



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์อนุพันธ์ mansonone G เป็นสารต้านมะเร็ง
Synthesis of mansonone G derivatives as anticancer agents

ชื่อนิสิต นายกรรภกรมย์ เลิศบำรุงชัย

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสังเคราะห์อนุพันธ์ mansonone G เป็นสารต้านมะเร็ง

Synthesis of mansonone G derivatives as anticancer agents

โดย

นายกรรณิรมย์ เลิศบำรุงชัย

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ การสังเคราะห์อนุพันธ์ mansonone G เป็นสารต้านมะเร็ง
โดย นายกรรภกริมย์ เลิศบำรุงชัย

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ

 ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒรา ธีรพิบูลย์เดช)

 อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร์ ขวศิริ)

 กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คณศ วงษ์ระวี)

รายงานนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์อนุพันธ์ mansonone G เป็นสารต้านมะเร็ง
ชื่อนิสิตในโครงการ นายกรรภกรมย์ เลิศบำรุงชัย เลขประจำตัว 5733054423
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร์ ชวศิริ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ได้แยก mansonone G จากแก่นจันทน์หอมสด สังเคราะห์อนุพันธ์ mansonone G 6 ชนิด ได้แก่ decyl ether (2), allyl ether (3), 3,3-dimethylallyl ether (4), cinnamyl ether (5), 3-bromopropyl ether (6) และ methyl acetyl ether (7) จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง mansonone G กับแอลคิลโบรไมด์ ที่สอดคล้อง พิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์ mansonone G ที่สังเคราะห์ได้ด้วย ^1H , ^{13}C NMR และ HRMS พบว่าได้สารใหม่ 3 ตัว ตรวจสอบความเป็นพิษของอนุพันธ์ mansonone G ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29 พบว่าอนุพันธ์ mansonone G ทุกชนิด มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงกว่า mansonone G แนวโน้มมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์ mansonone G ที่มีจำนวนคาร์บอนในสายโซ่ตรงต่างกันเป็นรูประฆังหงาย โดยอนุพันธ์ที่มีจำนวนคาร์บอนในสายโซ่เป็นแปดและสิบ (2) มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดสูงสุด และอนุพันธ์ mansonone G อื่น (3-7) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในระดับที่สูง

คำสำคัญ: mansonone G, อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G, ความเป็นพิษ, เซลล์มะเร็ง ลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29

Project title Synthesis of mansonone G derivatives as anticancer agents
Student Name Mr. Kanphirom Lertbumroongchai Student ID 5733054423
Advisor Name Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Mansonone G was isolated from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm. Six alkyl ether derivatives including decyl ether (**2**), allyl ether (**3**), 3,3-dimethylallyl ether (**4**), cinnamyl ether (**5**), 3-bromopropyl ether (**6**) and methyl acetyl ether (**7**) mansonone G were synthesized by the reaction of mansonone G and corresponding alkyl bromide. All mansonone G derivatives were characterized by ^1H , ^{13}C NMR and HRMS. Three of them were disclosed to be new. The cytotoxicity of mansonone G derivatives to HCT-116 and HT-29 colon cancer cell lines was evaluated. All synthesized mansonone G derivatives displayed more potent cytotoxicity than mansonone G. The trend of varying the number of carbon atoms in side chain of mansonone G to cancer cells was inversed parabolic dome shape. Compounds with C8 and C10 (**2**) in alkyl ether chain exhibited the most competent cytotoxicity to both cancer cell lines. Other alkyl ether mansonone G (**3-7**) also revealed high cytotoxicity to these cancer cell lines.

Keywords: mansonone G, mansonone G alkyl ether derivatives, cytotoxicity, HCT-116 and HT-29 colon cancer cell lines

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากความอนุเคราะห์ของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร์ ชวศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำต่าง ๆ ต่อการดำเนินงานวิจัยนี้ ตลอดจนตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความใส่ใจตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ อีกทั้งยังได้ให้ข้อคิดและกำลังใจยามท้อแท้ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒตรา อธิพิบูลย์เดช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คณศ วงษ์ระวี ที่สละเวลาให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบการวิจัยและตรวจสอบแก้ไขรายงานให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณนางสาวมนสิชา ญาณรัตน์ Ms. Nhung Ngo Thi Tuyet นิสิตปริญญาโทในกลุ่มวิจัยของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ และนางสาวสาวิณี จันทร์วิจิตร นิสิตปริญญาโท ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ คำปรึกษาขณะทำงานวิจัยและช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ และเทคนิคปฏิบัติการอันเป็นพื้นฐานในการทำงานวิจัยตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา และขอระลึกถึงกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัวและเพื่อน ๆ รวมถึงบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ จนสามารถดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.1.1 ปัญหาแม่เร็ง.....	1
1.1.2 เมแทบอลิต์ทุติยภูมิ.....	2
1.1.3 สารกลุ่ม naphthoquinones.....	3
1.1.3.1 ตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,4-naphthoquinones.....	4
1.1.3.2 ตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,2-naphthoquinones.....	5
1.1.4 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย (colon cancer cell lines) HCT-116 และ HT-29.....	5
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย.....	10
บทที่ 2 การทดลอง.....	11
2.1 พีชที่ใช้ในการทดลอง.....	11
2.2 เครื่องมือที่ใช้.....	11
2.3 สารเคมีที่ใช้.....	11

2.4 การสกัดพืช	11
2.5 การแยก mansonone G และการทำให้สารบริสุทธิ์.....	12
2.6 การสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G.....	12
2.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	15
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	16
3.1 การสกัด การแยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ mansonone G.....	16
3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G.....	19
3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	39
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง.....	46
เอกสารอ้างอิง	47
ประวัติผู้วิจัย.....	53



สารบัญตาราง

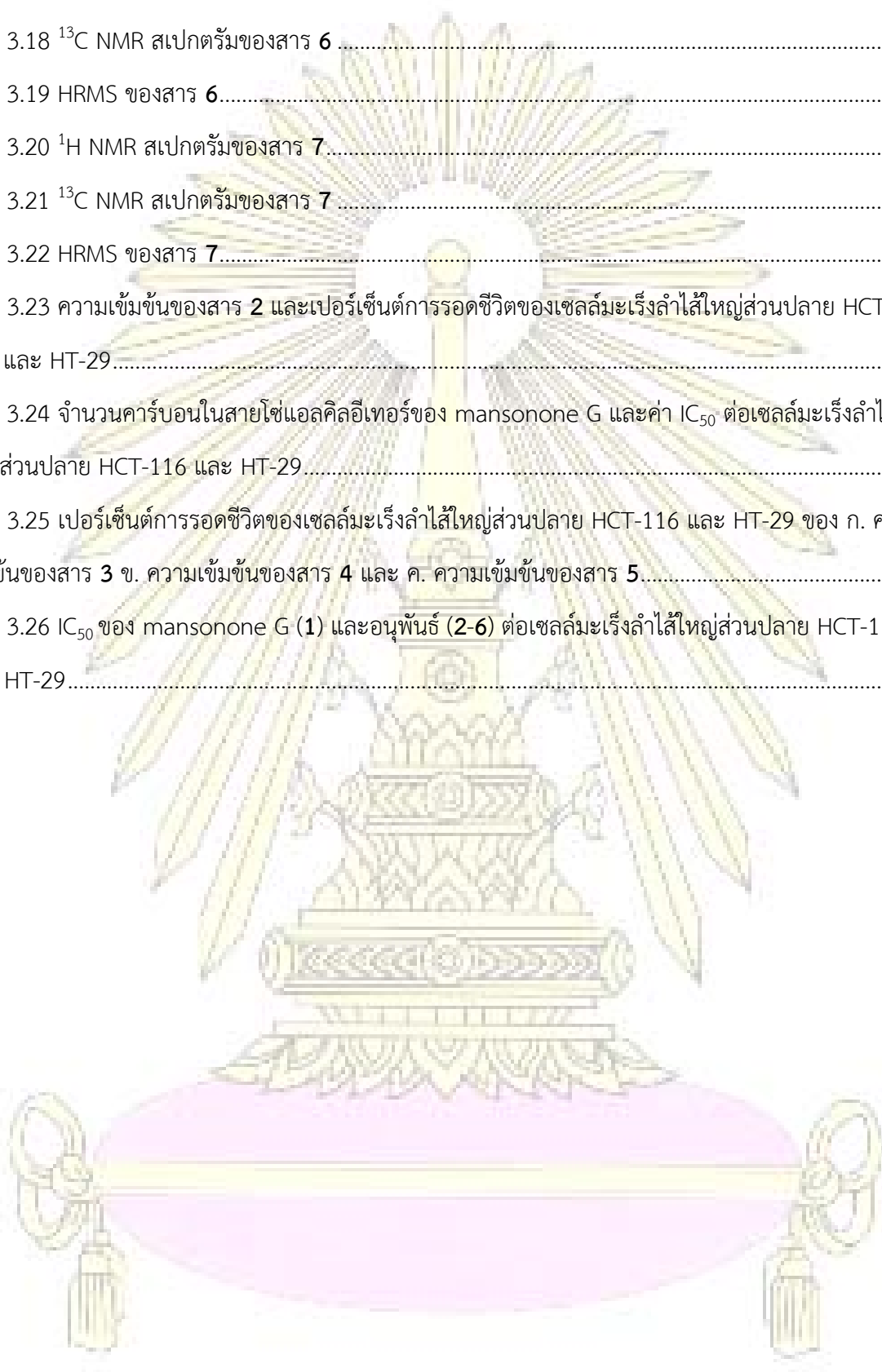
	หน้า
ตารางที่ 3.1 ส่วนย่อยที่ได้จากการแยกสิ่งสกัดแก่นจันทน์ชมพูด้วยควิกคอลัมน์.....	16
ตารางที่ 3.2 NMR chemical shift assignment ของ mansonone G และสาร 1	19
ตารางที่ 3.3 ร้อยละผลได้และลักษณะทางกายภาพของสาร 2-7	21
ตารางที่ 3.4 NMR chemical shift assignment ของ methyl bromoacetate และสาร a	22
ตารางที่ 3.5 ^1H NMR chemical shift assignment ของสาร 2-4	23
ตารางที่ 3.6 ^{13}C NMR chemical shift assignment ของสาร 2-4	24
ตารางที่ 3.7 ^1H NMR chemical shift assignment ของสาร 5-7	25
ตารางที่ 3.8 ^{13}C NMR chemical shift assignment ของสาร 5-7	26
ตารางที่ 3.9 จำนวนคาร์บอนในสายแอลคิลอีเทอร์และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29	40
ตารางที่ 3.10 ความเป็นพิษของ mansonone G (1) และอนุพันธ์ 2-7 ต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29	44

