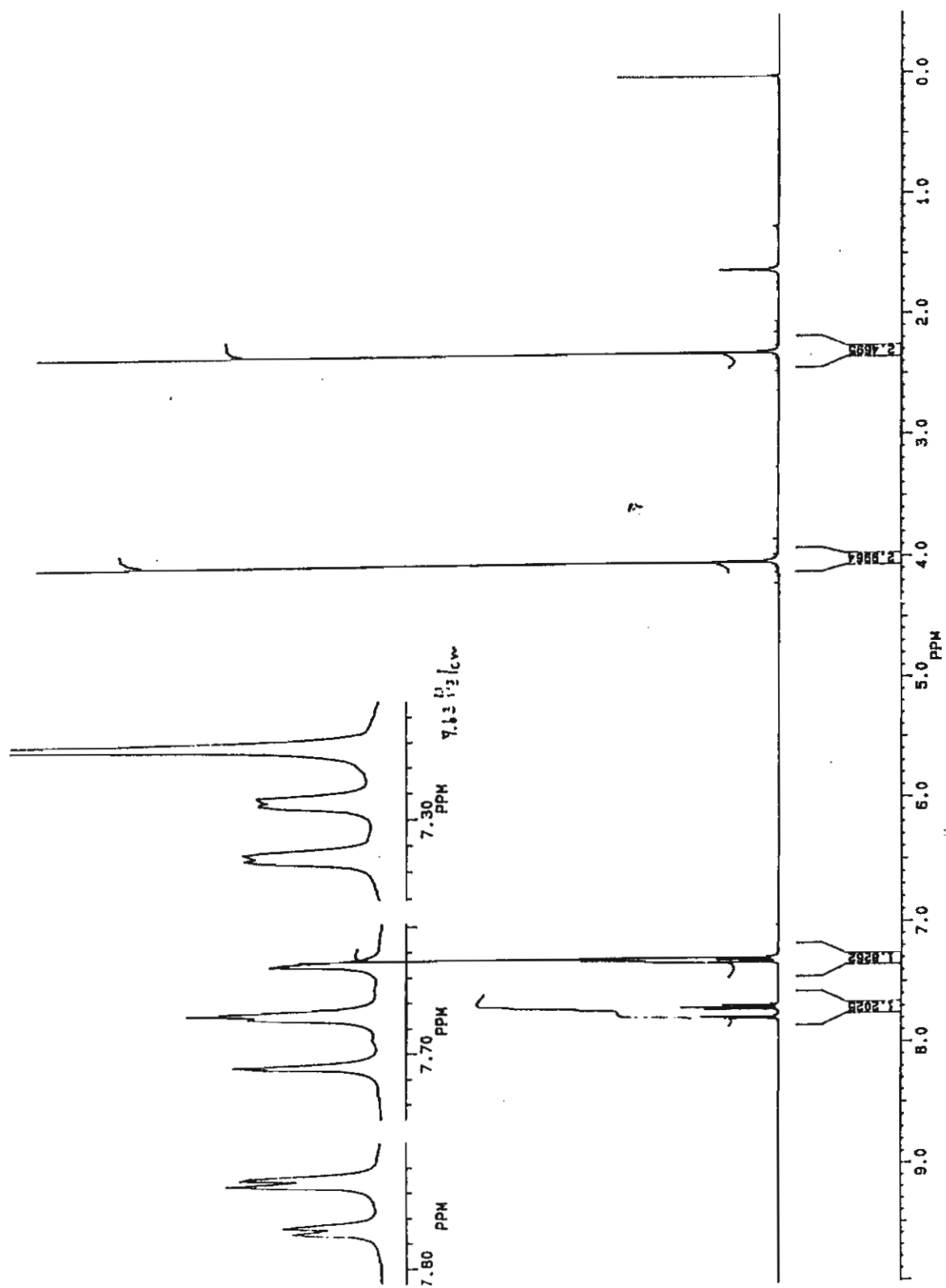


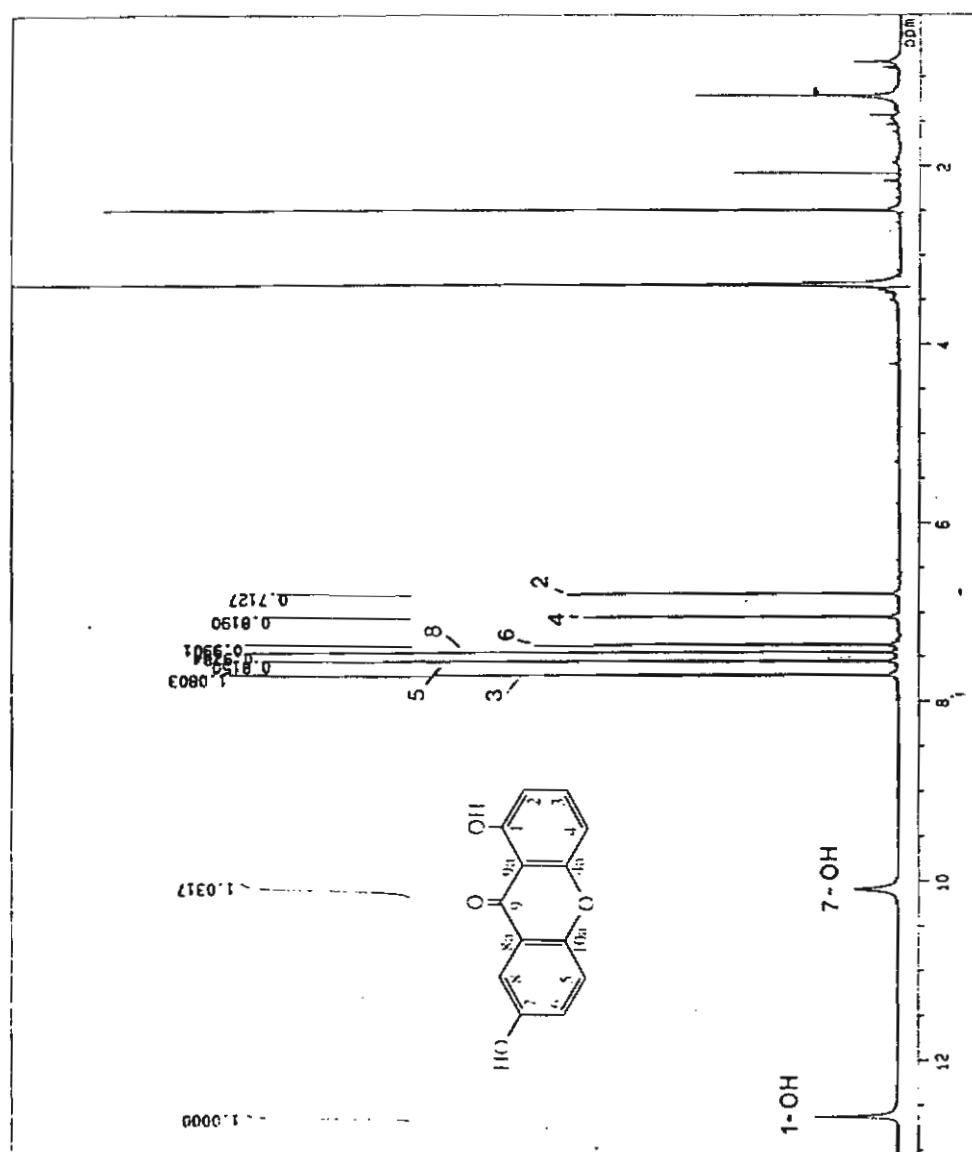
รูปที่ 9 ^1H NMR spectrum ของสาร 9

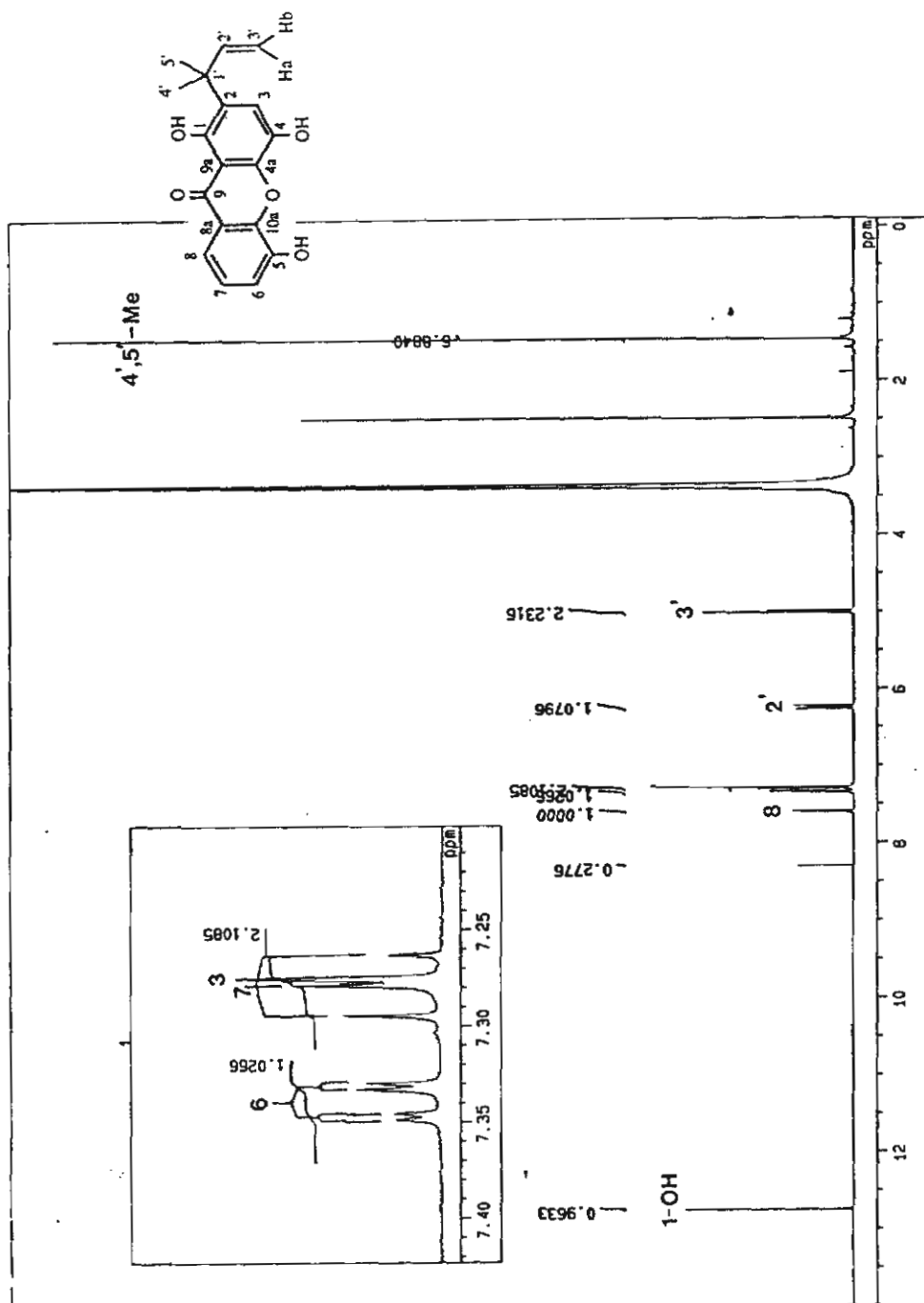
รูปที่ 10 ^1H NMR spectrum ของสาร 10



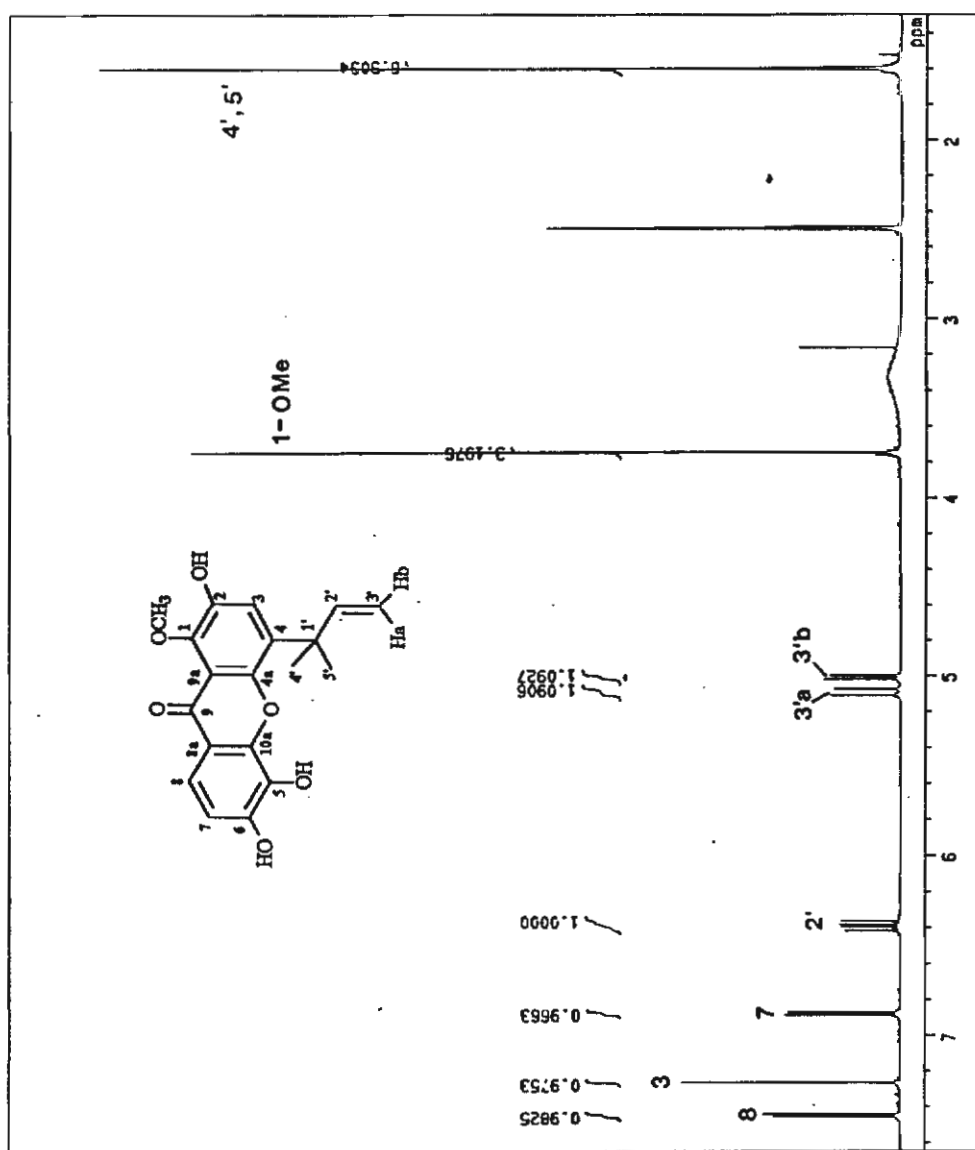
រូប 11 ^1H NMR spectrum បណ្តាញ 11

