

## องค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งกรวยป่า

### Chemical Constituents from Branches of *Casearia grewiifolia* Vent.

สุชี สุขดี (Sukee Sukdee)\*

ดร.สมเดช กนกเมธากุล (Somdej Kanokmedhakul)\*\*

ดร.ขวัญใจ กนกเมธากุล (Kwanjai Kanokmedhakul)\*\*

#### บทคัดย่อ

จากการสกัดกิ่งกรวยป่า (*Casearia grewiifolia* Vent.) น้ำหนักแห้ง 7.0 กิโลกรัม ด้วย เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และ เมธานอล ได้ส่วนสกัดหยาบเฮกเซน 28.7 กรัม (0.41%) เอธิลอะซิเตท 56.3 กรัม (0.80%) และ เมธานอล 405.9 กรัม (5.80%) ตามลำดับ เมื่อแยกส่วนสกัดหยาบเฮกเซน ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีได้สาร 4 สาร และจากการพิสูจน์โครงสร้างโดยเทคนิคทาง สเปกโทรสโกปี (IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR และ 2D-NMR) พบว่าสาร **I** เป็น cinnamic acid derivative สาร **II** เป็น butanolide และสาร **III** และ **IV** เป็น clerodane diterpenes การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสาร **III** แสดงผลต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187 และ KB ที่ค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.32 และ 0.6 µg/mL ตามลำดับ

#### ABSTRACT

Air-dried branches of *Casearia grewiifolia* Vent. or “Gruay pa” (7.0 Kg) were ground and extracted successively with hexane, EtOAc and MeOH to yield crude hexane 28.7g (0.41%), EtOAc 56.3g (0.80%) and MeOH extracts 405.9 g (5.80%), respectively. The chromatographic separation of the hexane extract yielded 4 compounds. Their structures were determined based on the spectroscopic methods (IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and 2D-NMR). Compound **I** was cinnamic acid derivative. Compound **II** was butanolide and compounds **III** and **IV** were clerodane diterpenes. The bioactivity assays found that compound **III** exhibited cytotoxicity against NCI-H187 and KB cancer cell lines with IC<sub>50</sub> values of 0.32 and 0.6 µg/mL, respectively.

คำสำคัญ : กรวยป่า

Key Words: *Casearia grewiifolia*, clerodane diterpene, butanolide, cinnamic acid derivative

\* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*\* รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าเรื่องของสุขภาพอนามัย และการเจ็บป่วยด้วยโรคต่างๆ เป็นปัญหาที่ต้องแก้ไขเพื่อความดีอยู่ดีของประชาชน แต่ปัจจุบันมีหลายโรคที่ยังต้องการยาใหม่ๆ ในการรักษา เนื่องจากการเกิดผลข้างเคียงในการใช้ยา รวมทั้งการดื้อยา เช่น มาลาเรีย วัณโรค และ มะเร็ง เป็นต้น ซึ่งโรคต่างๆ เหล่านี้ เป็นปัญหาทางสาธารณสุขทั้งในระดับประเทศและระดับโลกจึงจำเป็นต้องมีการค้นคว้าวิจัย เพื่อค้นหาตัวยาใหม่ๆ มาใช้ในการรักษา

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของ เปลือกต้นกรวยป่า ที่เก็บจากบริเวณสวนร่มเกล้า ภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่นพบว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (*P. falciparum*) เชื้อวัณโรค (*M. tuberculosis*) และ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ประกอบด้วย oral human epidermoid carcinoma (KB), breast cancer (BC) และ human small cell lung cancer (NCI-H187) ดังแสดงในตารางที่ 1 ส่วนสกัดของผลกรวยป่าแสดงฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค และเซลล์มะเร็ง ดังแสดงในตารางที่ 2 และผลการทดสอบฤทธิ์ของส่วนสกัดของกิ่งกรวยป่า พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย เช่นเดียวกับเปลือกแสดงดังในตารางที่ 3 สำหรับงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์จากส่วนสกัดหยาบ hexane ของกิ่งกรวยป่า เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

## ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกกรวยป่า

ส่วนสกัดหยาบ	Anti malarial IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Anti TB MIC (µg/mL)	Cytotoxicity, IC <sub>50</sub> (µg/mL)		
			KB <sup>a</sup>	BC1 <sup>b</sup>	NCI-H187 <sup>c</sup>
Hexane	0.8	25	9.15	4.66	1.60
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1.0	25	9.07	4.41	3.13
MeOH	11	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive

<sup>a</sup>oral human epidermoid carcinoma, <sup>b</sup>breast cancer, <sup>c</sup>human small lung cancer