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.1 อัตราส่วนการเป็นมะเร็งในเพศชายและเพศหญิง.....	1
รูปที่ 1.2 อัตราส่วนการเสียชีวิตด้วยมะเร็งในเพศชายและเพศหญิง.....	2
รูปที่ 1.3 สารในกลุ่ม 1,4-naphthoquinones.....	4
รูปที่ 1.4 สารในกลุ่ม 1,2-naphthoquinones.....	5
รูปที่ 1.5 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116	6
รูปที่ 1.6 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29	6
รูปที่ 1.7 ต้นจันทน์ชะมด.....	7
รูปที่ 3.1 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร 1.....	17
รูปที่ 3.2 ¹³ C NMR สเปกตรัมของสาร 1.....	17
รูปที่ 3.3 จำนวนคาร์บอนในสายโซ่แอลคิลของ mansonone G และค่า IC ₅₀ ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29	20
รูปที่ 3.4 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร a.....	22
รูปที่ 3.5 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร 2.....	27
รูปที่ 3.6 ¹³ C NMR สเปกตรัมของสาร 2.....	27
รูปที่ 3.7 HRMS ของสาร 2.....	28
รูปที่ 3.8 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร 3.....	29
รูปที่ 3.9 ¹³ C NMR สเปกตรัมของสาร 3.....	29
รูปที่ 3.10 HRMS ของสาร 3.....	30
รูปที่ 3.11 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร 4.....	31
รูปที่ 3.12 ¹³ C NMR สเปกตรัมของสาร 4.....	31
รูปที่ 3.13 HRMS ของสาร 4.....	32
รูปที่ 3.14 ¹ H NMR สเปกตรัมของสาร 5.....	33
รูปที่ 3.15 ¹³ C NMR สเปกตรัมของสาร 5.....	33
รูปที่ 3.16 HRMS ของสาร 5.....	34

รูปที่ 3.17 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร 6.....	35
รูปที่ 3.18 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร 6.....	35
รูปที่ 3.19 HRMS ของสาร 6.....	36
รูปที่ 3.20 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร 7.....	37
รูปที่ 3.21 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร 7.....	37
รูปที่ 3.22 HRMS ของสาร 7.....	38
รูปที่ 3.23 ความเข้มข้นของสาร 2 และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29.....	39
รูปที่ 3.24 จำนวนคาร์บอนในสายโซ่แอลคิลเอเทอร์ของ mansonone G และค่า IC_{50} ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29.....	40
รูปที่ 3.25 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29 ของ ก. ความเข้มข้นของสาร 3 ข. ความเข้มข้นของสาร 4 และ ค. ความเข้มข้นของสาร 5.....	43
รูปที่ 3.26 IC_{50} ของ mansonone G (1) และอนุพันธ์ (2-6) ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29.....	45



บทที่ 1



บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

1.1.1 ปัญหามะเร็ง

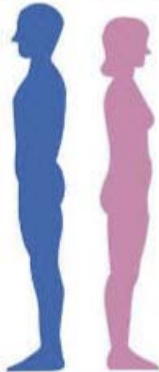
ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นปัญหาที่มีการตื่นตัวและเฝ้าระวังกันทั่วโลก เพราะทำให้มีผู้เสียชีวิตเป็นอันดับต้นๆ มะเร็งที่พบมากและทำให้มีผู้เสียชีวิตมากที่สุดในเพศชายคือ มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมากและมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ตามลำดับ ในขณะที่มะเร็งที่พบมากและทำให้เพศหญิงเสียชีวิตมากที่สุดคือ มะเร็งเต้านม มะเร็งปอดและมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ตามลำดับ (รูปที่ 1.1 และ 1.2)¹

Estimated New Cases

			Males	Females			
Prostate	164,690	19%			Breast	266,120	30%
Lung & bronchus	121,680	14%			Lung & bronchus	112,350	13%
Colon & rectum	75,610	9%			Colon & rectum	64,640	7%
Urinary bladder	62,380	7%			Uterine corpus	63,230	7%
Melanoma of the skin	55,150	6%			Thyroid	40,900	5%
Kidney & renal pelvis	42,680	5%			Melanoma of the skin	36,120	4%
Non-Hodgkin lymphoma	41,730	5%			Non-Hodgkin lymphoma	32,950	4%
Oral cavity & pharynx	37,160	4%			Pancreas	26,240	3%
Leukemia	35,030	4%			Leukemia	25,270	3%
Liver & intrahepatic bile duct	30,610	4%			Kidney & renal pelvis	22,660	3%
All Sites	856,370	100%			All Sites	878,980	100%

รูปที่ 1.1 อัตราส่วนการเป็นมะเร็งในเพศชายและเพศหญิง

Estimated Deaths

		Males		Females		
Lung & bronchus	83,550	26%		Lung & bronchus	70,500	25%
Prostate	29,430	9%		Breast	40,920	14%
Colon & rectum	27,390	8%		Colon & rectum	23,240	8%
Pancreas	23,020	7%		Pancreas	21,310	7%
Liver & intrahepatic bile duct	20,540	6%		Ovary	14,070	5%
Leukemia	14,270	4%		Uterine corpus	11,350	4%
Esophagus	12,850	4%		Leukemia	10,100	4%
Urinary bladder	12,520	4%		Liver & intrahepatic bile duct	9,660	3%
Non-Hodgkin lymphoma	11,510	4%		Non-Hodgkin lymphoma	8,400	3%
Kidney & renal pelvis	10,010	3%		Brain & other nervous system	7,340	3%
All Sites	323,630	100%		All Sites	286,010	100%

รูปที่ 1.2 อัตราส่วนการเสียชีวิตด้วยมะเร็งในเพศชายและเพศหญิง

สาเหตุปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งคือ สารเคมี โดยส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์และโลหะหนัก แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ genotoxic agent และ epigenetic agent

1. genotoxic agent เป็นสารเคมีก่อมะเร็งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สารพันธุกรรม ได้แก่ เบสที่เป็นโครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเอ²

2. epigenetic agent เป็นสารเคมีก่อมะเร็งที่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเบสที่เป็นโครงสร้างในโมเลกุลดีเอ็นเอ แต่ทำให้กระบวนการชีวเคมีที่สำคัญเปลี่ยนแปลง เช่น กระบวนการเติมหมู่เมทิล ที่เบส cytosine บนสายดีเอ็นเอ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการถอดรหัสพันธุกรรม ทำให้ยีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ³

ปัจจัยอื่นๆ เช่น การรับประทานอาหาร การออกกำลังกาย การสัมผัสรังสี การติดเชื้อและพันธุกรรม เป็นต้น การวินิจฉัยโรคมะเร็งมีวิธีทดสอบที่หลากหลายทางการแพทย์ เช่น ทดสอบเลือด เอ็กซเรย์ ซีทีสแกน และการส่องกล้อง เป็นต้น¹ การรักษามะเร็งในปัจจุบันเป็นการรักษาร่วมกันระหว่างการรักษาด้วยรังสี การผ่าตัด การใช้เคมีบำบัดโดย cisplatin⁴ ซึ่งมีผลข้างเคียงสามารถฆ่าเซลล์ปกติ และมีค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง

1.1.2 เมแทบอลิต์ทุติยภูมิ

เมแทบอลิต์ทุติยภูมิเป็นสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก พบมากในพืชชั้นสูง ไม่ได้ถูกใช้ในวิถีเมแทบอลิซึมที่มีบทบาทจำเป็นในการดำรงชีพ แต่ผลิตขึ้นมาเพื่อเพิ่มคุณสมบัติบางประการให้กับพืชก่อให้เกิดประโยชน์ในหลายๆ ด้าน เช่น การละลายแร่ธาตุได้ดีขึ้นโดยเป็น chelating agent ปกป้องพืชจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่

เอื้อต่อการรักษาชีวิตโดยสร้างรงควัตถุและสร้างสารป้องกันแรงดันออสโมติก เพิ่มความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาที่ส่วนต่างๆ ของพืช สร้างสารต้านแบคทีเรีย สร้างสารที่มีหน้าที่ในการส่งสัญญาณ ทำหน้าที่ปกป้องกลไกการเกิดปฏิกิริยาให้สามารถเกิดปฏิกิริยาได้⁵⁻⁷ สร้างพืชเพื่อป้องกันผู้ล่า และสร้างกลิ่นเพื่อดึงดูดแมลงเพื่อให้ง่ายต่อการขยายพันธุ์ เป็นต้น ในอดีตกาลมนุษย์ได้นำเมแทบอลิต์ทุติยภูมิมาประยุกต์อย่างแพร่หลายในชีวิตประจำวัน เช่น ใช้เป็นสารให้กลิ่น สารแต่งรส สีย้อม ยาสมุนไพรและใช้ในการเกษตร เมแทบอลิต์ทุติยภูมิบางชนิดสามารถประยุกต์ในการรักษาหรือยับยั้ง เช่น เป็นสารแอนติไบโอติก สารต้านเนื้องอกและสารต้านไวรัส เป็นต้น ทำให้เกิดการพัฒนายา เช่น aspirin ใช้เป็นยาลดไข้ LSD ใช้เป็นยาหล่อมประสาท และ lovastatin ใช้เป็นยาลดระดับคอเลสเตอรอล รวมถึงใช้เป็นยาด้านมะเร็ง เป็นต้น ปัจจุบันบริษัทยาส่วนใหญ่และมหาวิทยาลัยชั้นนำจึงให้ความสนใจกับการสกัดเมแทบอลิต์ทุติยภูมิจากพืช รวมถึงสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารเหล่านี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการรักษาโรค แม้จะมีเทคโนโลยีหรือวิธีการจำนวนมากที่ใช้ในการสกัดและการแยก แต่มีข้อจำกัดในความรู้ความเข้าใจต่อธรรมชาติของเมแทบอลิต์ทุติยภูมิในปัจจุบัน จึงถือได้ว่าเส้นทางของเมแทบอลิต์ทุติยภูมิต่อการนำมาใช้ในการรักษาโรค ยังสามารถมีการค้นพบได้อีกเป็นจำนวนมาก⁵⁻⁹

1.1.3 สารกลุ่ม naphthoquinones

naphthoquinones เป็นเมแทบอลิต์ทุติยภูมิที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย พบได้ในกลุ่มพืชชั้นสูง เห็ดรา สัตว์และจุลินทรีย์¹⁰⁻¹¹ งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารในกลุ่ม naphthoquinones มีสมบัติเป็นสารต้านมะเร็ง ต้านเห็ดรา ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัสและต้านมาลาเรีย¹²⁻¹⁶ ในปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาสมบัติทางยาของสารกลุ่มนี้เป็นจำนวนมาก¹⁷

naphthoquinones ประกอบด้วย C6-C4 เป็นโครงหลัก หรือมี naphthalene เป็นโครง และมีหมู่ carbonyl เป็นองค์ประกอบ เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก ในธรรมชาติ พบได้หลายชนิด สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ 1,2- และ 1,4-naphthoquinones¹⁸⁻²⁰

naphthoquinones เป็นสารประกอบที่มีสีเหลือง ส้มหรือน้ำตาล จึงมีความสำคัญในการใช้เป็นสีย้อมและมีสมบัติทางกายภาพที่สามารถละลายได้ใน acetic acid, alcohol, benzene, chloroform และ dimethyl sulfoxide ในขณะที่มีสมบัติในการละลายได้ในน้ำร้อนเพียงเล็กน้อย²⁰

ในธรรมชาติ naphthoquinones ที่พบในพืชมีชีวสังเคราะห์จาก acetate-malonate pathway²⁰ ได้จากการเปลี่ยนสารในกลุ่ม pentaketides, hexaketides และ heptaketides เป็น naphthoquinones

โดยทั่วไปสามารถพบ naphthoquinones ได้ในกลุ่มพืชวงศ์ Avicenniaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Droseraceae, Ebenaceae, Juglandaceae, Naphentaceae และ Plumbaginaceae

ตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,4-naphthoquinones ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น plumbagin, juglone, lawsone และ α -Lapachone (รูปที่ 1.3) และตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,2-naphthoquinones เช่น β -lapachone, biflorin และ dunnione²¹⁻³⁸ (รูปที่ 1.4)

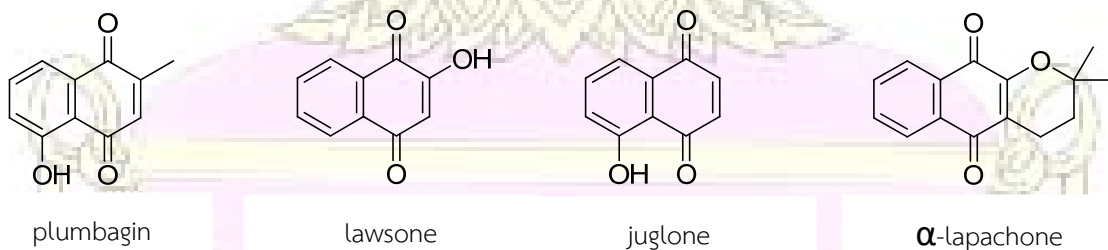
1.1.3.1 ตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,4-naphthoquinones

Plumbagin หรือ 5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone เป็นสารที่ได้จากการสกัดรากพืชในวงศ์ Plumbaginaceae มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรียและต้านเชื้อรา^{21,22} จากงานวิจัยของ Ahmad และคณะ พบว่า plumbagin มีแนวโน้มต้านเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 และ MCF-7 ได้จำเพาะกว่าเซลล์เต้านมปกติ MCF-10A เมื่อความเข้มข้นของ plumbagin เพิ่มขึ้น²³

Juglone หรือ 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone สกัดได้จาก *Caesalpinia sappan* มีรายงานวิจัยพบว่า สารนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปาก เช่น *Porphyromonas sp.*, *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus viscosus*, *Streptococcus sorbrinus* และ *Streptococcus salivarius* และยังพบว่า juglone ที่สกัดจาก *Juglans mandschurica* มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและเนื้องอกได้²⁴⁻²⁶

Lawsone หรือ 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone เป็นสารที่สกัดได้จากใบของ *Lawsonia inermis* วงศ์ Lythraceae พบได้ในประเทศโมร็อกโก อียิปต์ อินเดีย อิหร่าน อัฟกานิสถานและตุรกี²⁷ มีรายงานว่า สารนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย²⁸ และต้าน reactive oxygen species (ROS) ในเลือด และ polymorphonuclear leucocyte²⁹

α -Lapachone หรือ 2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2H-naphtho[2,3-b]-pyran-5,10-dione สกัดได้จาก *Tabebuia avellanedae* วงศ์ Bignoniaceae มีรายงานว่าสามารถต้าน *Staphylococcus aureus* และเนื้องอกที่ดื้อยา โดยจับกับ topoisomerase II ที่ DNA³⁰



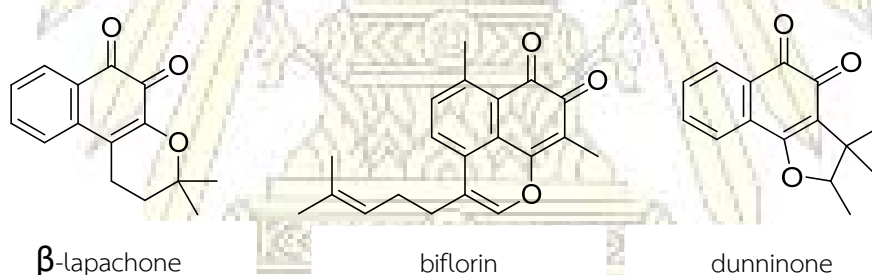
รูปที่ 1.3 สารในกลุ่ม 1,4-naphthoquinones

1.1.3.2 ตัวอย่างของสารกลุ่ม 1,2-naphthoquinones

β -Lapachone หรือ 2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2H-naphtho[2,3-b]pyran-5,6-dione สกัดได้จากแก่นพืชวงศ์ Bignoniaceae และ Verbanaceae³⁰ สารนี้เป็นอนุพันธ์ที่เกิดจาก lapachone ในธรรมชาติ และได้จากการสังเคราะห์ lapachol ผ่านปฏิกิริยาการปิดวงของสายโซ่ข้าง prenyl ของ lapachol มีรายงานวิจัยพบว่า มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิดและเสริมฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งร่วมกับการรักษาด้วยรังสี ในปัจจุบันอยู่ในการศึกษา phase II เพื่อใช้รักษามะเร็งตับอ่อน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบ พยาธิ เนื้องอก และพลาสมาเดียม³¹⁻³³

Biflorin หรือ 6,9-dimethyl-3-(4-methyl-3-pentenyl)naphtha[1,8-bc]-pyran-7,8-dione สกัดได้จากรากพืช *Capraria biflora* L. วงศ์ Scrophulariaceae พบได้ในประเทศสหรัฐอเมริกา เปอร์โตริโก และเม็กซิโก เป็นต้น เป็นพืชสมุนไพรรักษากาฬโรค อาเจียน เป็นต้น มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านจุลินทรีย์ เซลล์มะเร็ง การกลายพันธุ์และแมลง³⁴⁻³⁶

Dunnione หรือ 2,3,3-trimethyl-2H-benzo[g][1]benzofuran-4,5-dione สกัดได้จากใบและรากของพืช *Streptocarpus dunnii* Mast. วงศ์ Gesneriaceae มีรายงานการวิจัยระบุว่าสารนี้มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งตับอ่อน และสามารถสังเคราะห์ได้จาก lawsone ผ่านปฏิกิริยา O-allylation, Claisen rearrangement และ cyclization ตามลำดับ³⁷⁻³⁸

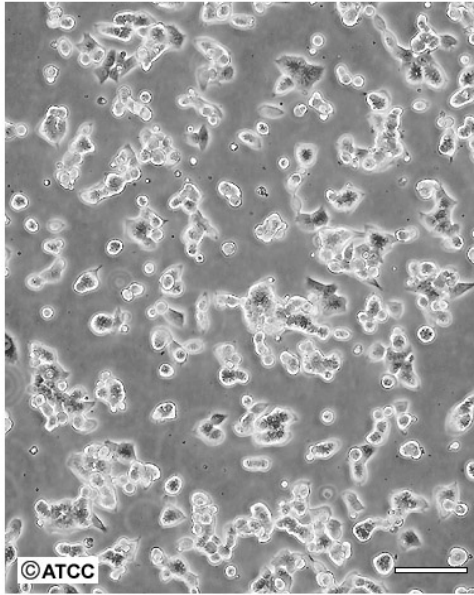


รูปที่ 1.4 สารในกลุ่ม 1,2-naphthoquinones

1.1.4 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย (colon cancer cell lines) HCT-116 และ HT-29

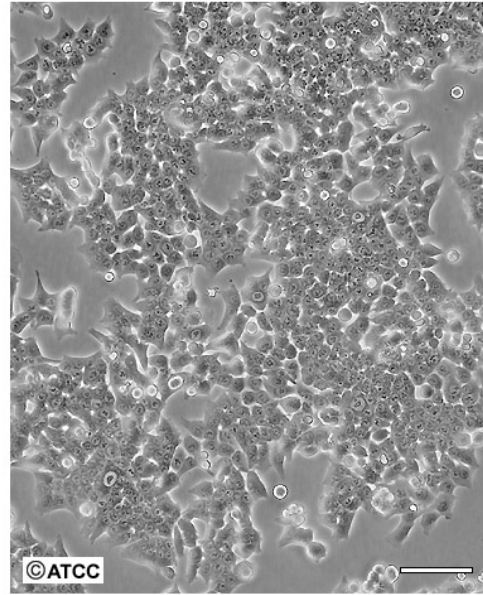
HCT-116 เป็นเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย และ HT-29 เป็นเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา แสดงไว้ในรูปที่ 1.5 และ 1.6 เซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดมีความสามารถเป็นเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด สามารถแบ่งตัว และแพร่กระจายทั่วร่างกายได้^{39,40}

ATCC Number: **CCL-247**
Designation: **HCT 116**



Low Density

Scale Bar = 100µm

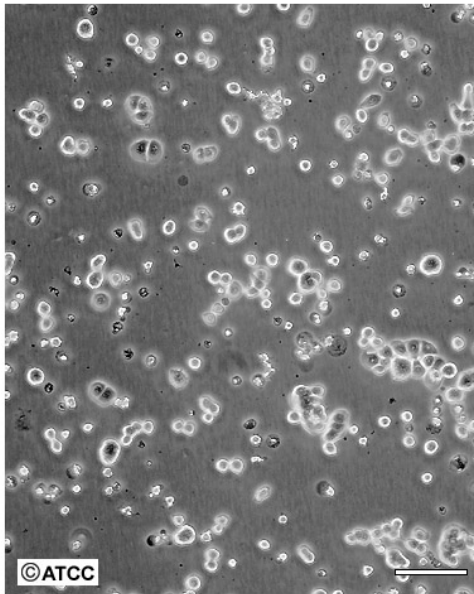


High Density

Scale Bar = 100µm

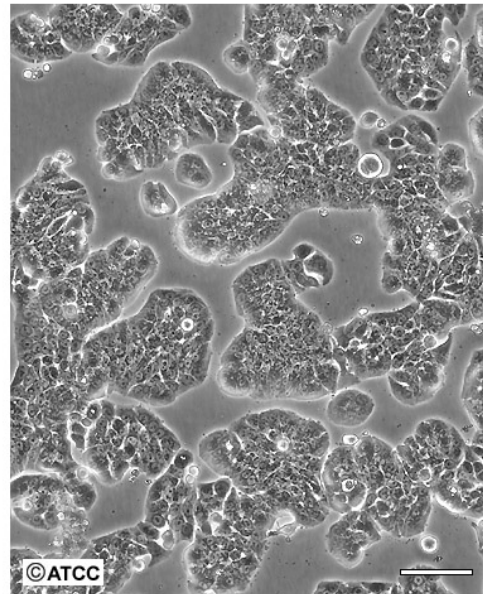
รูปที่ 1.5 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116⁴¹

ATCC Number: **HTB-38**
Designation: **HT-29**



Low Density

Scale Bar = 100µm



High Density

Scale Bar = 100µm

รูปที่ 1.6 เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดีอยา HT-29⁴²

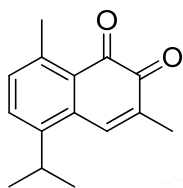
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Mansonia gagei Drumm. เป็นพืชในวงศ์ Sterculiaceae พบได้ในจังหวัดนครราชสีมา สระบุรี ระนองและประจวบคีรีขันธ์ และพบได้ในต่างประเทศเช่น พม่าและอินเดีย มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น จันทน์ จันทน์ชะมด จันทน์ขาวและจันทน์พม่า (รูปที่ 1.7) เป็นไม้มีค่า และเป็นไม้มงคลของไทยที่ใช้ในงานพระราชพิธีมาตั้งแต่อดีต เช่น ใช้สร้างอาคารบ้านเรือนในสมัยก่อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานพระราชพิธีเกี่ยวกับพระบรมศพ เช่น ใช้เป็นดอกไม้จันทน์ในพิธีพระราชทานเพลิงพระบรมศพ ใช้เป็นพืชมงคลในการถวายเพลิง และใช้สร้างพระรองประดับพระโกศพระบรมศพ เป็นต้น ลักษณะทางธรรมชาติของไม้จันทน์ชะมดจัดเป็นไม้ยืนต้น ผลัดใบ มีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงประมาณ 30 เมตร ปลายยอดมีลักษณะคล้ายรูปกรวยต่ำ ดอกมีลักษณะเป็นช่อดอกขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อนหรือสีขาว เนื้อไม้มีลักษณะแข็งละเอียด ส่วนกระพี้ไม่มีสีน้ำตาลอ่อน และแก่นไม้มีสีน้ำตาลเข้ม พบในป่าดงดิบหรือป่าเบญจพรรณขึ้น ไม้จันทน์ชะมดที่ยืนต้นตายเองตามธรรมชาติจะให้กลิ่นหอมอ่อนๆ จึงนิยมนำมาสกัดมาทำเป็นน้ำหอม เครื่องหอม ธูปหอม จันทน์ชะมดยังมีสรรพคุณทางยาที่เป็นพืชสมุนไพรใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ ยาบำรุงประสาท ยาแก้ไข้ เป็นต้น⁴³⁻⁴⁴