รูปที่ 12 ^1H NMR spectrum ของสาร 12

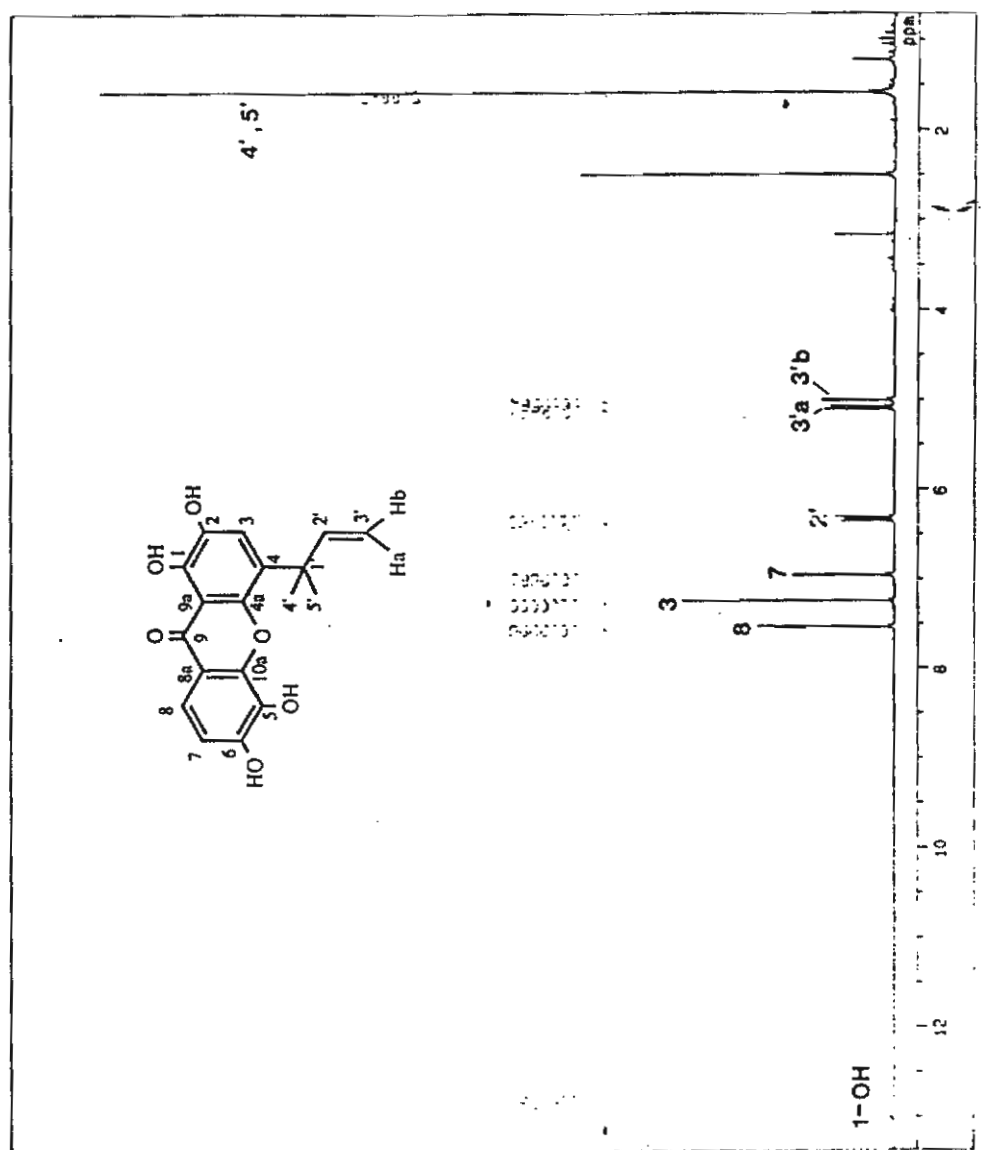
รูปที่ 13 ^1H NMR spectrum ของสาร 13



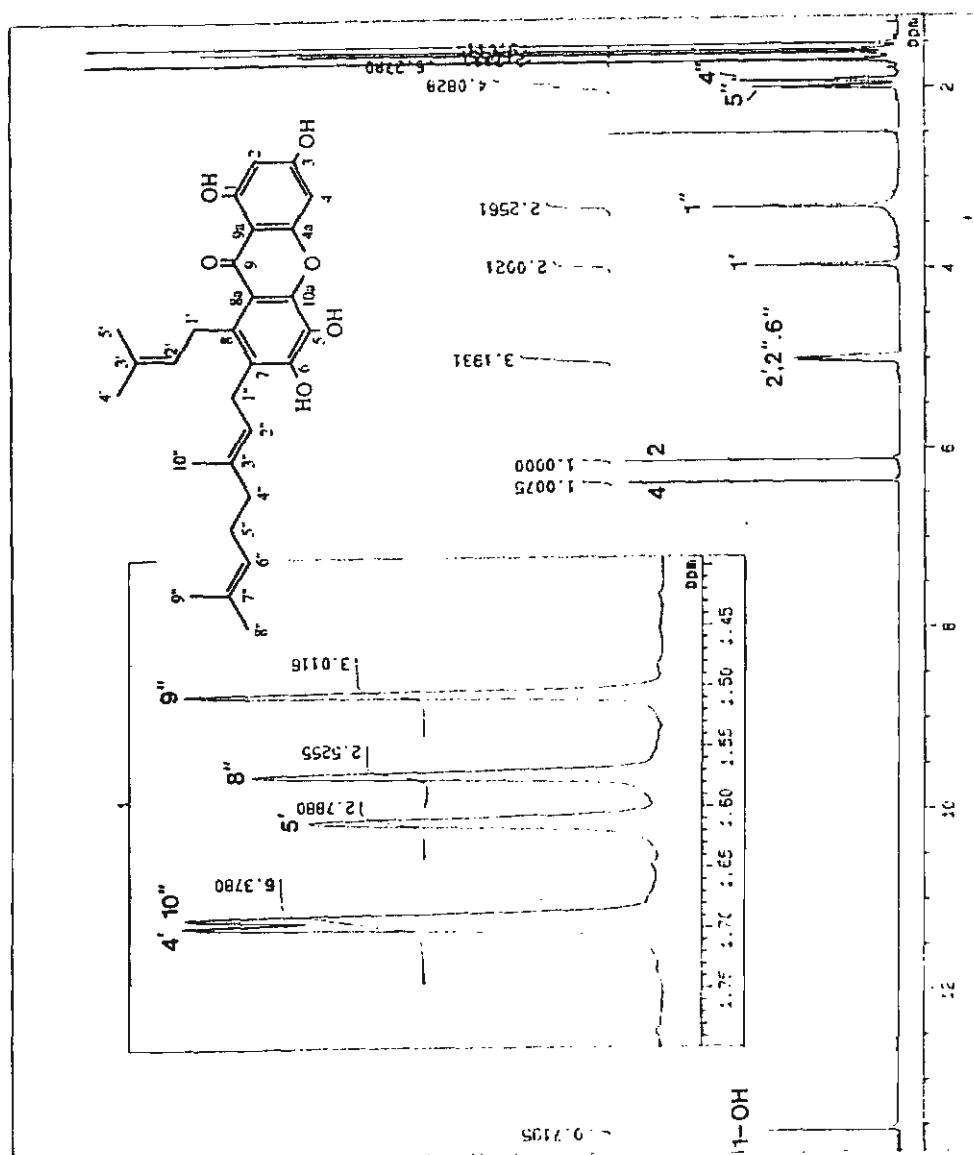
รูปที่ 14 ^1H NMR spectrum ของสาร 14



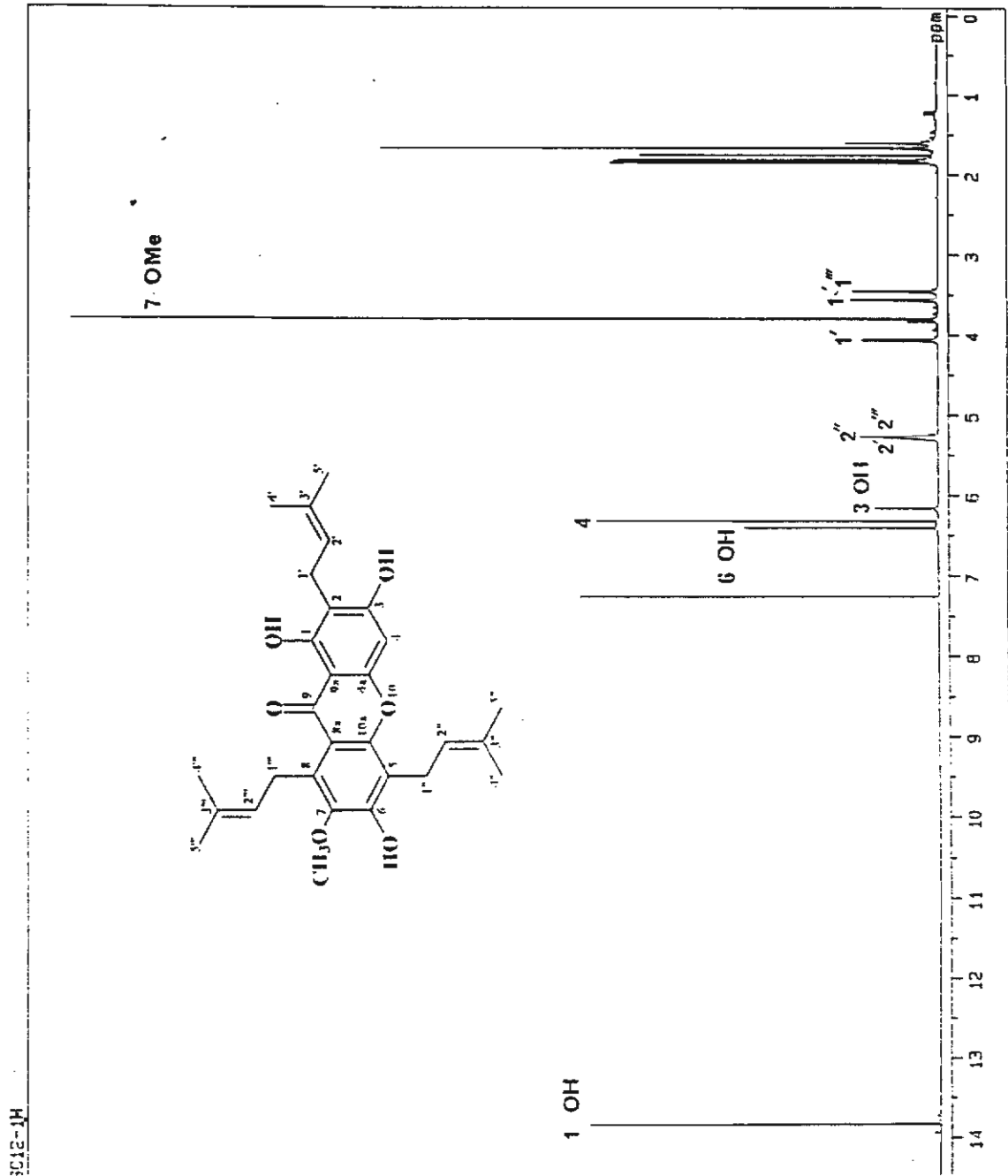