## ตารางที่ 2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบจากผลกรวยป่า

ส่วนสกัดหยาบ	Anti TB MIC(µg/mL)	Cytotoxicity, IC <sub>50</sub> (µg/mL)		
		KB <sup>a</sup>	BC1 <sup>b</sup>	NCI-H187 <sup>c</sup>
Hexane	6.25	1.03	1.38	0.55
EtOAc	12.50	1.05	1.30	0.15

<sup>a</sup>oral human epidermoid carcinoma, <sup>b</sup>breast cancer, <sup>c</sup>human small lung cancer

## ตารางที่ 3 ฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งกรวยป่า

ส่วนสกัดหยาบ	Antimalarial IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Hexane	3.25
EtOAc	2.91
MeOH	Inactive

## ลักษณะทางสัณฐานวิทยา<sup>1</sup>

กรวยป่ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Casearia grewiiifolia* Vent. อยู่ในวงศ์ Flacourtiaceae มีชื่อเรียกต่างๆ กัน เช่น ก้วย ขุนเหียง คอเลน ตวย ตวยใหญ่ ตานเสี้ยน บุนเหียง และผ่าสาม กรวยป่ามีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นสูง 7-10 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลปนเทา ผิวเรียบ ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงแบบสลับ รูปขอบขนาน ยาว 8-10 ซม. กว้าง 3-6 ซม. ปลายใบแหลมหรือมน ฐานใบสอบ ขอบใบหยักเป็นคลื่นมนๆ ผิวใบด้านล่างมีขนนุ่ม ช่อดอกออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ กลีบรวม มี 4-5 กลีบ สีขาว หรือสีเขียวแกมเหลือง ขนาดไม่เท่ากันเกสรเพศผู้มี 8 อัน ผลรูปรี เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5-3 ซม. ผลแก่แตกออกเป็น 3 พู ผิวเป็นมัน สีเหลือง เมล็ดมีเยื่อสีส้มแดง ช่วงการมีดอกเดือนมีนาคมถึง พฤษภาคม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกรวยป่าแสดงดังภาพที่ 1

กรวยป่ามีสรรพคุณทางยาดังนี้

ราก แก้ท้องร่วง แก้ตับพิการ บำรุงตับ บำรุงธาตุ

แก้ริดสีดวงต่างๆ แก้บิดมูกเลือด

เปลือกต้น แก้พิษกาฬ พิษไข้ตัวร้อน

ผล แก่บิดปวดบ่ง แก่เสมหะเป็นพิษ แก่ลงท้อง  
กัดเสมหะ แก่น้ำลายเหนียว ฟอกโลหิต แก่เลือดออกตาม  
ไรฟัน

เมล็ด แก่ริดสีดวงทวาร แก่พยาธิผิวหนัง แก่  
ริดสีดวงจมูก รักษาโรคผิวหนัง ใช้เบื่อปลา



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกรวยป่า (*Casearia Grewia* Vent.)

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1.1 สกัดกิ่งกรวยป่าด้วย hexane, EtOAc และ MeOH

1.2 แยกส่วนสกัดหยาบด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี และการตกผลึก

1.3 พิสูจน์โครงสร้างของสารที่แยกได้ ด้วยวิธีทาง สเปกโทรสโกปี ได้แก่ IR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR และ 2D-NMR

1.4 ส่งสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่ ศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพ แห่งชาติ (BIOTECH)

1.5 วิเคราะห์และสรุปผลจากข้อมูลที่ได้

#### 2. สารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

##### สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1) Hexane 2) Dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 3) Ethyl acetate (EtOAc) 4) Acetone 5) Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) 6) Methanol (MeOH) 7) Silica gel สำหรับ column chromatography และ preparative layer chromatography

8) TLC Aluminium sheets  $\text{SiO}_2$  20x20 cm (Silica gel 60 F254)

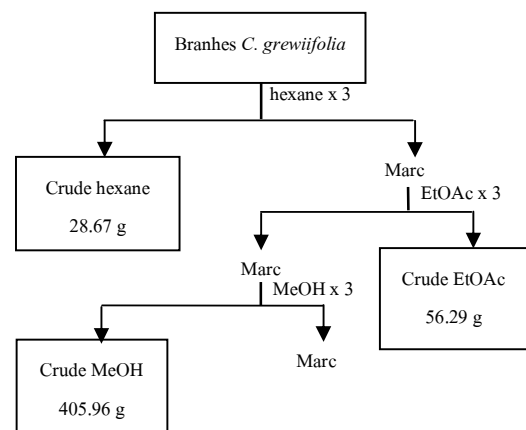
### เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1) NMR Varian Mercury Plus 400 Spectrometer 2) Perkin Elmer Spectrum One FTIR Spectrometer 3) Rotary Evaporator 4) UV lamp  $\lambda_{254}$  และ  $\lambda_{366}$  5) SANYO MPU 350 BM3.5 melting point apparatus 6) Hot plate 7) Magnetic stirrer 8) อุปกรณ์ เครื่องแก้ว