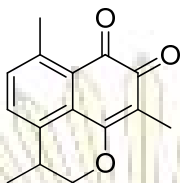


รูปที่ 1.7 ต้นจันทน์ชะมด

Tiew และคณะ⁴⁴ ได้สกัดแก่นจันทน์ชะมดด้วย dichloromethane (DCM) แยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยข้อมูลสเปกโทรสโกปี พบ mansonones A-H และ mansorins A-C และพบว่า mansonones C และ E มีปริมาณต้าน *Cladosporium cucumerinum* ต่ำสุดที่ 0.15 และ 2.5 μg และ *Candida albicans* ต่ำสุดที่ 0.6 และ 0.6 μg และพบว่า mansonone C ที่ 50 ppm สามารถต้านตัวอ่อน *Aedes aegypti* และ mansonone N มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl



mansonone C

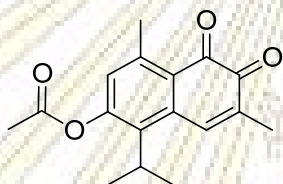


mansonone E

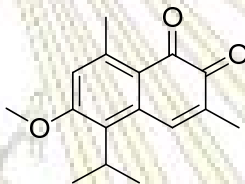


mansonone N

El-Halawany และคณะ⁴⁵ ได้แยก mansonone G และ mansorin A จากแก่นจันทน์ชะมด ซึ่งมีฤทธิ์ต้าน estrogenic และสังเคราะห์อนุพันธ์ของ mansonone G, mansorin A เพื่อทดสอบการจับกับ ER α ของยีสต์และทดสอบฤทธิ์ต้าน estrogenic พบว่าอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ต้าน estrogenic ดี คือ acetyl mansonone G $IC_{50} = 0.63 \pm 0.01$ mM และ methyl ether mansonone G $IC_{50} = 1.2 \pm 0.1$ mM



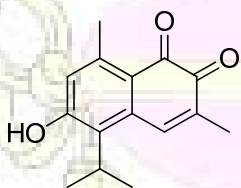
acetyl mansonone G



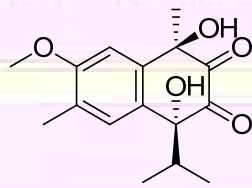
methyl ether mansonone G

Puckhaber และคณะ⁴⁶ ได้สกัดแก่นโพธิ์ทะเล (*Thespesia populnea*) ด้วย chloroform เมื่อแยกสิ่งสกปรก ได้สารในกลุ่ม mansonone, thepesenone, 7-hydroxycadalene และ dehydrooxoperezinone-6-methyl ether โดยพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย 1H , ^{13}C NMR และ MS

Dai และคณะ⁴⁷ ได้แยก mansonone G, tavinin A และ *epi*-tavinin A จากเปลือกไม้ *Sterculia tavia* ที่สกัดด้วย ethanol และแยกสารด้วย reverse-phase HPLC ระบุชนิดสารด้วย 1H และ ^{13}C NMR และศึกษาการต้านการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งรังไข่ พบว่า mansonone G ออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด



mansonone G

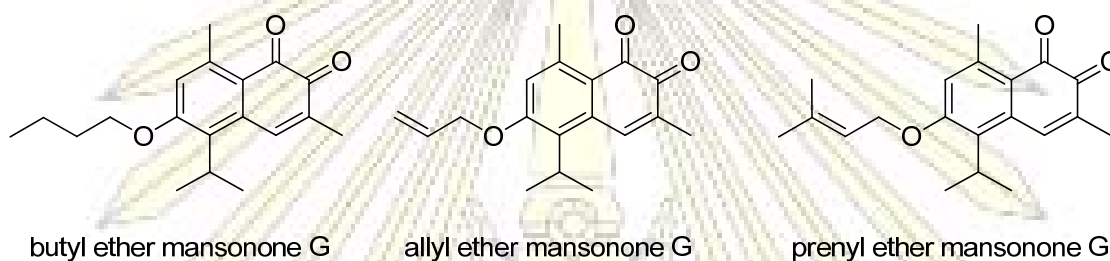


tavinin A

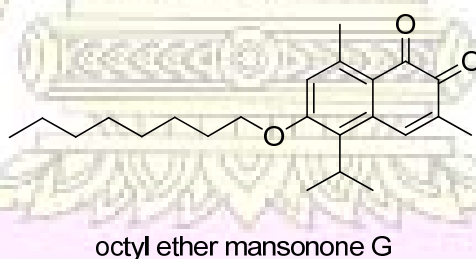


epi-tavinin A

Hairani และคณะ⁴⁸ ได้แยก mansonones C, E, G และ H จากแก่นจันทน์ชมพูด้วย DCM และสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Salmonella typhi* และ *Propionibacterium acnes* พบว่า butyl ether mansonone G มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *P. acnes*, *S. typhi*, *S. mutans* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration, MIC) เป็น 15.6, 3.9 และ 7.8 μM ตามลำดับ allyl ether mansonone G มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. sobrinus* ดี ด้วยค่า MIC 0.975 และ 15.6 μM ตามลำดับ และ prenyl ether mansonone G มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ดีที่สุด มีค่า MIC 0.975 μM



นอกจากนี้ Hairani และคณะ⁴⁹ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29 พบว่าการเพิ่มจำนวนคาร์บอนในโซ่ตรงของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G มีผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และพบว่าอนุพันธ์ที่ให้ค่า IC_{50} ต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดต่ำสุดคือ octyl ether mansonone G $\text{IC}_{50} = 2.77 \pm 0.20$ และ 3.24 ± 0.21 μM ตามลำดับ



จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง พบว่าการศึกษาความเป็นพิษของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29 ยังไม่สมบูรณ์ รวมทั้งยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G อื่นๆ

1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 สังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G

1.3.2 ทดสอบความเป็นพิษของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ที่สังเคราะห์ได้ กับเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29



บทที่ 2

การทดลอง

2.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

แก่นจันทน์ชะมด *Mansonia gagei* Drumm. แห่ง 10 กิโลกรัม ซื้อจากบริษัทสมุนไพรท่าพระจันทร์ กรุงเทพมหานคร เมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2560

2.2 เครื่องมือที่ใช้

เครื่องมือ NMR spectrometer ของ Bruker Ultrashield 400 plus สำหรับวิเคราะห์ ^1H และ ^{13}C NMR และเครื่อง HRMS ของ Bruker Daltonics microTOF แบบ ESI

2.3 สารเคมีที่ใช้

ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ acetone, ethyl acetate (EtOAc), dichloromethane (DCM) และ hexane

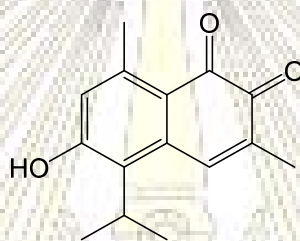
สารเคมีจากบริษัท TCI ได้แก่ allyl bromide, 1-bromodecane, bromoacetic acid, cinnamyl bromide, 1,3-dibromopropane และ 3,3-dimethylallyl bromide จากบริษัท Merck ได้แก่ anhydrous sodium sulfate, methanol (MeOH), potassium carbonate, sodium bicarbonate, sulfuric acid และ silica gel No. 7729 และ 7734

2.4 การสกัดพืช

สกัดด้วยการหมัก (maceration) โดยนำแก่นจันทน์ชะมด 10 กิโลกรัม แช่ใน DCM เป็นเวลา 3 วัน กรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน สกัดแก่นจันทน์ชะมดที่เหลือด้วย DCM ซ้ำอีก 2 ครั้ง จะได้สิ่งสกัดมีลักษณะขุ่นเหนียวสีน้ำตาลดำ 284 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละ 2.84 เทียบกับน้ำหนักพืชที่ใช้สกัด

2.5 การแยก mansonone G และการทำให้สารบริสุทธิ์

แยกสิ่งสกัดที่มีลักษณะเหนียวหนืดสีน้ำตาลดำเข้มข้นด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ silica gel No. 7729 เป็นวัฏภาคนิ่ง และใช้ hexane-DCM, DCM-EtOAc, EtOAc-MeOH เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยใช้ 10% MeOH/EtOAc เป็นตัวทำละลายผสมที่มีระดับขั้วสูงที่สุดในการแยก รวมส่วนย่อยที่มีสาร **1** มาแยกซ้ำ โดยใช้คอลัมน์ขนาดเล็กที่มีวัฏภาคนิ่งเป็น silica gel No. 7734 และใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็น 15% EtOAc/hexane เก็บส่วนย่อยที่มีสาร **1** ตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วย TLC ได้สาร **1** ปริมาณ 10.0 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละ 0.1 เทียบกับน้ำหนักพืชสกัด



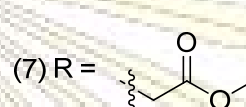
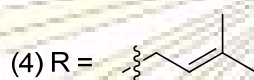
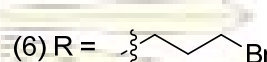
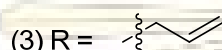
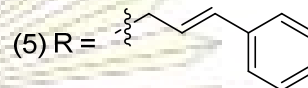
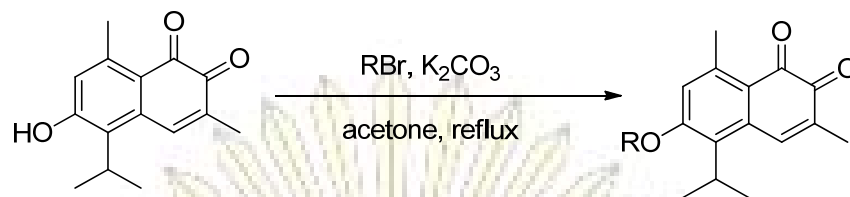
mansonone G (1)

mansonone G (1) ผลึกสีส้มแดง $R_f = 0.13$ (15% EtOAc/hexane) $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6): δ_{H} 7.94 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.01 (s, 3H) และ 1.42 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H) $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, acetone- d_6): δ_{C} 183.0, 181.0, 162.6, 145.9, 138.7, 136.3, 135.8, 133.3, 123.6, 120.6, 27.6, 23.2, 21.4 และ 15.7