รูปที่ 15 ^1H NMR spectrum ของสาร 15



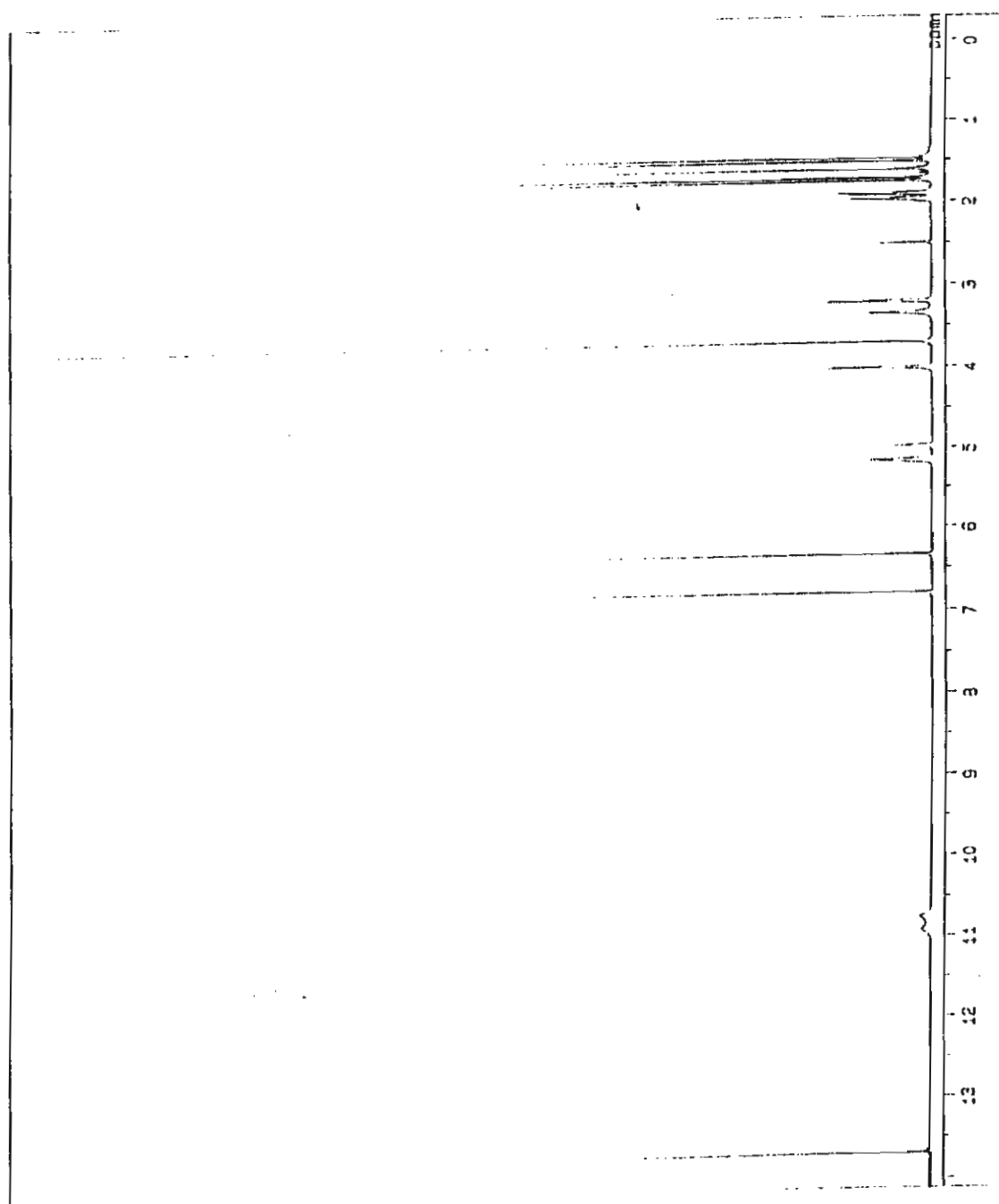
รูปที่ 16 ^1H NMR spectrum ของสาร 16



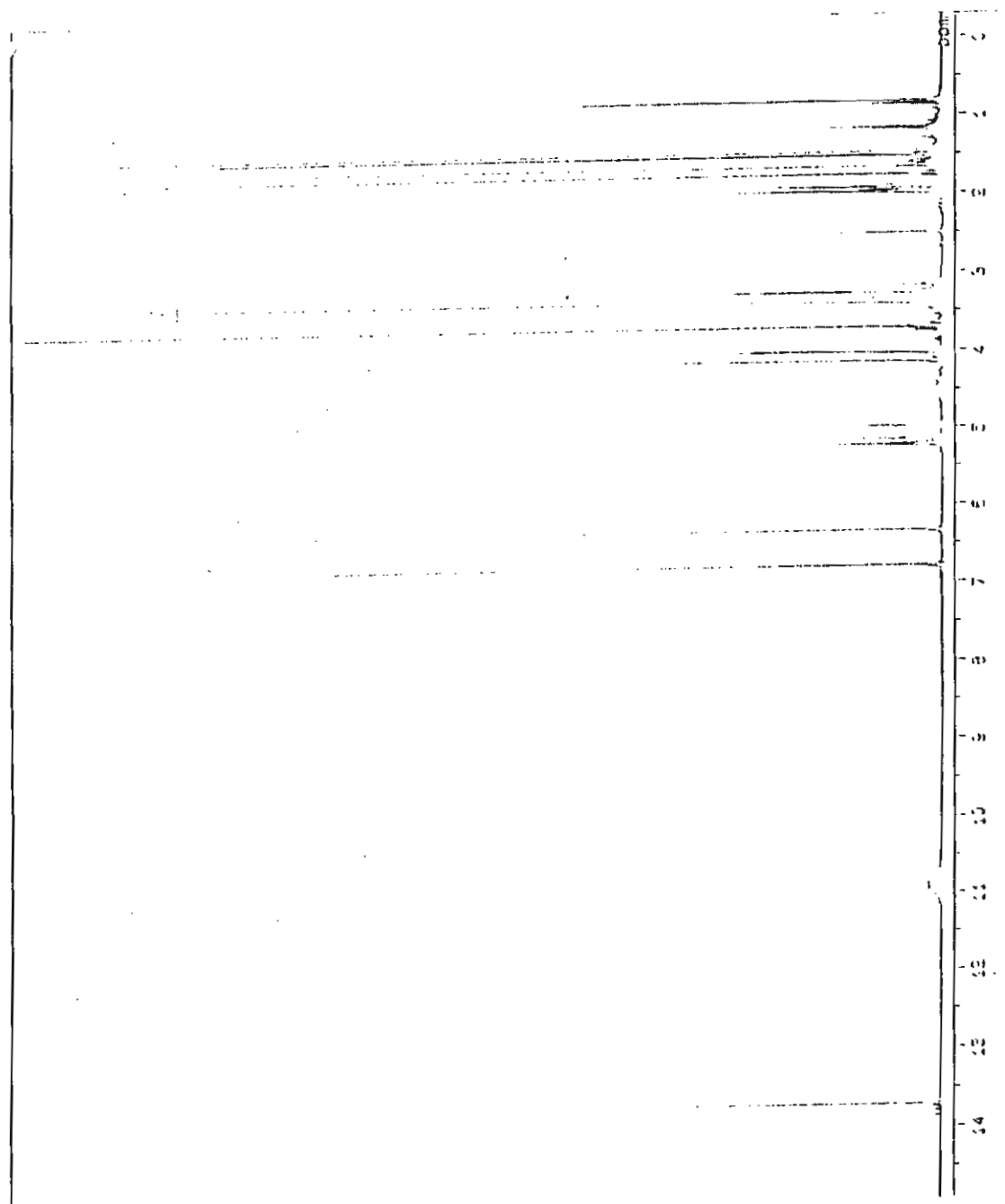
รูปที่ 17 ^1H NMR spectrum ของสาร 17



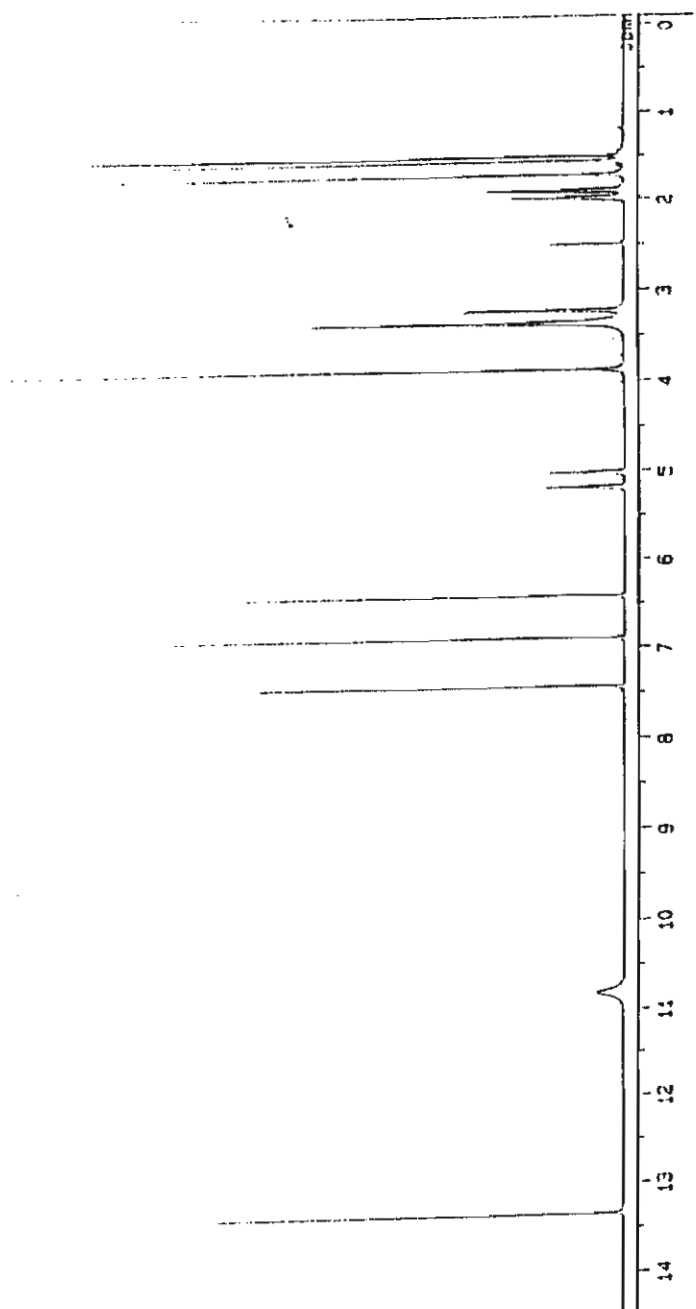
รูปที่ 18 ¹H NMR spectrum ของสาร 18