## ผลงานวิจัย

### การสกัด

สกัดกิ่งกรวยป่า น้ำหนักแห้ง 7.0 กิโลกรัม ด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ hexane, EtOAc และ MeOH ตามลำดับ ระเหยตัวทำละลายออกจะมีส่วนสกัดหยาบ hexane น้ำหนัก 28.67 กรัม (0.41%) EtOAc น้ำหนัก 56.29 กรัม (0.80%) และ MeOH น้ำหนัก 405.96 กรัม (5.80%) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การสกัดสารจากกิ่งกรวยป่า

### การแยกสารให้บริสุทธิ์

นำส่วนสกัดหยาบ hexane น้ำหนัก 28.67 กรัม มาแยก ด้วย Flash Column Chromatography (FCC) โดยใช้ซิลิกาเจล เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลาย จากความมีขั้วต่ำไปหาความมีขั้วสูง โดยเริ่มจาก hexane,

hexane:EtOAc, EtOAc:MeOH และ MeOH ตามลำดับ เก็บ fraction ละ 100 mL ได้ 48 fractions รวม fractions ที่เหมือนกันตามลักษณะ TLC ได้ 11 กลุ่ม (HF1-HF11) ดังแสดงในตารางที่ 4

**ตารางที่ 4** การแยกส่วนสกัดหยาบ hexane ของกิ่งกรวยป่า ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ตัวชะ	Fraction (F)	น้ำหนัก (กรัม)	ลักษณะสาร
Hexane	1	4.1661	ของเหลวหนืด สีแดง มีตะกอน
10% EtOAc:hexane	2	9.8507	ของเหลวหนืด สีเหลืองมีตะกอน
20% EtOAc:hexane	3	0.3806	ของเหลวหนืด สีเขียวเข้ม
40% EtOAc:hexane	4	7.3077	ของเหลวหนืด สีเหลือง
50% EtOAc:hexane	5	3.0277	ของเหลวหนืด สีเหลือง
60% EtOAc:hexane	6	1.0539	ของเหลวหนืด สีเหลือง
70% EtOAc:hexane	7	1.5092	ของเหลวหนืด สีน้ำตาล
80% EtOAc:hexane	8	0.3950	ของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม
EtOAc	9	0.1740	ของเหลวหนืด สีน้ำตาล
50% MeOH:EtOAc	10	0.4551	ของเหลวหนืด สีน้ำตาล
MeOH	11	0.1977	ของเหลวหนืด สีน้ำตาล

Fraction HF2 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเหลือง มีตะกอนสีขาว ทำการล้างตะกอนด้วย MeOH แล้วตกผลึกใหม่ด้วยระบบ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH ได้สาร I มีลักษณะเป็นผลึกขาวมี ค่า  $R_f = 0.44$  (5% EtOAc: hexane) มีน้ำหนัก 6.4 มิลลิกรัม

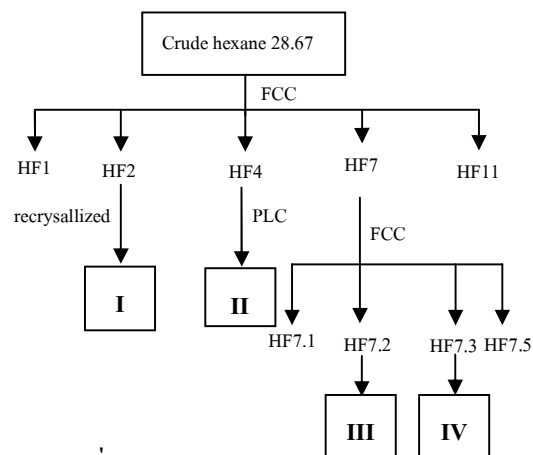
Fraction HF4 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเหลือง แยกด้วย FCC สะคอลลัมน์ด้วยการเพิ่มขั้วของตัว

ชะจาก hexane ไปจนถึง EtOAc เก็บ fraction ละ 100 mL รวม fraction ที่คล้ายกันตาม TLC ได้ทั้งหมด 6 fractions (HF4.1-HF4.6) หลังจากนั้นแบ่ง fraction HF4.4 มา น้ำหนัก 0.2727 กรัม แยกต่อด้วย Preparative Layer Chromatography (PLC) โดยใช้ตัวชะเป็น 5%EtOAc:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ได้สาร II มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ค่า  $R_f = 0.36$  (5% EtOAc: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) มีน้ำหนัก 35.8 มิลลิกรัม