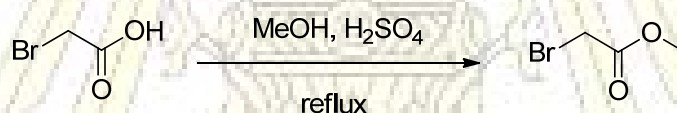
2.6 การสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G

วิธีการทั่วไป⁴⁸

ผสมสาร **1** 100 มิลลิกรัม (0.41 มิลลิโมล) กับ K_2CO_3 300 มิลลิกรัม (2.2 มิลลิโมล) ในขวดก้นกลม เต็ม acetone 40 มิลลิลิตร คนสารละลายผสมเป็นเวลา 30 นาที เต็มแอลคิลโบรไมด์ที่สนใจ (12 มิลลิโมล) รีฟลักซ์สารละลายผสมเป็นเวลา 5-8 ชั่วโมง กรอง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แบบหมุน แยกของผสมที่ได้ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้วัฏภาคนิ่งเป็น silica gel No. 7734 และวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็น 20% EtOAc/hexane



การสังเคราะห์ methyl bromoacetate⁵⁰ ซึ่งกรดโบรโมแอซติก 6.95 กรัม (0.05 โมล) และ MeOH (0.3 โมล) ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ของผสมเป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำไประเหยโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน สกัดสิ่งที่เหลือด้วยสารละลาย NaHCO₃ อิมตัว และ diethyl ether เก็บชั้นสารอินทรีย์ เติม anhydrous Na₂SO₄ กรอง นำชั้นสารอินทรีย์ไประเหยโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ได้ผลิตภัณฑ์ สาร **a** เป็นของเหลวใสไม่มีสี ปริมาณ 0.8 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 10.5 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ_H 3.80 (s, 2H) และ 3.72 (s, 3H)



สาร **2** ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร **1** กับ 1-bromodecane ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวกึ่งแข็งสีส้มแดงปริมาณ 30 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 19.5 R_f = 0.30 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 7.73 (s, 1H), 6.62 (s, 1H), 4.01 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.61 (m, 1H), 2.65 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.88 (m, 2H), 1.53 (m, 2H), 1.41 (d, J = 7.0 Hz, 6H), 1.28 (m, 12H) และ 0.91 (t, J = 6.0 Hz, 3H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ_C 182.6, 180.5, 168.2 146.5 138.4 134.5, 134.3, 122.8, 115.5, 68.6, 31.9, 29.7, 29.5, 29.3, 29.2, 29.0, 23.7, 22.7, 21.4, 20.6, 26.2, 16.1 และ 14.1 HRMS (ESI): calcd for C₂₃H₃₂O₃ [M+Na]⁺: 407.2557, พบ 407.2560

สาร **3** ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร **1** กับ allyl bromide ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้มแดง ปริมาณ 41 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 35.2 R_f = 0.38 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz,

CDCl₃): δ_H 7.71 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.07 (m, 1H), 5.44 (m, 1H), 5.34 (m, 1H), 4.63 (d, *J* = 5.20 Hz, 2H), 3.60 (m, 1H), 2.61 (s, 3H), 2.05 (s, 3H) และ 1.39 (d, *J* = 7.1 Hz, 6H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ_C 182.6, 180.7, 162.3, 146.5, 138.5, 135.2, 134.6, 132.3, 123.2, 122.4, 118.4, 116.1, 69.3, 27.0, 23.8, 21.4 และ 16.2 HRMS (ESI): calcd for C₂₃H₃₂O₃ [M+Na]⁺: 307.1310, พบ 307.1293

สาร 4 ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 1 กับ 3,3-dimethylallyl bromide ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้มแดง ปริมาณ 28 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 21.9 R_f = 0.33 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 7.71 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.48 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.58 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.76 (s, 3H) และ 1.36 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ_C 182.8, 180.7, 162.8, 146.6, 138.9, 138.6, 135.1, 134.8, 134.7, 123.0, 116.0, 65.5, 27.1, 25.9, 23.9, 23.8, 21.5, 18.5 และ 16.2 HRMS (ESI): calcd for C₂₃H₃₂O₃ [M+Na]⁺: 335.1623, พบ 335.1624

สาร 5 ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 1 กับ cinnamyl bromide ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้มแดง ปริมาณ 62 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 42.0 R_f = 0.30 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 7.72 (s, 1H), 7.37 (m, 5H), 6.66 (s, 1H), 6.76 (m, 2H), 6.42 (m, 1H), 4.80 (m, 2H), 3.63 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.06 (s, 3H) และ 1.42 (d, *J* = 7.04 Hz, 6H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ_C 182.7, 180.7, 162.2, 146.5, 138.5, 135.3, 134.8, 134.7, 134.1, 128.8, 128.4, 126.8, 123.3, 116.1, 69.3, 27.2, 23.9, 21.6 และ 16.2 HRMS (ESI): calcd for C₂₃H₃₂O₃ [M+Na]⁺: 383.1623, พบ 383.1638

สาร 6 ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 1 กับ 1,3-dibromopropane ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้มแดง ปริมาณ 31 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 20.7 R_f = 0.33 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 7.64 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 4.16 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.57 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.53 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.34 (m, 2H), 1.99 (s, 3H) และ 1.31 (d, *J* = 7.1 Hz, 6H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ_C 182.5, 180.5, 162.1, 146.4, 140.3, 138.3, 135.2, 134.1, 119.1, 115.6, 66.0, 52.2, 32.0, 29.5, 23.7, 21.5 และ 16.1 HRMS (ESI): calcd for C₂₃H₃₂O₃ [M+Na]⁺: 387.0566, พบ 387.0569

สาร 7 ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 1 กับสาร a ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผลึกสีส้มแดง ปริมาณ 73 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ 56.3 R_f = 0.30 (20% EtOAc/hexane) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H

7.75 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.65 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.09 (s, 3H) และ 1.45 (d, $J = 7.1$ Hz, 6H) ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ_{C} 182.3, 180.6, 168.7, 168.1, 146.1, 138.2, 135.4, 134.9, 134.7, 119.0, 115.3, 79.0, 64.9, 29.7, 23.7, 21.2 และ 16.1 HRMS (ESI): calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 339.1203, พบ 339.1214

2.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ส่งสารที่แยกและสังเคราะห์ได้ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดื้อยา HT-29 ที่ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งสกัดและแยก mansonone G จากแก่นจันทน์ชะมด เพื่อนำไปสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วย ^1H , ^{13}C NMR และ HRMS และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29

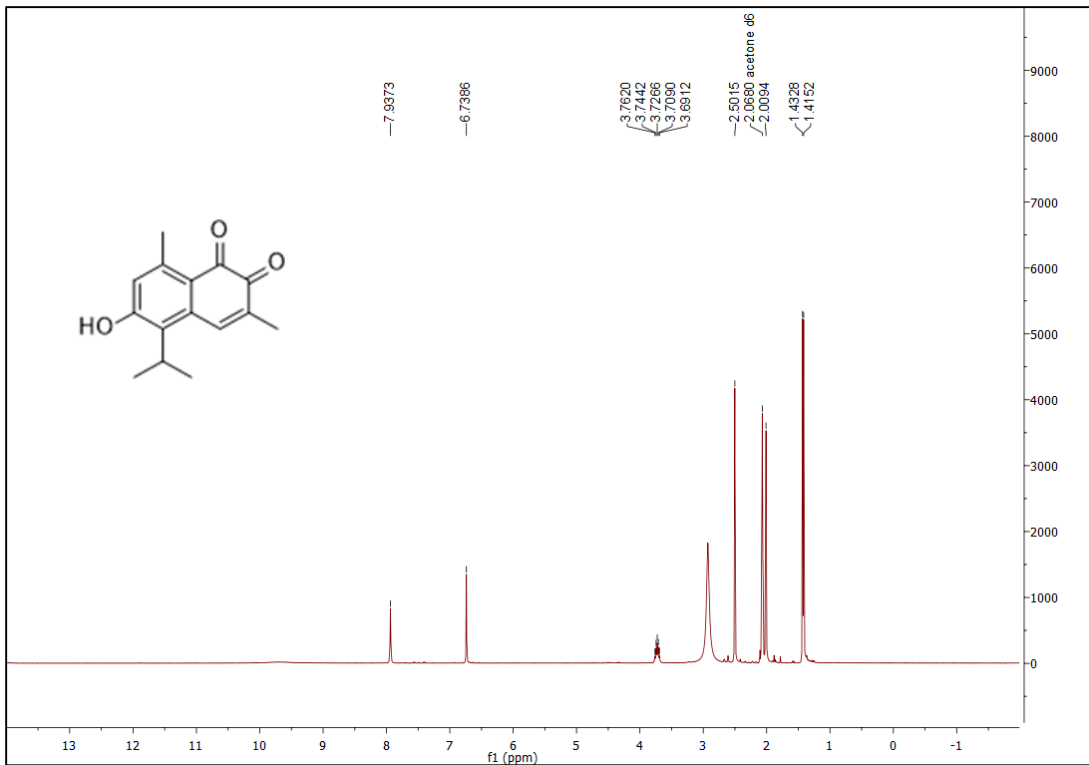
3.1 การสกัด การแยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ mansonone G (1)

หลังการสกัดแก่นจันทน์ชะมด 10 กิโลกรัมด้วย DCM ได้สิ่งสกัดที่มีลักษณะขุ่นสีน้ำตาลประมาณ 284 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละ 2.84 เทียบกับน้ำหนักพืชที่ใช้สกัด นำไปแยกด้วยควิกคอลัมน์ โดยเริ่มที่วัฏภาคเคลื่อนที่ 100% hexane เพิ่มขั้ววัฏภาคเคลื่อนที่โดยเพิ่มสัดส่วน EtOAc/hexane (5-80%), 100% EtOAc และ MeOH/EtOAc (5-10%) ตามลำดับ ผลการแยกสิ่งสกัด DCM ของแก่นจันทน์ชะมด แสดงดังตารางที่ 3.1

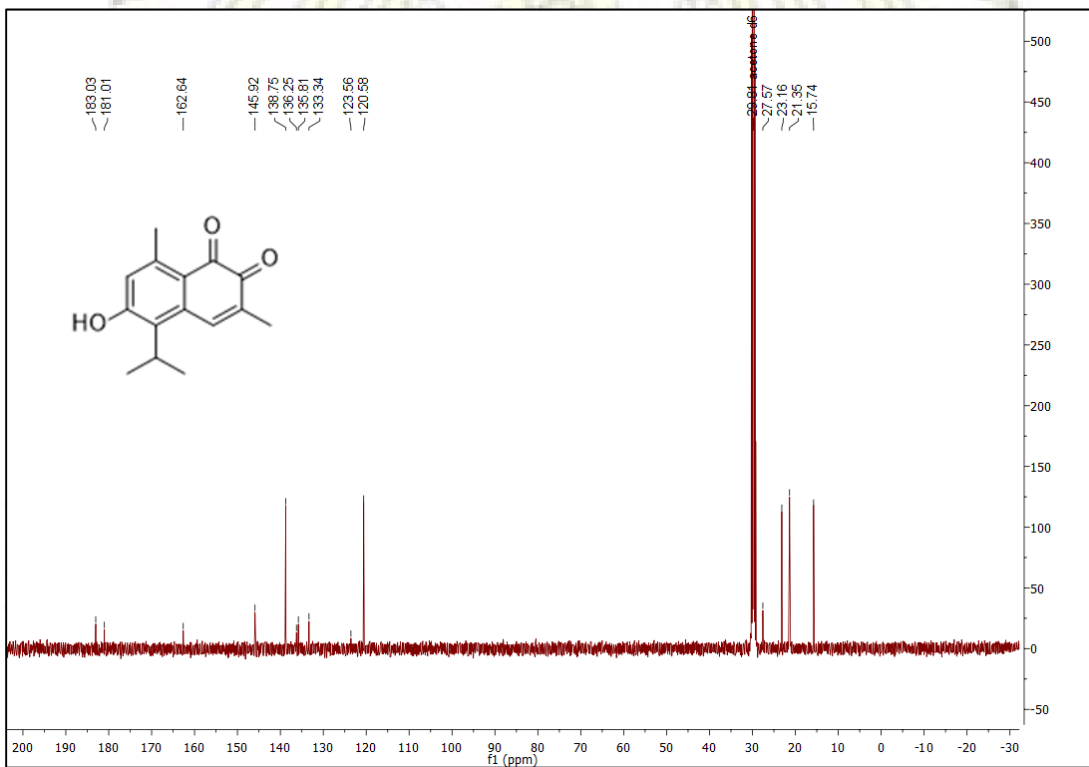
ตารางที่ 3.1 ส่วนย่อยที่ได้จากการแยกสิ่งสกัดแก่นจันทน์ชะมดด้วยควิกคอลัมน์