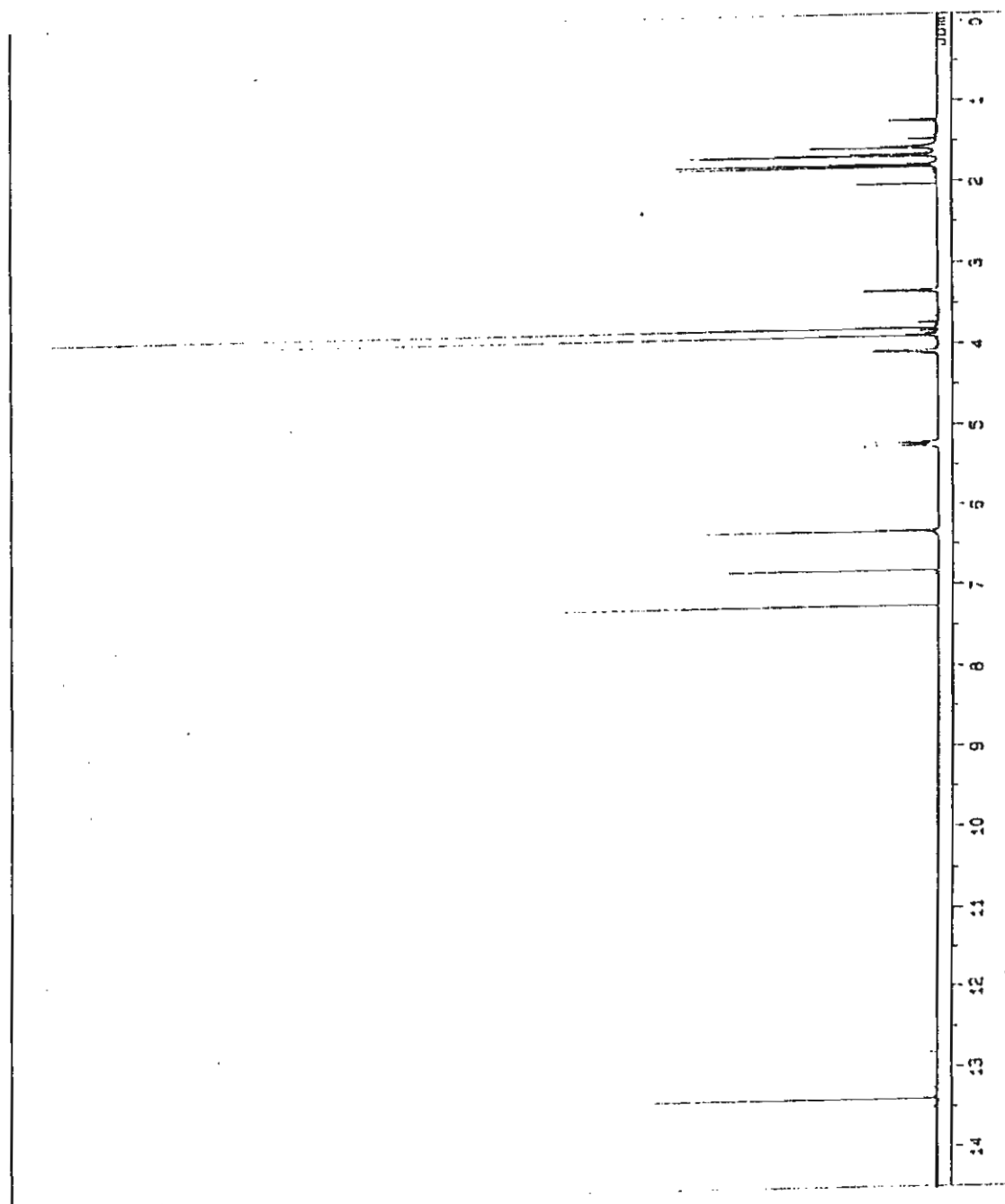
รูปที่ 19 ^1H NMR spectrum ของสาร 19



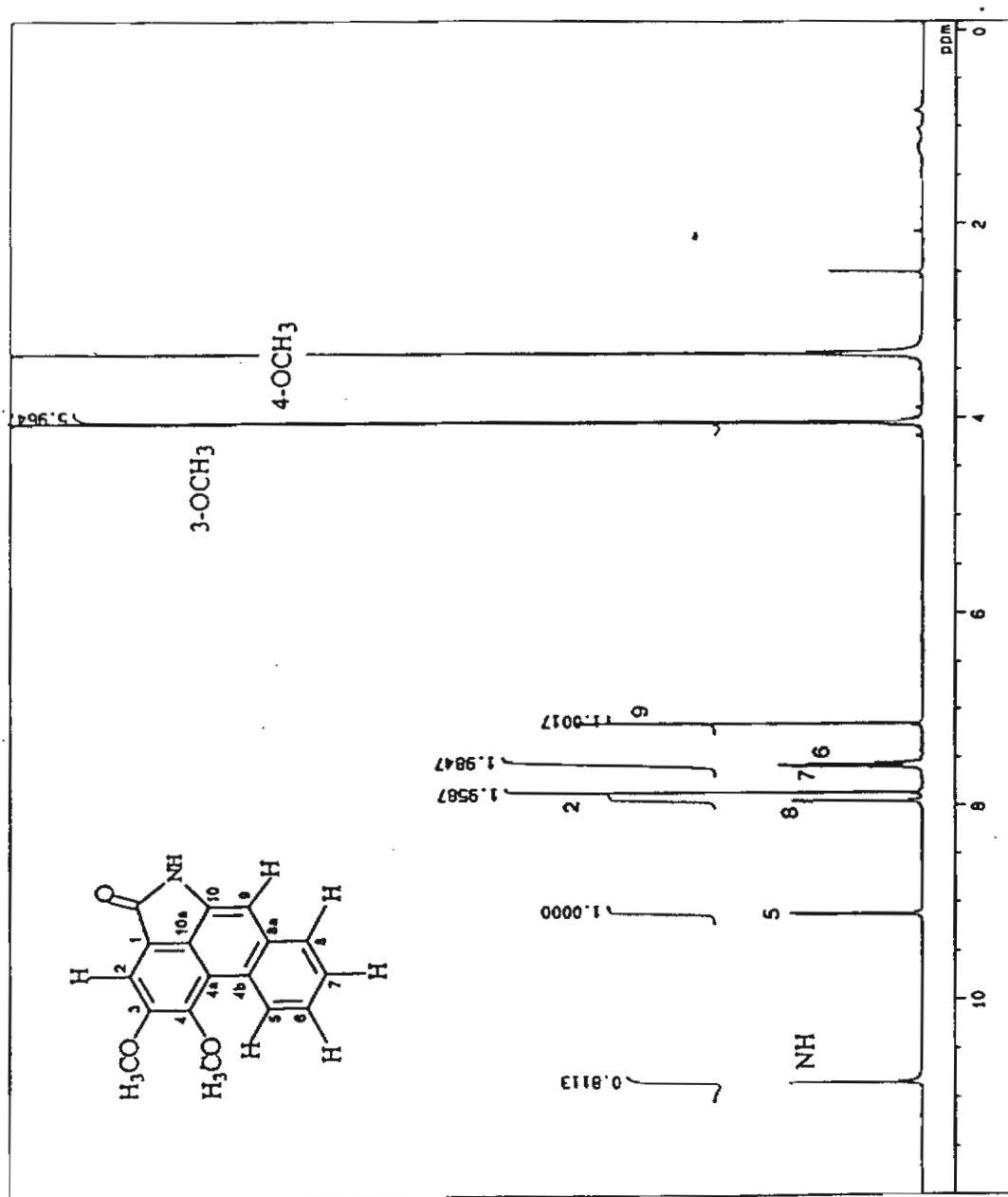
รูปที่ 20 ^1H NMR spectrum ของสาร 20

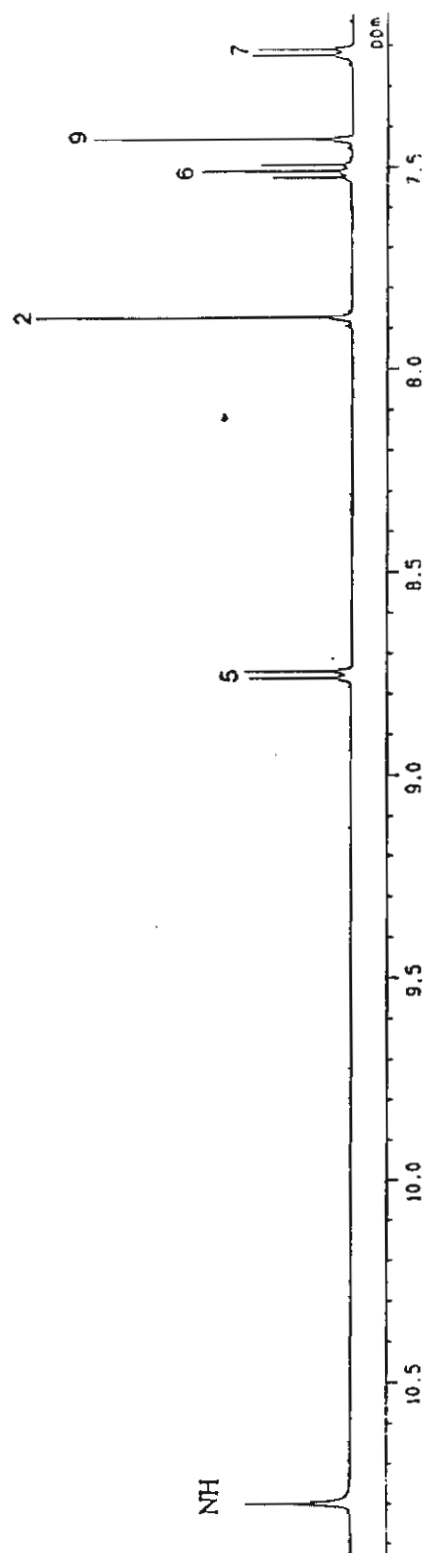
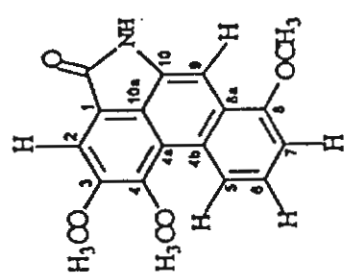