Fraction HF7 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาล แยกด้วย FCC สะคอลลัมน์ด้วยการเพิ่มความขั้วของตัวชะจาก 30% EtOAc:hexane ไปจนถึง EtOAc เก็บ fraction ละ 100 mL รวม fraction ที่เหมือนกันตาม TLC ได้ทั้งหมด 5 fractions (HF7.1-HF7.5) หลังจากนั้นแบ่ง fraction HF7.2 มา 0.3725 กรัม แยกต่อด้วย PLC ด้วยตัวชะ 10% EtOAc: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x6) ได้สาร III มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน ค่า  $R_f = 0.33$  (10% EtOAc: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) มีน้ำหนัก 4.7 มิลลิกรัม

Fraction HF7.3 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเหลือง น้ำหนัก 0.1179 กรัม แยกด้วย PLC ด้วยตัวชะ 10% EtOAc: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x3) ได้สาร IV มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน ค่า  $R_f = 0.64$  (3% MeOH: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) มีน้ำหนัก 7.1 มิลลิกรัม

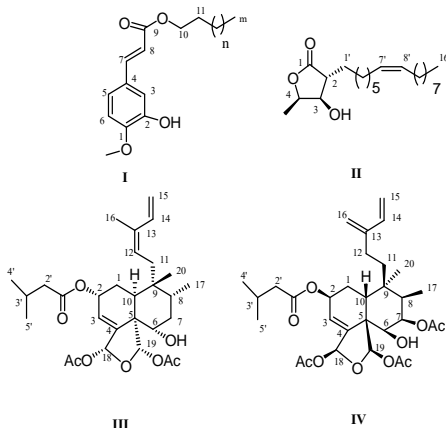
แผนผังการแยกส่วนสกัดหยาบ hexane แสดงดังภาพที่ 3



**ภาพที่ 3** การแยกส่วนสกัดหยาบ hexane

### การพิสูจน์โครงสร้าง

จากการพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แยกได้ด้วยเทคนิคเปกโทรสโกปี ได้แก่ IR,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra รวมถึงเทคนิค 2D-NMR (COSY, และ HMBC) สรุปได้ว่าสาร **I** เป็นสาร cinnamic acid derivative<sup>2</sup> สาร **II** เป็นสาร butanolide<sup>3</sup> สาร **III** และ **IV** เป็นสารกลุ่ม clerodane diterpenes<sup>4,5</sup> ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 โครงสร้างของสารที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบ hexane

#### สัญญาณ IR ของสาร I

สัญญาณที่ความยาวคลื่น  $3434\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี (-OH) ที่ความยาวคลื่น  $2918\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของ C-H ที่ความยาวคลื่นที่  $1719\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของคาร์บอนิลของหมู่เอสเทอร์ (-O-C=O) ที่ความยาวคลื่น  $1600$  และ  $1515\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของ C-H ที่เป็นเอกลักษณ์ของอะโรมาติกโปรตอน ที่ความยาวคลื่น  $1466\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบงอของ  $\text{CH}_2$  และ ที่ความยาวคลื่น  $1162$  และ  $1030\text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นแบบยืดของ C-O

#### สัญญาณ $^1\text{H-NMR}$ เรโซแนนซ์ของสาร I

ค่า chemical shift ที่  $7.10$  (s, H-3) คือ โปรตอนของอะโรมาติกที่ไม่มีโปรตอนข้างเคียง ที่  $7.09$  (d, 7.7 Hz, H-5) และ  $6.91$  (d, 7.7 Hz, H-6) คือ อะโรมาติกโปรตอนที่อยู่ติดกัน ที่  $7.60$  (d, 13.0 Hz, H-7) คือ

โปรตอนที่มีพันธะคู่ที่อยู่ใกล้กับวงอะโรมาติก ที่  $6.29$  (d, 13.0 Hz, H-8) คือโปรตอนที่มีพันธะคู่ที่อยู่ติดกับคาร์บอนิลของหมู่เอสเทอร์ ที่  $4.20$  (t, 6.5 Hz, H-10) คือโปรตอนที่อยู่ติดกับออกซิเจนของหมู่เอสเทอร์ ที่  $1.17$ - $1.38$  (m, H-m) คือโปรตอน - $\text{CH}_2$ - ของสายโซ่ และ ที่  $0.89$  (t, 6.5 Hz, H-m) คือโปรตอนของ - $\text{CH}_3$  ที่อยู่ปลายสายโซ่