ตัวทำละลาย	ส่วนย่อย	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำหนัก (กรัม)
Hexane – 5% EtOAc/hexane	MG1	น้ำมันสีเหลือง	0.89
5% EtOAc/hexane	MG2	ของแข็งสีเหลืองปนน้ำตาล	3.24
5 - 20% EtOAc/hexane	MG3	ของแข็งสีน้ำตาลแดง	6.70
20% EtOAc/hexane	MG4	ของแข็งสีน้ำตาลแดง	14.35
20 - 60% EtOAc/hexane	MG5	ของแข็งสีน้ำตาลแดงเข้ม	71.41
60 - 80% EtOAc/hexane	MG6	ของแข็งสีน้ำตาล	20.03
80% EtOAc/hexane	MG7	ของแข็งสีน้ำตาล	8.44
EtOAc - 10% MeOH/EtOAc	MG8	ของแข็งสีน้ำตาล	34.34

แยกส่วนย่อยได้ทั้งสิ้น 7 ส่วน เก็บส่วนย่อย MG3, MG4 และ MG5 ที่มีสาร 1 ในปริมาณสูง (ทดสอบด้วย TLC) แยกส่วนย่อยทั้งสามซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟ (silica gel No. 7734) ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็น 15% EtOAc/hexane แยกซ้ำจนได้สารบริสุทธิ์ ($R_f = 0.13$, 20% EtOAc/hexane) ได้ปริมาณสาร 1 10.0 กรัม คิดเป็นผลได้ร้อยละ 0.1 เทียบกับน้ำหนักพืชที่ใช้สกัด ^1H และ ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร 1 แสดงไว้ในรูปที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

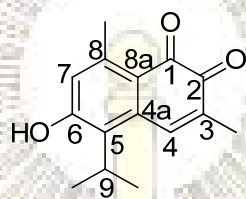


รูปที่ 3.1 ^1H NMR สเปกตรัมของสาร 1



รูปที่ 3.2 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร 1

^1H NMR สเปกตรัมของสาร **1** (รูปที่ 3.1) แสดงสัญญาณของหมู่ isopropyl ที่ δ_{H} 3.73 (m, 1H) และ 1.42 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H) หมู่ methyl อีกสองหมู่ที่ δ_{H} 2.01 (s, 3H) และ 2.50 (s, 3H) โปรตอนบนวงแอโรมาติกปรากฏสัญญาณที่ δ_{H} 6.74 (s, 1H) และโปรตอนของโอเลฟินที่ δ_{H} 7.94 (s, 1H) เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณของสาร **1** กับ mansonone G ที่มีรายงานไว้^{46,48} พบว่ามีตำแหน่ง chemical shift สอดคล้องกันทุกตำแหน่ง (ตารางที่ 3.2) สรุปได้ว่าสาร **1** คือ mansonone G



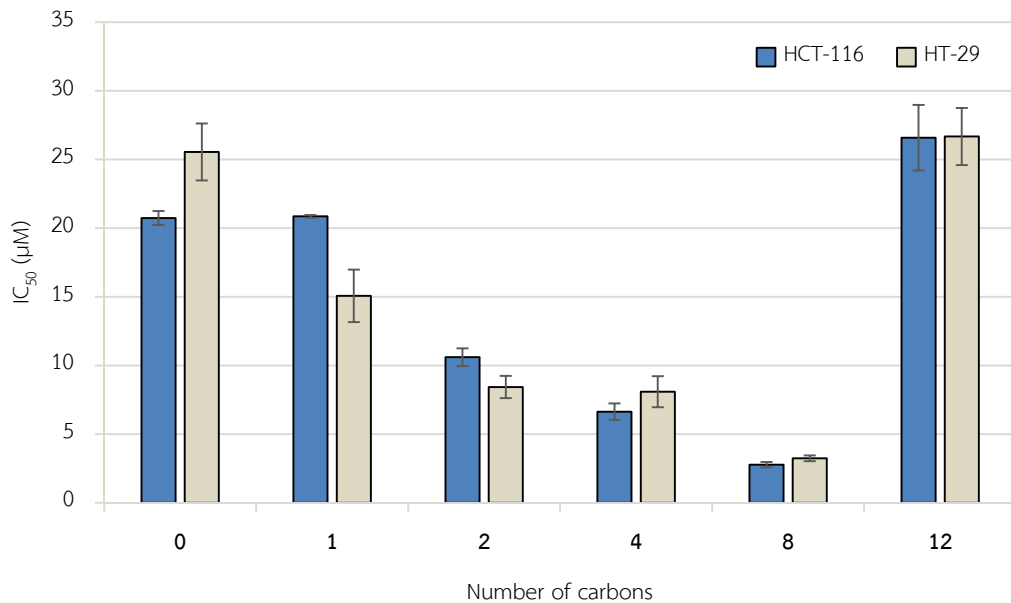
mansonone G (1)

ตารางที่ 3.2 NMR chemical shift assignment ของ mansonone G^{46,48} และสาร 1

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)			
	mansonone G ^{46,48}		สาร 1	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	180.9	-	181.0
2	-	182.9	-	183.0
3	-	136.8	-	136.3
4	7.87 (s, 1H)	138.7	7.94 (s, 1H)	138.7
4a	-	135.8	-	135.8
5	-	133.2	-	133.3
6	-	162.6	-	162.6
7	6.64 (s, 1H)	120.5	6.74 (s, 1H)	120.6
8	-	145.9	-	145.9
8a	-	123.5	-	123.6
9	3.63 (m, 1H)	27.5	3.73 (m, 1H)	27.6
3-CH ₃	1.95 (s, 3H)	15.7	2.01 (s, 3H)	15.7
8-CH ₃	2.45 (s, 3H)	21.3	2.50 (s, 3H)	21.4
9-(CH ₃) ₂	1.34 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 6H)	23.2	1.42 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 6H)	23.2

3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G

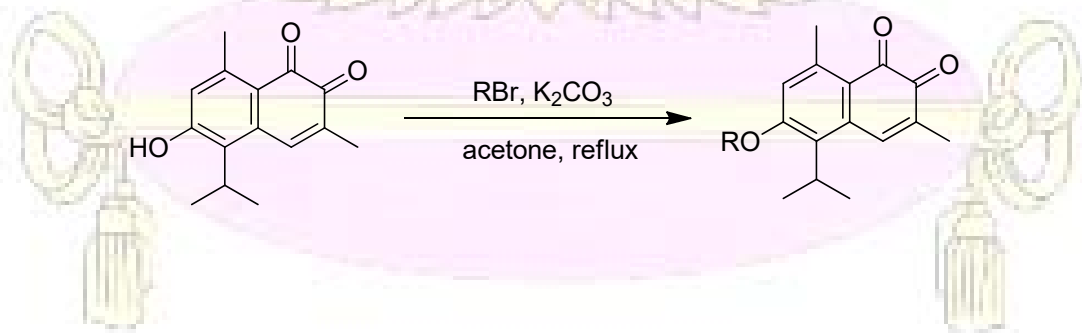
จากงานวิจัยก่อนหน้าของ Hairani และคณะ⁴⁹ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G โดยเพิ่มจำนวนคาร์บอนของโซ่ตรงในอนุพันธ์ ได้แก่ หนึ่ง สอง สี่ หก แปดและสิบสอง คาร์บอน และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดีอยา HT-29 พบแนวโน้มดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 จำนวนคาร์บอนในสายโซ่แอลคิลของ mansonone G และค่า IC₅₀ ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29⁴⁹

จะเห็นว่าแนวโน้มดังกล่าวยังไม่สมบูรณ์เนื่องจากจำนวนคาร์บอนในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นพิษมีช่วงกว้าง ทำให้เห็นแนวโน้มของความเป็นพิษไม่ชัดเจน งานวิจัยนี้จึงสังเคราะห์สาร 2 ที่มีจำนวนคาร์บอนในสายแอลคิลเป็นสิบ นอกจากนี้ เนื่องจากยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของอนุพันธ์ mansonone G ที่มีจำนวนคาร์บอนในสายโซ่เท่ากันแต่มีหมู่ฟังก์ชันบนสายโซ่ต่างกัน จึงนำมาสู่การสังเคราะห์สาร 3-7

การสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G อาศัยปฏิกิริยาระหว่าง mansonone G และแอลคิลโบรไมด์ที่สนใจ 6 ชนิด ได้แก่ 1-bromodecane, allyl bromide, 3,3-dimethylallyl bromide, cinnamyl bromide, 1,3-dibromopropane และ methyl bromoacetate (สาร **a**) ตามลำดับ โดยมี K₂CO₃ เป็นรีเอเจนต์ เกิดปฏิกิริยาผ่านกลไกปฏิกิริยาแบบ S_N2

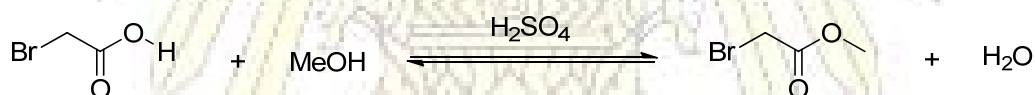


เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ (ทดสอบด้วย TLC) แยกของผสมจากปฏิกิริยาด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์ ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 20% EtOAc/hexane ได้สารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ และมีร้อยละผลได้ แสดงไว้ในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ร้อยละผลได้และลักษณะทางกายภาพของสาร 2-7

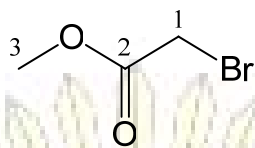
สาร	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ร้อยละผลได้
2	ของเหลวกึ่งแข็งสีส้มแดง	30	19.5
3	ของแข็งสีส้มแดง	41	35.2
4	ของแข็งสีส้มแดง	28	21.9
5	ของแข็งสีส้มแดง	62	42.0
6	ของแข็งสีส้มแดง	31	20.7
7	ของแข็งสีส้มแดง	73	56.3