รูปที่ 21 ^1H NMR spectrum ของสาร 21

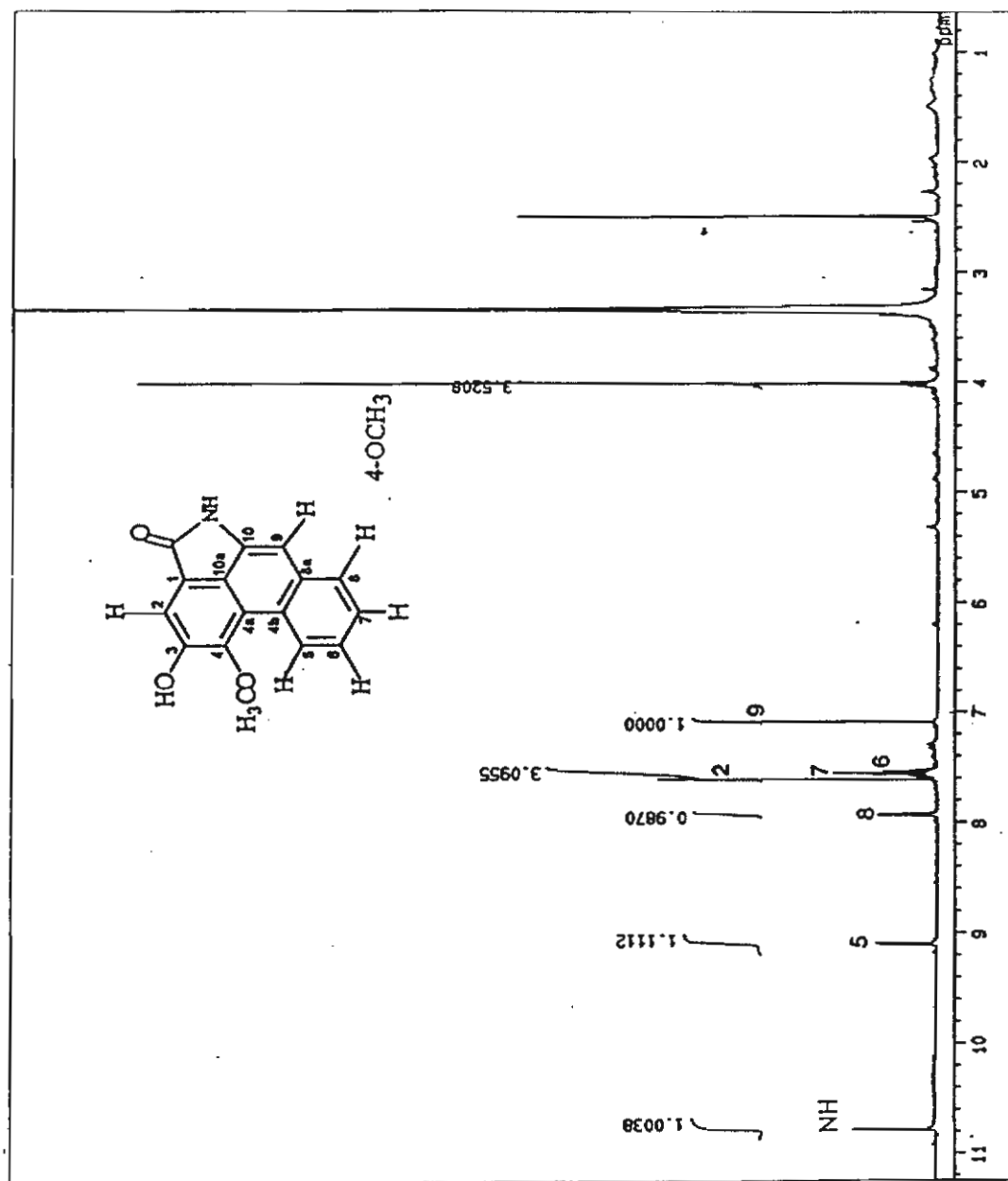


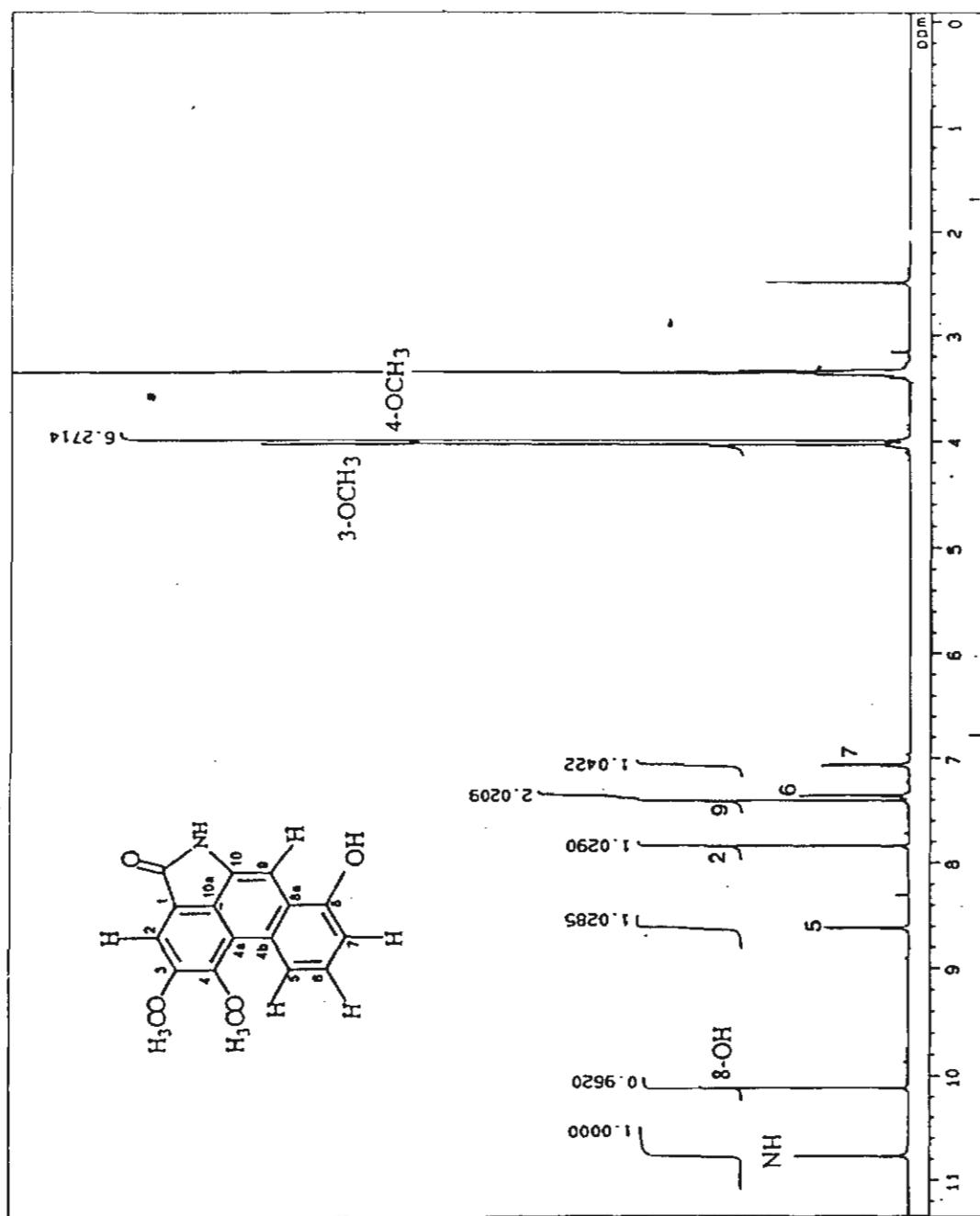
รูปที่ 22 ^1H NMR spectrum ของสาร 22

รูปที่ 23 ¹H NMR spectrum ของสาร 23

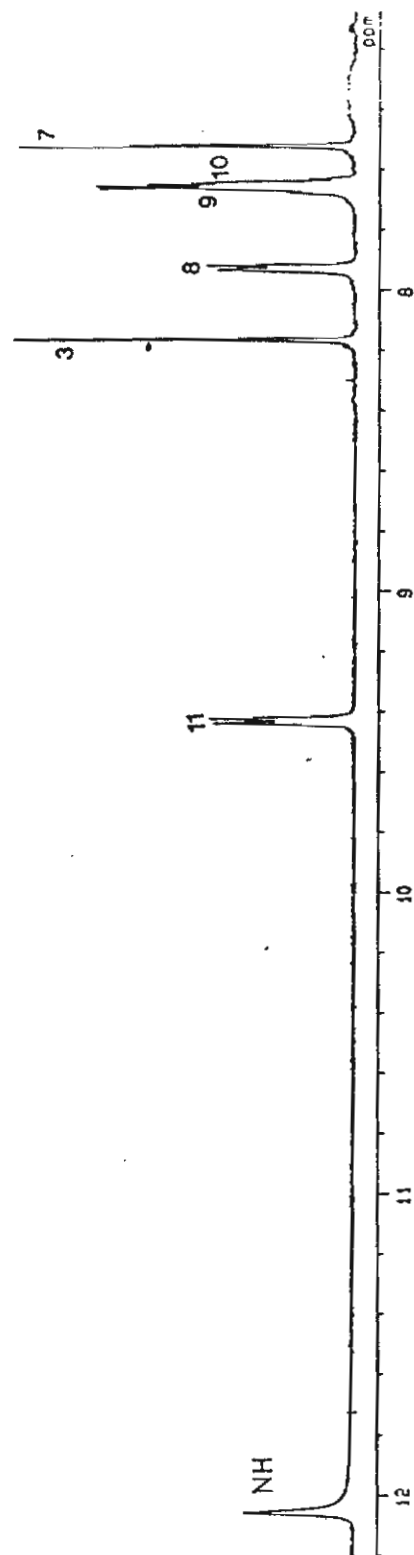
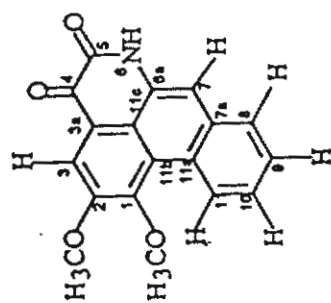