#### สัญญาณ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสาร I

$146.7$  (C-1),  $147.9$  (C-2),  $109.3$  (C-3),  $127.0$  (C-4),  $123.0$  (C-5),  $114.7$  (C-6),  $144.6$  (C-7),  $115.7$  (C-8),  $167.4$  (C-9),  $64.6$  (C-10),  $28.8$  (C-11),  $26.8$ - $29.3$  (C-12-m),  $14.1$  (C-m),  $55.5$  (C-OMe)

ความสัมพันธ์ COSY ของสาร **I** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับโปรตอนที่อยู่ใกล้กัน พบโปรตอน H-5 มีความสัมพันธ์กับ H-6 โปรตอน H-7 มีความสัมพันธ์กับ H-8 และโปรตอน H-10 มีความสัมพันธ์กับ H-11

ความสัมพันธ์ HMBC ของสาร **I** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับคาร์บอน พบโปรตอน H-3 มีความสัมพันธ์กับ C-2, C-5 และ C-7 โปรตอน H-5 มีความสัมพันธ์กับ C-2, C-3 และ C-7 โปรตอน H-6 มีความสัมพันธ์กับ C-1 และ C-4 โปรตอน H-7 มีความสัมพันธ์กับ C-1, C-5, C-8, และ C-9 โปรตอน H-8 มีความสัมพันธ์กับ C-4 โปรตอน H-10 มีความสัมพันธ์กับ C-9 และ C-11 โปรตอน 1-OMe มีความสัมพันธ์กับ C-1

#### สัญญาณ IR ของสาร II

สัญญาณที่ความยาวคลื่น  $3434\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี (-OH) ที่ความยาวคลื่น  $2926\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของ C-H อะลิฟาติก ที่ความยาวคลื่น  $1757\text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นแบบยืดของคาร์บอนิลของวงแลคโตน ที่ความยาวคลื่น  $1460\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่น

แบบของ  $\text{CH}_2$  และที่ความยาวคลื่น  $1190 \text{ cm}^{-1}$  เป็นการ  
สั่นแบบยืดของ C-O

#### สัญญาณ $^1\text{H-NMR}$ เรโซแนนซ์ของสาร II

ค่า chemical shift ที่  $4.62$  (*q*,  $6.1 \text{ Hz}$ , H-4) เป็น  
โปรตอนที่อยู่ติดกับออกซิเจนในวงเลทโทน ที่  $4.19$  (*t*,  
 $3.9 \text{ Hz}$ , H-3) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซี (-  
OH) ที่  $5.35$  (*m*, H-7', 8') เป็นโปรตอนที่ติดกับพันธะคู่ที่  
 $0.88$  (*t*,  $6.4 \text{ Hz}$ , H-16') เป็นโปรตอนของหมู่  $-\text{CH}_3$  ที่ปลาย  
สายโซ่ ที่  $1.39$  (*d*,  $6.6 \text{ Hz}$ , 4-Me) เป็นโปรตอนของหมู่  $-\text{CH}_3$   
ที่ติดกับวงที่ C-4 ที่  $2.56$  (*m*, H-2) เป็นโปรตอนที่อยู่  
ติดกับคาร์บอนิลในวงเลทโทน และที่  $1.20-1.38$  (*m*, H-2'-  
H-15') เป็นโปรตอนของสายโซ่

#### สัญญาณ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสาร II

□  $178.2$  (C-1),  $49.3$  (C-2),  $73.9$  (C-3),  $78.6$   
(C-4),  $14.1$  (4- $\text{CH}_3$ ),  $28.4$  (C-1'),  $28.9-29.7$  (C-2'-C-5'),  
 $27.2$  (C-6'),  $129.6$  (C-7'),  $130.1$  (C-8'),  $27.1$  (C-9') □  
 $29.0-29.8$  (C-10'-C14'),  $31.9$  (C-15'),  $13.8$  (C-16')

ความสัมพันธ์ COSY ของสาร II แสดง  
ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับโปรตอนที่อยู่ใกล้กัน  
พบโปรตอน H-2 มีความสัมพันธ์กับ H-3 และ H-1'  
โปรตอน H-3 มีความสัมพันธ์กับ H-2 และ H-4 โปรตอน  
H-4 มีความสัมพันธ์กับ H-3 และ 4- $\text{CH}_3$  โปรตอน H-6' มี  
ความสัมพันธ์กับ H-7' โปรตอน H-7' มีความสัมพันธ์กับ  
H-8' และ H-6' และโปรตอน H-8' มีความสัมพันธ์กับ  
H-7' และ H-9'