การสังเคราะห์สาร **a**⁵⁰ เตรียมได้จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างกรดโบโรแมซิติกกับ MeOH โดยมีกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



รีฟลักซ์ของผสมเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน สกัดด้วยกรวยแยก โดยเติมสารละลาย NaHCO_3 อิมิตัว สกัดด้วย diethyl ether เก็บชั้นสารอินทรีย์ เติม anhydrous Na_2SO_4 ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิค NMR และ MS

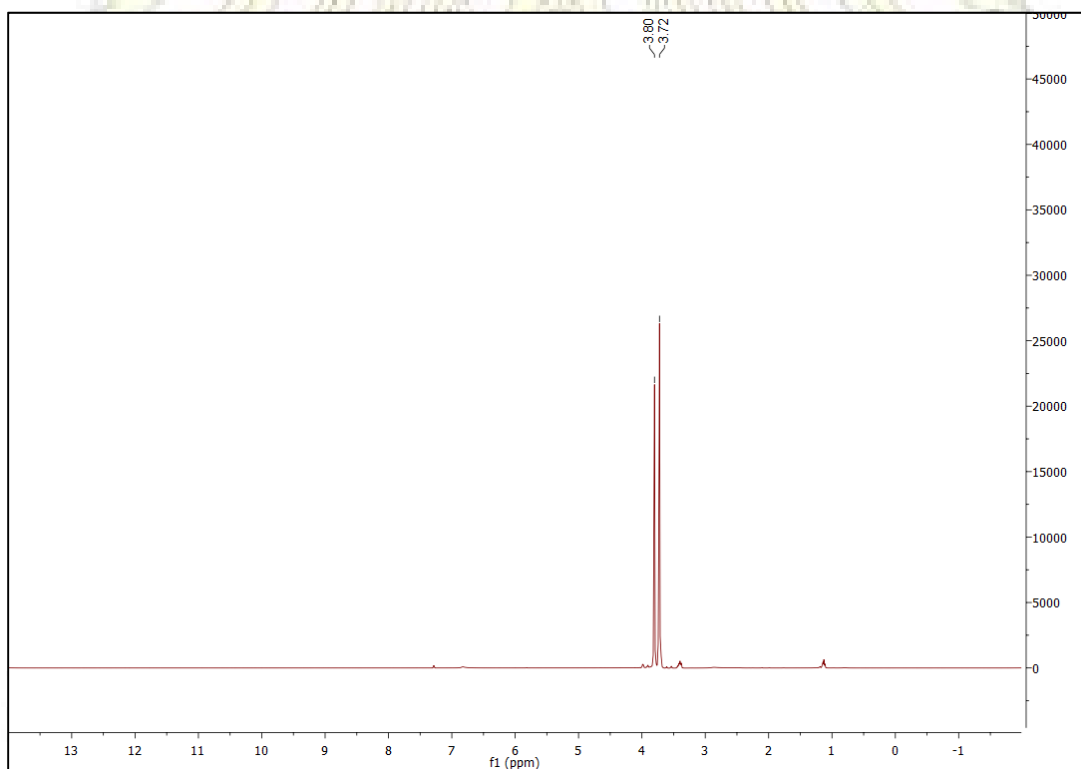
^1H NMR สเปกตรัมของสาร **a** (รูปที่ 3.4) แสดงค่าสัญญาณของหมู่ methylene ที่ต่ออยู่กับ bromine ที่ δ_{H} 3.80 (s, 2H) และหมู่ methyl ที่ 3.72 (s, 3H) ppm เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณของสาร **a** กับ methyl bromoacetate ที่มีรายงานไว้⁵⁰ พบว่ามีตำแหน่ง chemical shift สอดคล้องกันทุกตำแหน่ง (ตารางที่ 3.4) สรุปได้ว่าสาร **a** คือ methyl bromoacetate



methyl bromoacetate (a)

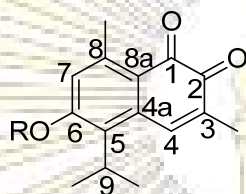
ตารางที่ 3.4 NMR chemical shift assignment ของ methyl bromoacetate⁵⁰ และสาร a

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	Methyl bromoacetate ⁵⁰	สาร a
1	3.86 (s, 2H)	3.80 (s, 2H)
3	3.79 (s, 3H)	3.72 (s, 3H)



รูปที่ 3.4 ¹H NMR สเปกตรัมของสาร a

สาร 2-7 เป็นอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ^1H และ ^{13}C NMR สเปกตรัมของอนุพันธ์ แสดงสัญญาณที่สอดคล้องกันทุกตำแหน่งกับ mansonone G (1) แต่มีความแตกต่างของสัญญาณที่เกิดจาก หมู่แทนที่ที่ต่างกัน ^1H และ ^{13}C NMR สเปกตรัมของสาร 2-7 แสดงไว้ในรูปที่ 3.5-3.22 การเปรียบเทียบ ^1H และ ^{13}C NMR chemical shift ของสารที่สังเคราะห์ได้ 2-7 แสดงไว้ในตารางที่ 3.5-3.8 ตามลำดับ



- (2) R = decyl
- (3) R = allyl
- (4) R = 3,3-dimethylallyl
- (5) R = cinnamyl
- (6) R = bromopropyl
- (7) R = methyl acetate

ตารางที่ 3.5 ^1H NMR chemical shift assignment ของสาร 2-4

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)		
	สาร 2	สาร 3	สาร 4
4	7.73 (s, 1H)	7.71 (s, 1H),	7.71 (s, 1H)
7	6.62 (s, 1H)	6.59 (s, 1H)	6.59 (s, 1H)
9	3.61 (m, 1H)	3.60 (m, 1H)	3.58 (m, 1H)
3-CH ₃	2.08 (s, 3H)	2.05 (s, 3H)	2.05 (s, 3H)
8-CH ₃	2.65 (s, 3H)	2.61 (s, 3H)	2.62 (s, 3H)
9-(CH ₃) ₂	1.41 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H)	1.39 (d, $J = 7.1$ Hz, 6H)	1.36 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H)
6-OR	decyl 4.07 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.88 (m, 2H), 1.53 (m, 2H), 1.28 (m, 12H), 0.91 (t, $J = 6.0$ Hz, 3H)	allyl 4.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 5.34 (m, 1H), 5.44 (m, 1H), 6.07 (m, 1H)	3,3-dimethylallyl 1.76 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 4.60 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 5.48 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H)

ตารางที่ 3.6 ^{13}C NMR chemical shift assignment ของสาร 2-4

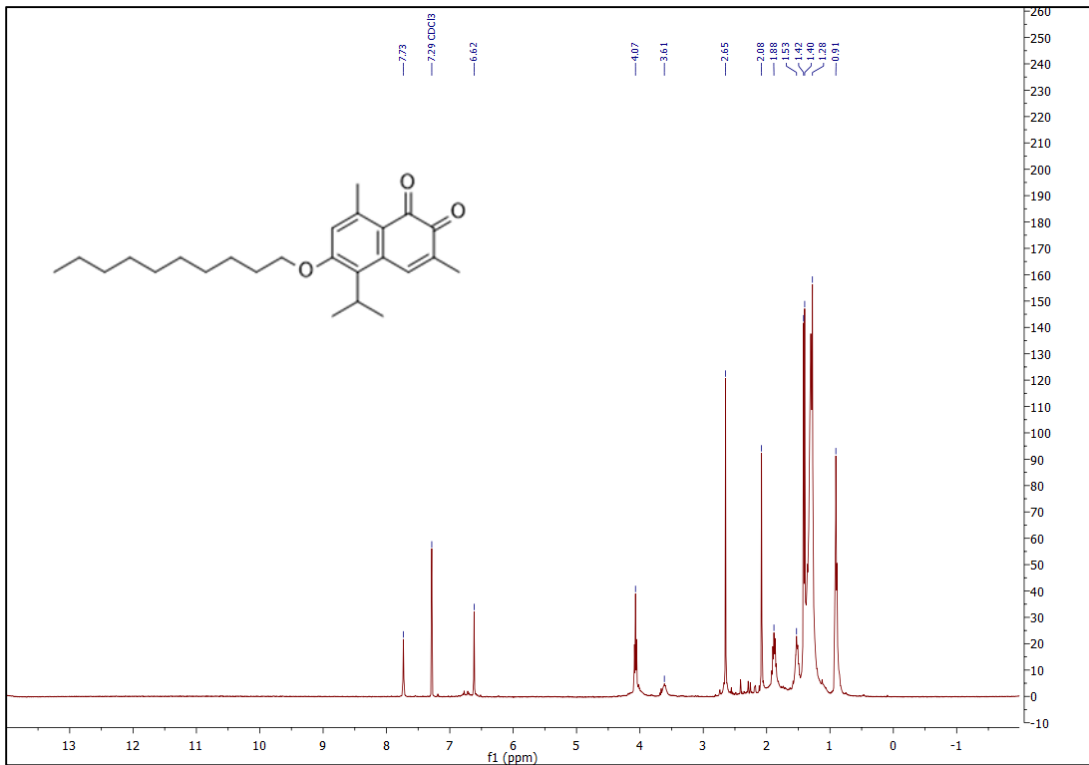
ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)		
	สาร 2	สาร 3	สาร 4
1	180.5	180.7	180.7
2	182.6	182.6	182.8
3	134.5	134.8	134.8
4	138.4	138.5	138.6
4a	134.3	132.3	134.7
5	122.8	123.2	123.0
6	168.2	162.3	162.8
7	115.5	116.1	116.0
8	146.5	146.6	146.6
8a	122.8	122.4	120.5
9	26.2	27.0	27.1
3-CH ₃	16.1	16.2	16.2
8-CH ₃	21.4	21.4	21.5
9-(CH ₃) ₂	23.7	23.8	23.8
6-OR	decyl 68.6, 31.9, 29.7, 29.5, 29.3, 29.2, 29.0, 22.7 20.6, 14.1	allyl 69.3, 118.4, 134.6	3,3-dimethylallyl 65.5, 25.9, 23.9, 18.5, 135.1, 138.9