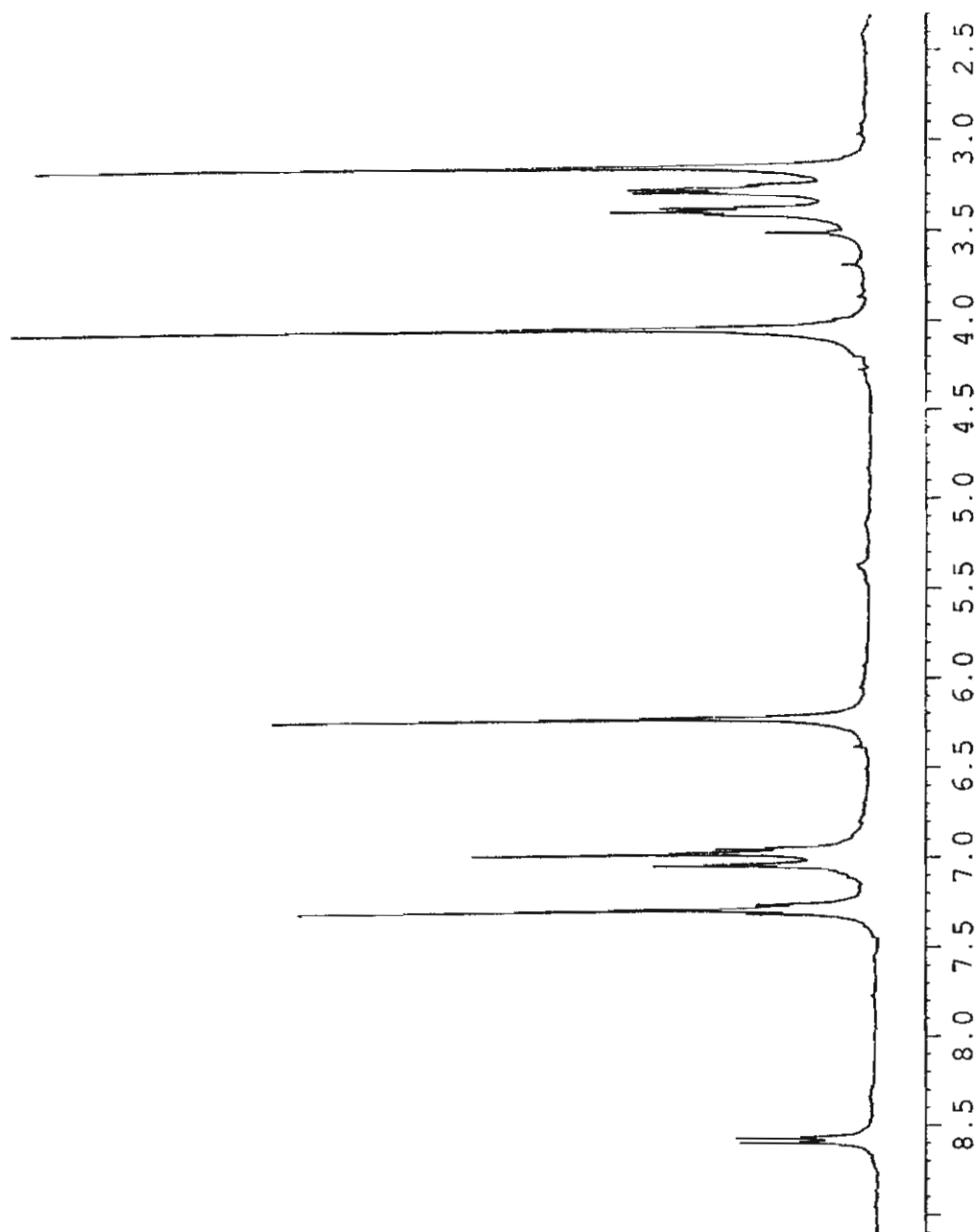
รูปที่ 24 ¹H NMR spectrum ของสาร 24

รูปที่ 25 ^1H NMR spectrum ของสาร 25

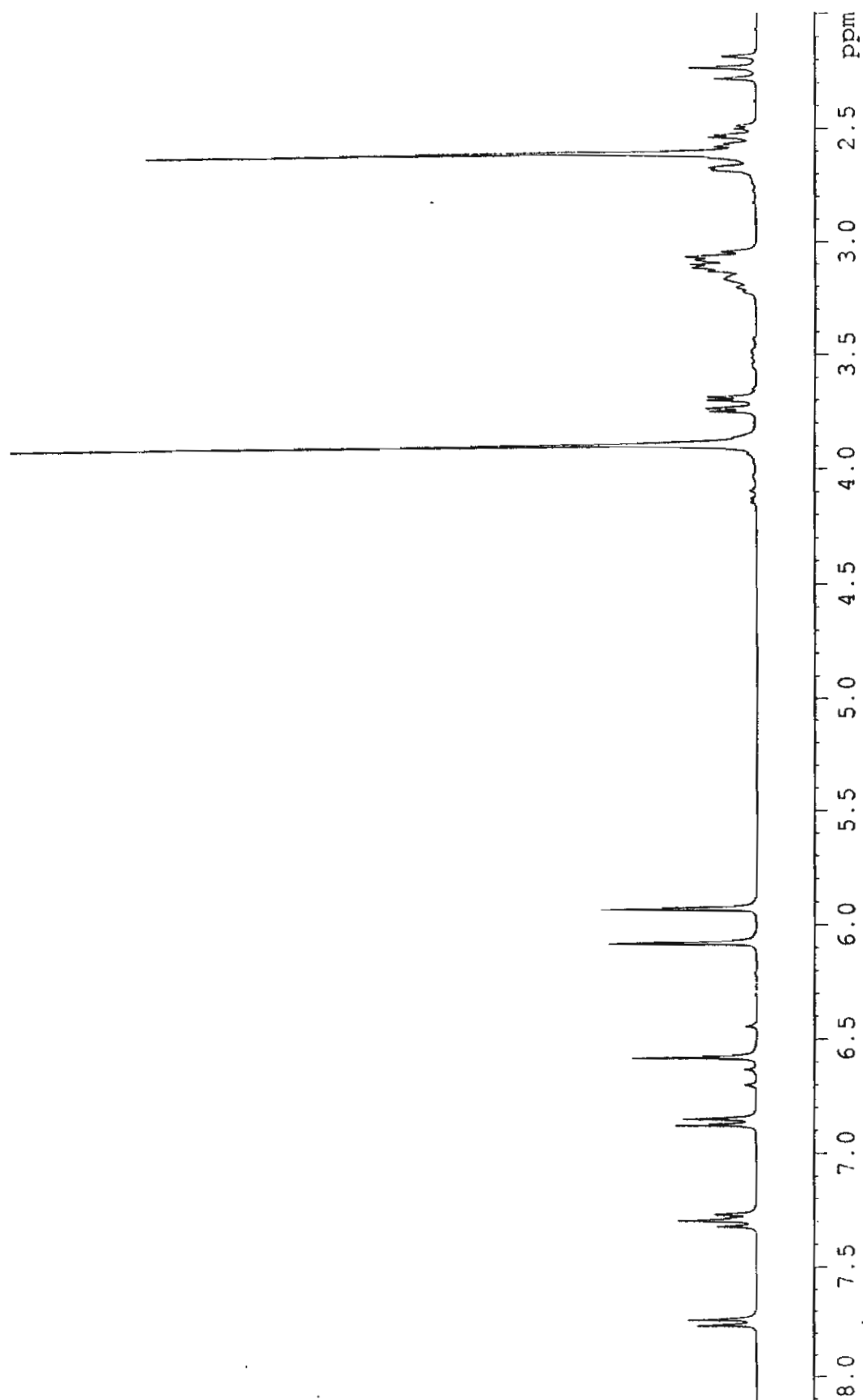


รูปที่ 26 ^1H NMR spectrum ของสาร 26

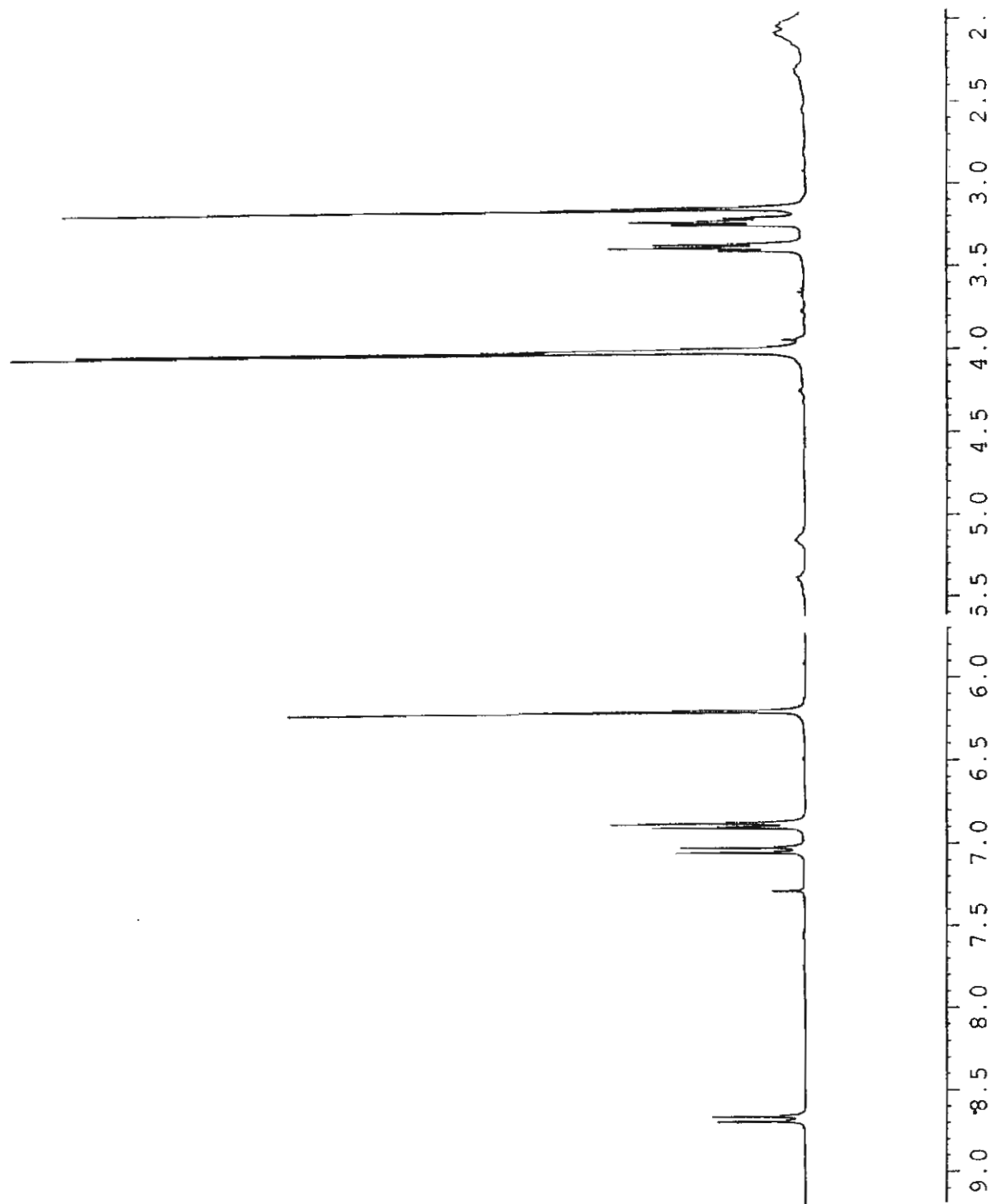




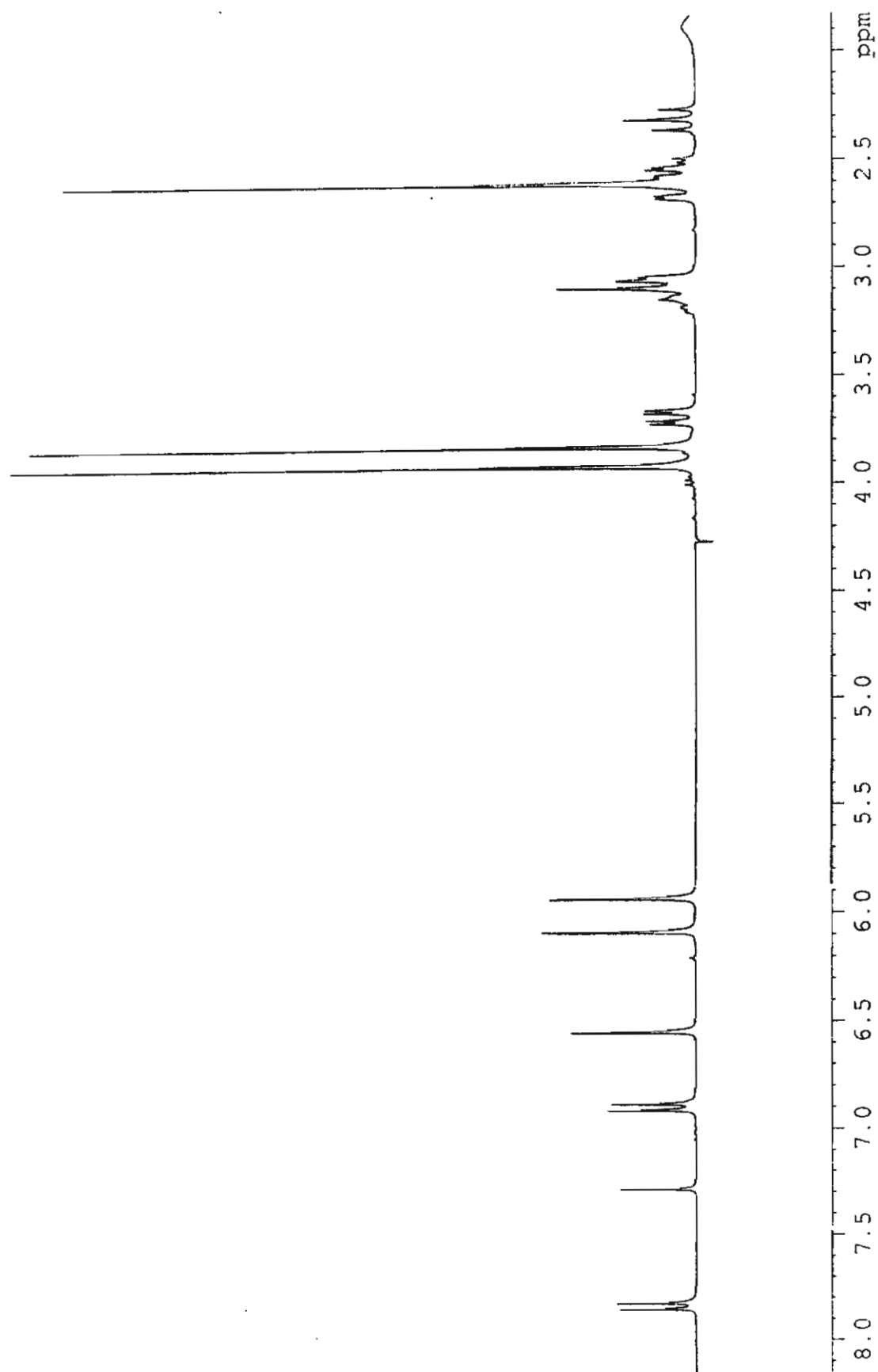