ความสัมพันธ์ HMBC ของสาร II แสดง  
ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับคาร์บอน พบโปรตอน  
H-1' มีความสัมพันธ์กับ C-1, C-2 และ C-3 โปรตอน H-2  
ที่อยู่ติดกับคาร์บอนิลมีความสัมพันธ์กับ C-1 C-1' และ C-  
4 โปรตอน H-3 มีความสัมพันธ์กับ C-1 และ C-1'  
โปรตอน H-4 มีความสัมพันธ์กับ C-2 และ C-3 โปรตอน  
 $\text{CH}_3$ -4 เป็นหมู่  $-\text{CH}_3$  ที่ติดกับ C-4 มีความสัมพันธ์กับ C-3  
และ C-4 โปรตอน H-6' ที่อยู่ติดพันธะคู่ของ C-7' มี

ความสัมพันธ์กับ C-7' และ C-8' โปรตอน H-7' อยู่ที่  
พันธะคู่มีความสัมพันธ์กับ C-6' และ C-9' โปรตอน H-8'  
ที่อยู่กับพันธะคู่มีความสัมพันธ์กับ C-6' และ C-9'  
โปรตอน H-9' ที่อยู่ติดพันธะคู่ของ C-8' มีความสัมพันธ์  
กับ C-7' และ C-8' โปรตอน H-16' เป็นหมู่  $-\text{CH}_3$  ที่อยู่  
ปลายสายโซ่มีความสัมพันธ์กับ C-14' และ C-15'

#### สัญญาณ IR ของสาร III

สัญญาณที่ความยาวคลื่น  $3504 \text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณ  
ของหมู่ไฮดรอกซี (-OH) ที่ความยาวคลื่น  $2956$  และ  $2867$   
 $\text{cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของ C-H อะลิฟาติก ที่  
ความยาวคลื่น  $1692 \text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นแบบยืดของคาร์บอนิล  
ของหมู่เอสเทอร์ ( $-\text{O}-\text{C}=\text{O}$ ) ที่ความยาวคลื่น  $1466 \text{ cm}^{-1}$   
เป็นสัญญาณการสั่นแบบงอของ  $\text{CH}_2$  ที่ความยาวคลื่น  
 $1385 \text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบงอของ C-H และที่  
ความยาวคลื่น  $1191$  และ  $1037 \text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นแบบยืด  
ของ C-O

#### สัญญาณ $^1\text{H-NMR}$ เรโซแนนซ์ของสาร III

ค่า chemical shift ที่  $1.88$  (*m*, H-1) เป็น  
โปรตอนที่อยู่ติดกับ C-1 ที่ □  $5.43$  (*br s*, H-2) เป็น  
โปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่เอสเทอร์ และพันธะคู่ที่  $6.01$  (*br*  
*d*,  $3.9 \text{ Hz}$ , H-3) เป็นโปรตอนที่อยู่กับพันธะคู่ที่  $3.79$  (*m*,  
H-6) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดหมู่ไฮดรอกซี ที่  $5.27$  (*br d*,  $8.2$   
 $\text{Hz}$ , H-12) เป็นโปรตอนที่อยู่กับพันธะคู่ ที่  $6.62$  (*dd*,  $10.9$   
 $\text{Hz}$ ,  $17.2 \text{ Hz}$ , H-14) เป็นโปรตอนที่อยู่กับพันธะคู่และอยู่  
ติดพันธะคู่ของ C-13 ที่  $5.20$  (*d*,  $17.2 \text{ Hz}$ , H-15a)  $5.10$  (*d*,  
 $10.9 \text{ Hz}$ , H-15b) เป็นโปรตอนที่ต่ออยู่กับพันธะคู่ของ  
ปลายสายโซ่ที่  $6.79$  (*s*, H-18) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่  
เอสเทอร์และพันธะคู่ ที่  $6.50$  (*s*, H-19) เป็นโปรตอนที่อยู่  
ติดกับหมู่เอสเทอร์ ที่  $2.27$  (*d*,  $6.6 \text{ Hz}$ , H-2') เป็นโปรตอน  
ที่อยู่ติดกับคาร์บอนิลของหมู่เอสเทอร์ที่เป็นสายโซ่ ที่  
 $2.13$  (*m*, H-3') เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่  $-\text{CH}_3$  2 หมู่ที่  
เป็นปลายสายโซ่ ที่  $1.01$  (*d*,  $6.6 \text{ Hz}$ , H-4', 5') เป็น  
โปรตอนของหมู่  $-\text{CH}_3$  ที่อยู่ปลายสายโซ่

### สัญญาณ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสาร III

26.7 (C-1), 66.3 (C-2), 121.8 (C-3), 145.5 (C-4), 53.5 (C-5), 72.9 (C-6), 37.3 (C-7), 36.8 (C-8), 37.8 (C-9), 36.7 (C-10), 29.1 (C-11) □ 126.6 (C-12) , 133.5 (C-13), 133.4 (C-14), 114.3 (C-15), 20.4 (C-16), 15.6 (C-17), 95.7 (C-18), 97.3 (C-19), 24.9 (C-20), 21.2 (18-OOCMe), 170.1 (18-OOCMe), 21.3 (19-OOCMe), 169.2 (19-OOCMe), 172.5 (C-1'), 43.6 (C-2'), 26.1 (C-3') □ 22.3 (C-4'), 22.4 (C-5')

### สัญญาณ IR ของสาร IV

สัญญาณที่ความยาวคลื่น  $3462\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่ความยาวคลื่น  $2965\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของ C-H อะลิฟาติก ที่ความยาวคลื่น  $1733\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบยืดของคาร์บอนิลของหมู่เอสเทอร์ (-O-C=O) ที่ความยาวคลื่น  $1463\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบงอของ  $\text{CH}_2$  ที่ความยาวคลื่น  $1375\text{ cm}^{-1}$  เป็นสัญญาณการสั่นแบบงอของ C-H และที่ความยาวคลื่น  $1234$  และ  $1037\text{ cm}^{-1}$  เป็นการสั่นแบบยืดของ C-O

### สัญญาณ $^1\text{H-NMR}$ เรโซแนนซ์ของสาร IV

ค่า chemical shift ที่ 1.92 (*m*, H-1) ที่ 5.45 (*br s*, H-2) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่เอสเทอร์และพันธะคู่ ที่ 6.02 (*br d*, 3.0 Hz, H-3) เป็นโปรตอนที่อยู่กับพันธะคู่ ที่ 3.68 (*d*, 9.7 Hz, H-6) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดหมู่ไฮดรอกซิล ที่ 4.98 (*t*, 10.1 Hz, H-7) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดหมู่เอสเทอร์ ที่ 1.88 (*m*, H-8) เป็นโปรตอนที่ต่อกับ C-8 ที่ 2.42 (*m*, H-10) เป็นโปรตอนที่ต่อกับ C-10 ที่ 1.65 (*m*, H-11) เป็นโปรตอนที่ต่อกับ C-11 ที่ 2.52 (*m*, H-12) เป็นโปรตอนที่ต่อกับ C-12 ที่ 6.59 (*dd*, 10.9 Hz, 6.6 Hz, H-14) เป็นโปรตอนที่อยู่กัพันธะคู่ และอยู่ติดพันธะคู่ของ C-13 ที่ 5.13 (*dd*, 10.8 Hz, 5.2 Hz, H-15) เป็นโปรตอนที่อยู่กัพันธะคู่ที่อยู่ปลายสายโซ่ ที่ 5.19, 5.22 (*s, s*, H-16) เป็นโปรตอนที่อยู่กัพันธะคู่ ที่ 0.91 (*d*, 6.7 Hz, H-17) เป็น

โปรตอนของหมู่- $\text{CH}_3$  ที่ต่อกักับ C-8 ที่ 6.72 (*s*, H-18) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่เอสเทอร์และพันธะคู่ ที่ 6.58 (*s*, H-19) เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่เอสเทอร์ ที่ 0.84 (*s*, H-20) เป็นโปรตอนของหมู่- $\text{CH}_3$  ที่ต่อกักับ C-9 ที่ 2.38 (*br s*, H-2') เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับคาร์บอนิลของหมู่เอสเทอร์ที่เป็นสายโซ่ ที่ 2.12 (*m*, H-3') เป็นโปรตอนที่อยู่ติดกับหมู่- $\text{CH}_2$  2 หมู่ที่เป็นปลายสายโซ่ ที่ 1.02 (*d*, 2.9 Hz, H-4') 1.01 (*d*, 3.0 Hz, H-5') เป็นโปรตอนของหมู่- $\text{CH}_3$  ที่อยู่ปลายสายโซ่

### สัญญาณ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสาร IV

26.6 (C-1), 65.9 (C-2), 122.1 (C-3), 144.4 (C-4), 53.5 (C-5), 75.0 (C-6), 75.3 (C-7), 41.0 (C-8), 39.2 (C-9), 36.0 (C-10), 29.6 (C-11) □ □ 30.1 (C-1), 134.0 (C-13), 133.1 (C-14), 114.8 (C-15), 125.4 (C-16), 11.0 (C-17), 95.5 (C-18), 97.2 (C-19), 25.3 (C-20), 21.1 (18-OOCMe), 169.9 (18-OOCMe), 21.1 (19-OOCMe), 168.7 (19-OOCMe), 172.3 (C-1'), 43.6 (C-2'), 21.1 (C-3') □ □ 22.3 (C-4'), 22.32 (C-5')