รูปที่ 28 ^1H NMR spectrum ของสาร 28



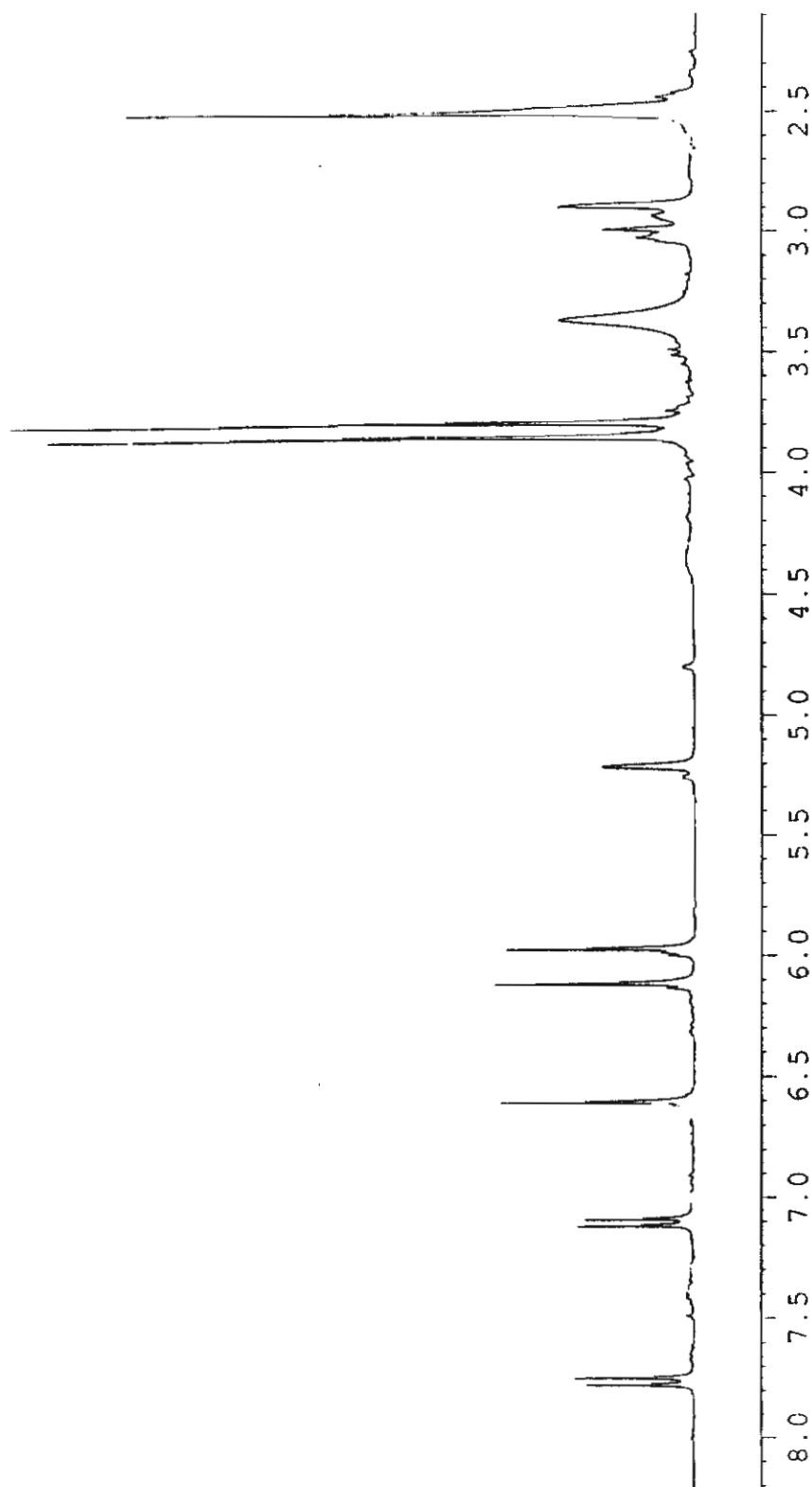
รูปที่ 29 ^1H NMR spectrum ของสาร 29



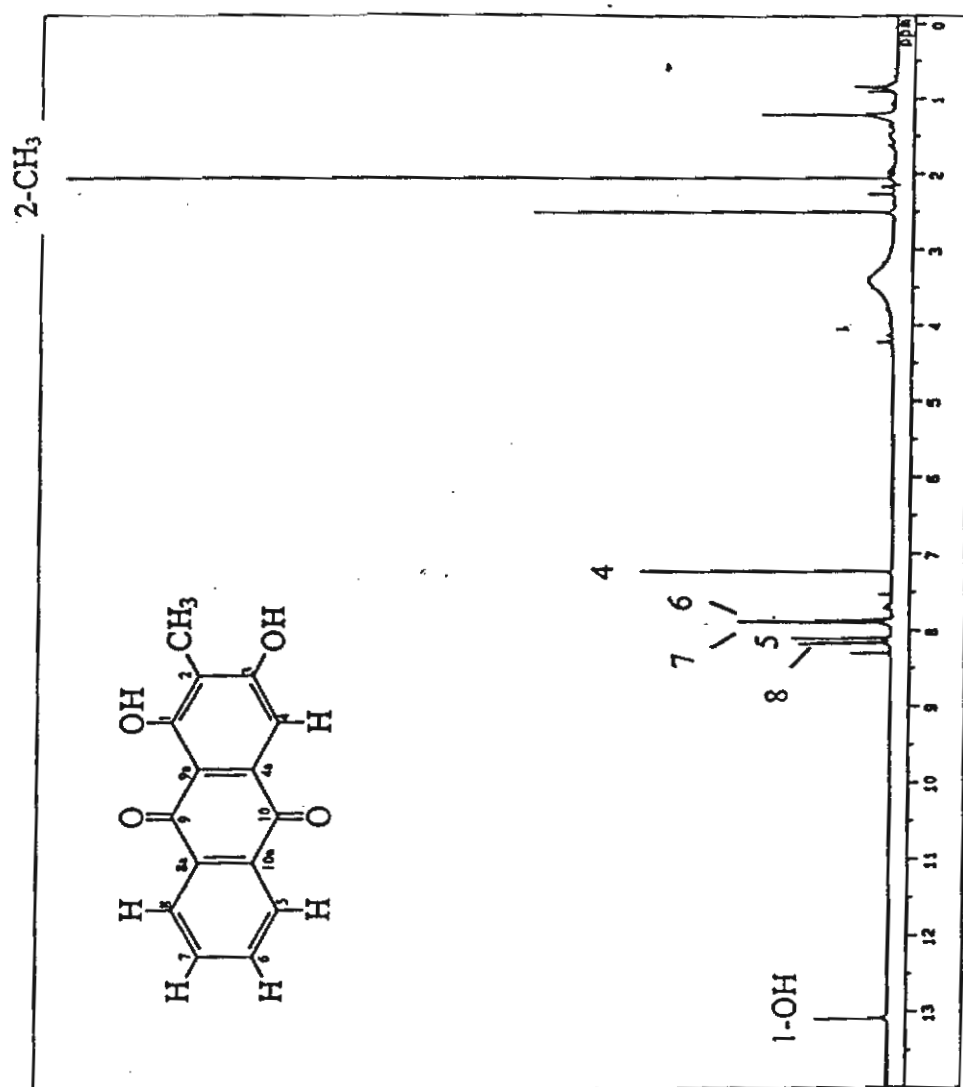
รูปที่ 30 ^1H NMR spectrum ของสาร 30



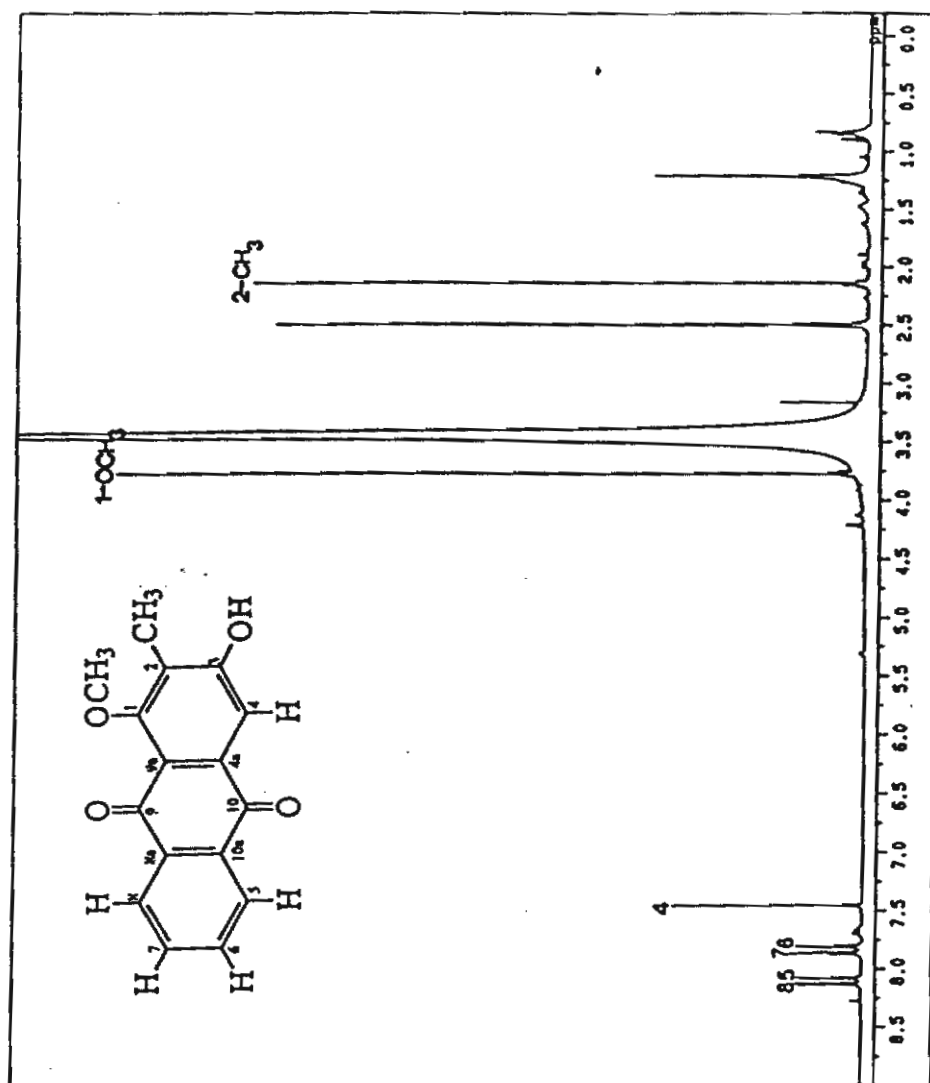
รูปที่ 31 ^1H NMR spectrum ของสาร 31