ความสัมพันธ์ COSY ของสาร IV แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับโปรตอนที่อยู่ใกล้กัน พบโปรตอน H-1 มีความสัมพันธ์กับ H-2 และ H-10 โปรตอน H-2 มีความสัมพันธ์กับ H-1 และ H-3 โปรตอน H-6 มีความสัมพันธ์กับ H-7 โปรตอน H-7 มีความสัมพันธ์กับ H-6 และ H-8 โปรตอน H-10 มีความสัมพันธ์กับ H-1 และ H-8 โปรตอน H-11 มีความสัมพันธ์กับ H-12 โปรตอน H-12 มีความสัมพันธ์กับ H-11 และ H-16 โปรตอน H-14 มีความสัมพันธ์กับ H-15 และ H-16 โปรตอน H-2' มีความสัมพันธ์กับ H-3' โปรตอน H-3' มีความสัมพันธ์กับ H-4' และ H-5'

ความสัมพันธ์ HMBC ของสาร IV แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนกับคาร์บอน พบโปรตอน H-3 มีความสัมพันธ์กับ C-5 โปรตอน H-7 มีความสัมพันธ์กับ 7-OOCMe โปรตอน H-10 มีความสัมพันธ์กับ C-5 C-6

C-8 และ C-9 โปرتون H-11 มีความสัมพันธ์กับ C-13 โปرتون H-12 มีความสัมพันธ์กับ C-13 C-14 และ C-16 โปرتون H-15 มีความสัมพันธ์กับ C-13 โปرتون H-16 มีความสัมพันธ์กับ C-13 โปرتون H-17 มีความสัมพันธ์กับ C-6 C-7 C-8 และ C-9 โปرتون H-19 มีความสัมพันธ์กับ C-4 C-5 C-6 และ 19-OOCMe โปرتون H-20 มีความสัมพันธ์กับ C-8 C-9 C-10 และ C-11 โปرتون H-2' มีความสัมพันธ์กับ C-1' C-4' และ C-5' โปرتون H-3' มีความสัมพันธ์กับ C-1' โปرتون H-4' มีความสัมพันธ์กับ C-2' และ C-5' โปرتون H-5' มีความสัมพันธ์กับ C-2' และ C-4'

#### สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดกิ่งกรวยป่า (*Casearia grewiiifolia* Vent.) ที่เก็บจากบริเวณสวนร่มเกล้า ภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น น้ำหนักแห้ง 7.0 กิโลกรัม ด้วย hexane, EtOAc และ MeOH ได้ส่วนสกัดหยาบ hexane 28.7 กรัม (0.41%) EtOAc 56.3 กรัม (0.80%) และ MeOH 405.9 กรัม (5.80%) ตามลำดับ เมื่อแยกส่วนสกัดหยาบ hexane ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีได้สาร 4 สาร สาร I เป็น cinnamic acid derivative สาร II เป็น butanolide และ สาร III และ IV เป็นสารกลุ่ม clerodane diterpenes และผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสาร III แสดงผลต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187 และ KB ที่ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.32 และ 0.6  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ

#### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์นวัตกรรมทางเคมี : โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและการวิจัยทางเคมี (Center for Innovation in Chemistry: Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, PERCH-CIC) ขอขอบคุณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

(BIOTECH) และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

#### เอกสารอ้างอิง

ประนอม จัทรโณทัย;นิวัฒน์ เสนาะเมือง.

พรรณไม้ ม.ช.;1<sup>st</sup>Ed; มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ขอนแก่น 2545

Pupo M. T., Vieira P. C., Fernandes J. B. & Da Silva M. F. Das G. Gamma-lactone from *Trichilia clausenii*. *Phytochemistry* 1998, 48(2), 307-310.

Ito K, Itoigawa M, Murata H, Furukawa H.  
Dihydrochalcones from *Balanophora tobiracola*. *Phytochemistry* (Elsevier) 1980; 19(3), 476-477.

Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K. and Buayairaksa, M., Cytotoxic clerodane diterpenoids from Fruits of *Casearia grewiiifolia*. *J. Nat. Prod.* 2007, 70, 1122-1126.

Shen, Y.; Cheng, Y.; Ahmed, A. F.; Lee, C. L.; Chen, S.; Chien, C.; Kuo, Y. and Tzeng, G.. Cytotoxic clerodane diterpenoids from *Casearia membranacea*. *J. Nat. Prod.* 2005, 68, 1665-1668.