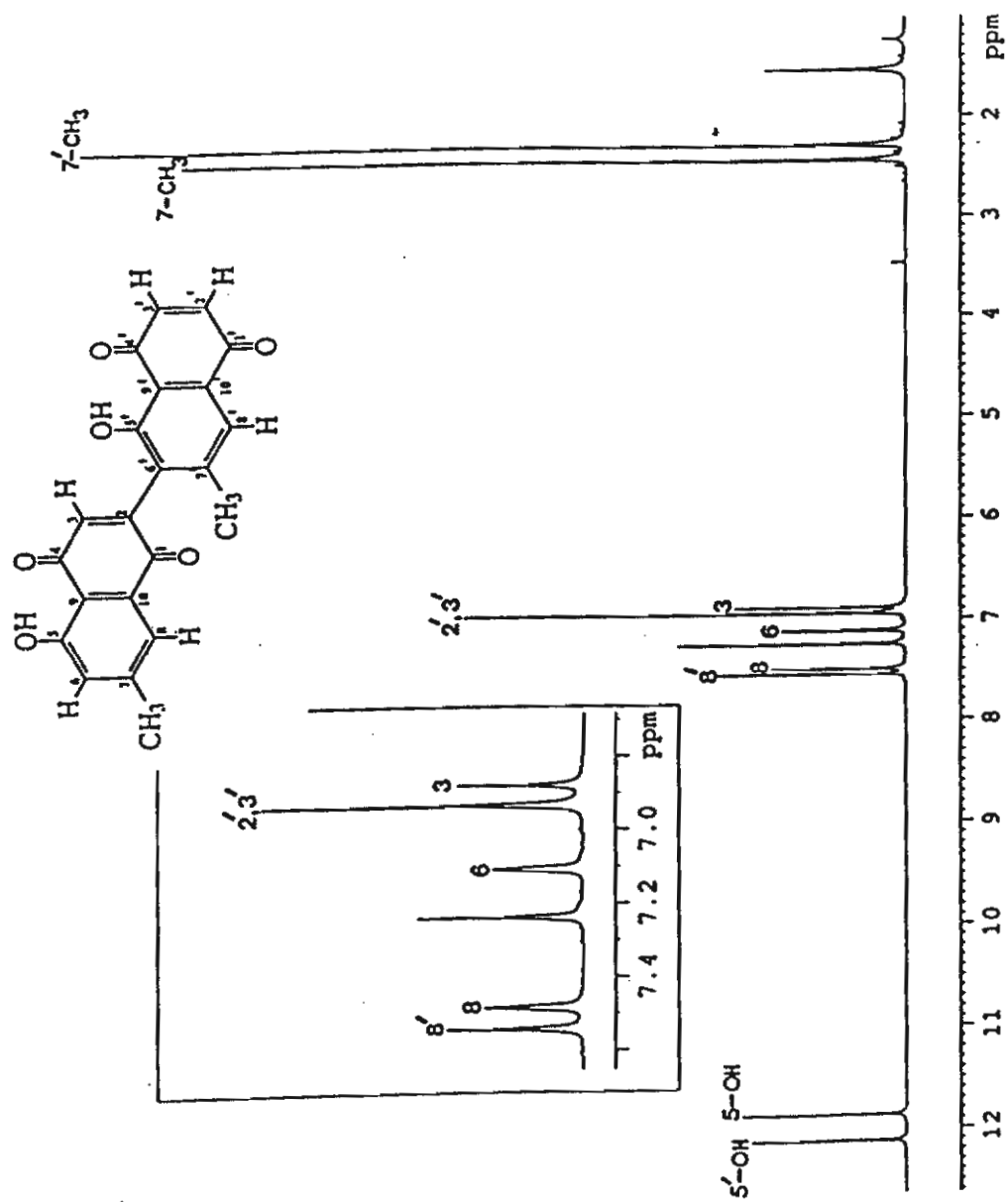
รูปที่ 32 ^1H NMR spectrum ของสาร 32



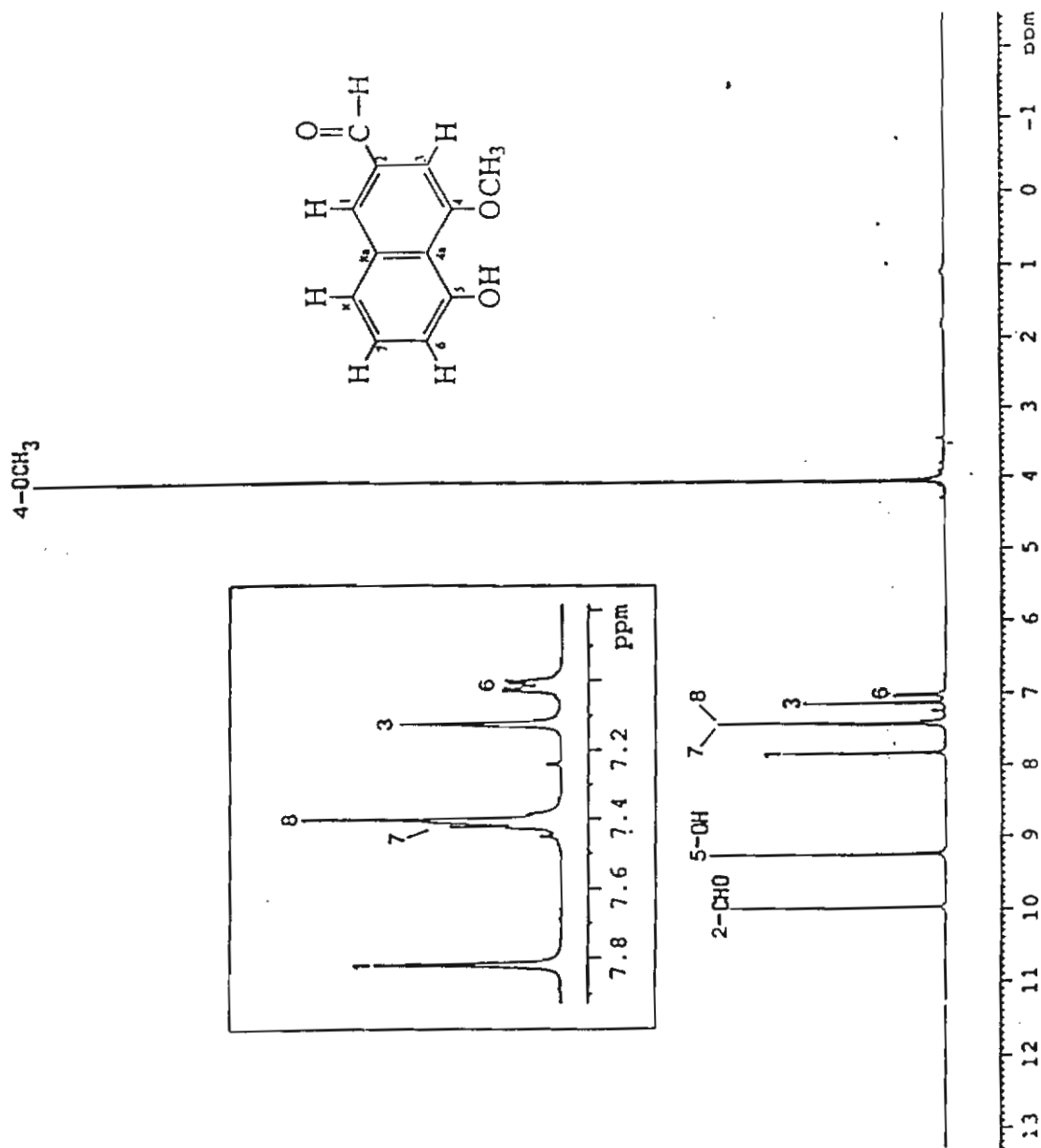
รูปที่ 33 ^1H NMR spectrum ของสาร 33



รูปที่ 34 ¹H NMR spectrum ของสาร 34



รูปที่ 35 ^1H NMR spectrum ของสาร 35



รูปที่ 36 ^1H NMR spectrum ของสาร 36