ตารางที่ 3.7 ¹H NMR chemical shift assignment ของสาร 5-7

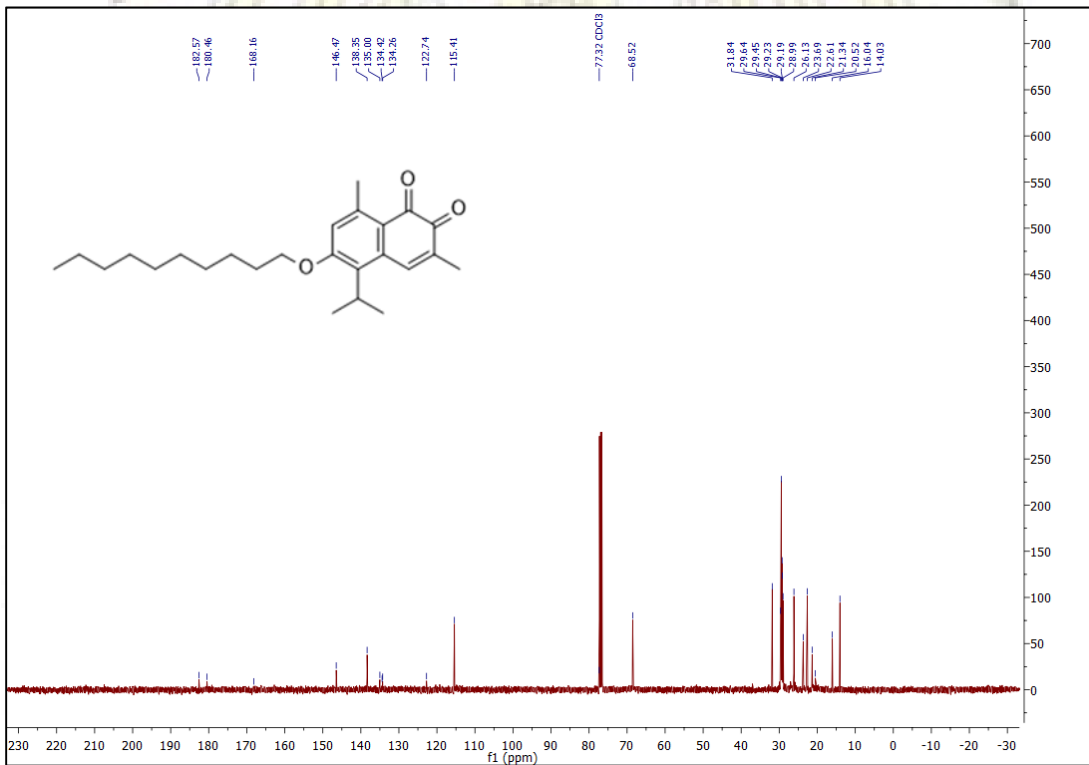
ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)		
	สาร 5	สาร 6	สาร 7
4	7.72 (s, 1H)	7.64 (s, 1H)	7.75 (s, 1H)
7	6.76 (s, 1H)	6.57 (s, 1H)	6.48 (s, 1H)
9	3.63 (m, 1H)	3.53 (m, 2H)	3.65 (m, 1H)
3-CH ₃	2.06 (s, 3H)	1.99 (s, 3H)	2.09 (s, 3H)
8-CH ₃	2.64 (s, 3H)	2.56 (s, 3H)	2.64 (s, 3H)
9-(CH ₃) ₂	1.42 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 6H)	1.31 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 6H)	1.45 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 6H)
6-OR	cinnamyl 4.80 (m, 2H), 6.76 (m, 1H), 6.42 (m, 1H), 7.37 (m, 5H)	3-bromopropyl 4.16 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 3.57 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2H), 2.34 (m, 2H)	methyl acetyl 4.75 (s, 2H), 3.86 (s, 3H)

ตารางที่ 3.8 ^{13}C NMR chemical shift assignment ของสาร 5-7

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)		
	สาร 5	สาร 6	สาร 7
1	180.7	180.5	180.6
2	182.7	182.5	182.3
3	135.3	138.3	135.4
4	138.5	140.3	138.2
4a	134.7	135.2	134.9
5	126.8	134.1	134.7
6	162.2	162.1	168.1
7	116.1	115.6	115.3
8	146.5	146.4	146.1
8a	123.3	119.1	119.0
9	27.2	29.5	29.7
3-CH ₃	16.2	16.1	16.1
8-CH ₃	21.6	21.5	21.2
9-(CH ₃) ₂	23.9	23.7	23.7
6-OR	cinnamyl 69.3, 128.4, 128.8, 134.1, 134.8, 135.3	3-bromopropyl 66.0, 52.2, 32.0	methyl acetyl 168.7, 79.0, 64.9



รูปที่ 3.5 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสาร 2



รูปที่ 3.6 $^{13}\text{C NMR}$ สเปกตรัมของสาร 2

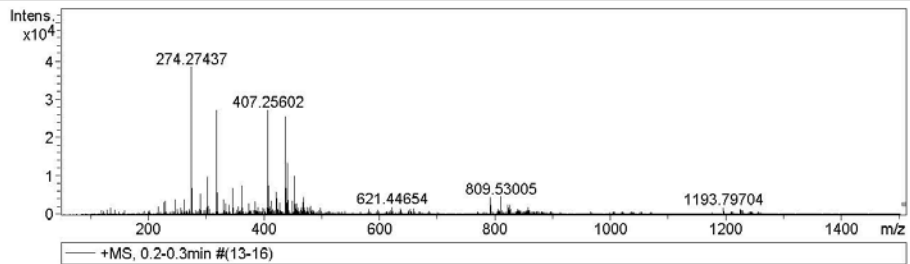
Mass Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name	D:\Data\Data Service\180420_pos_KL002.d	Acquisition Date	4/20/2018 9:30:33 AM
Method	NV_pos_0.3min_profile_1segment_lowNubulizerDrygas.m	Operator	CU.
Sample Name	180420_pos_KL002	Instrument / Ser#	micrOTOF-Q II 10335
Comment			

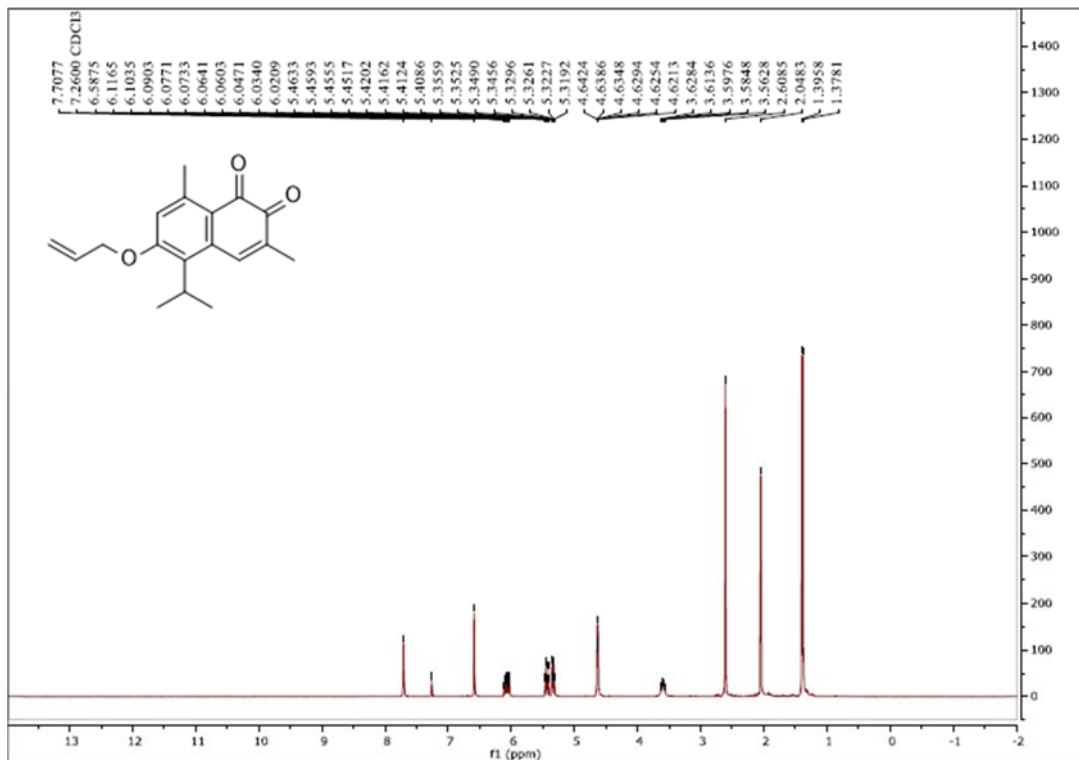
Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4000 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set Collision Cell RF	150.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste

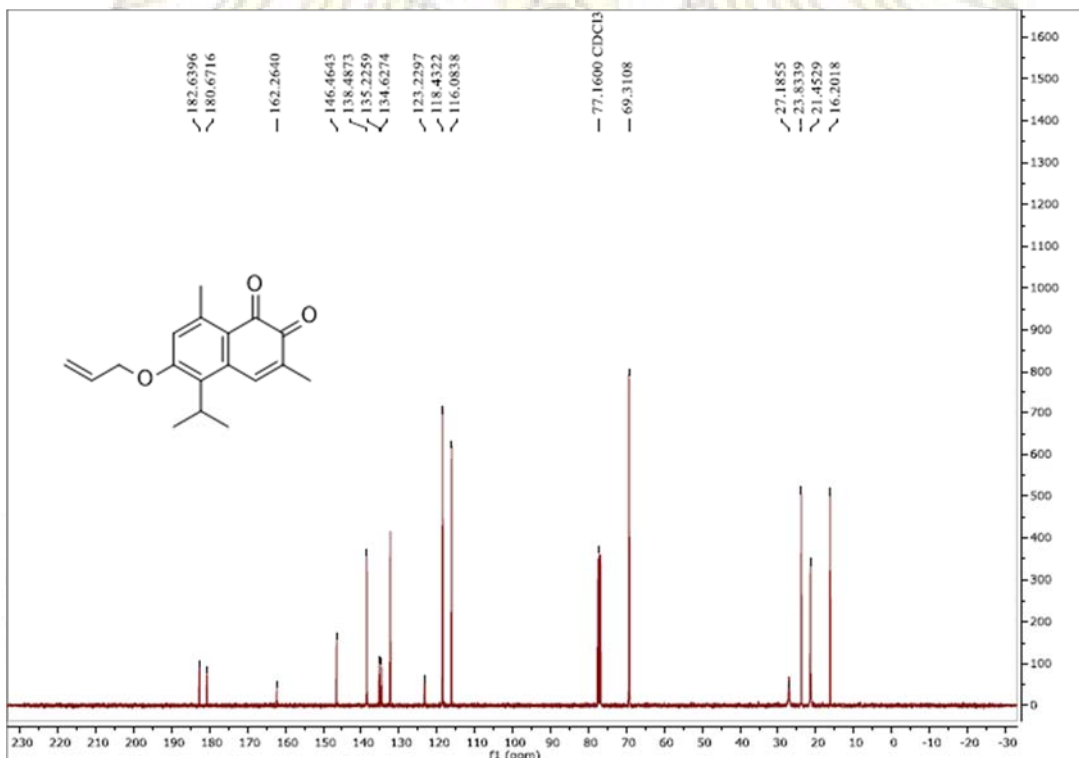


#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	226.95163	7422	1107.8	3047	0.03058
2	230.24792	7427	1283.6	3530	0.03100
3	246.24244	7810	1405.5	3865	0.03153
4	262.23810	7857	1371.0	3770	0.03338
5	274.27437	7909	13876.6	38161	0.03468
6	275.27765	8037	2454.0	6749	0.03425
7	290.26903	7937	1928.4	5303	0.03657
8	302.30545	8331	3514.5	9665	0.03629
9	318.30017	8222	9810.8	26980	0.03871
10	319.30278	8393	2039.5	5609	0.03805
11	330.33601	8501	1419.4	3903	0.03886
12	346.33138	8832	2424.8	6668	0.03921
13	362.32609	8589	2687.7	7391	0.04218
14	385.26196	5099	1172.7	3225	0.07555
15	407.25602	9227	9821.5	27009	0.04414
16	408.25916	9096	2706.3	7442	0.04489
17	413.26333	8929	1300.6	3577	0.04628
18	421.23482	9226	2097.6	5769	0.04566
19	423.24017	7652	1498.4	4121	0.05531
20	437.19465	8980	9233.2	25391	0.04869
21	438.19847	9328	2456.9	6757	0.04698
22	439.23924	5211	1077.9	2964	0.08429
23	441.26240	8747	4841.1	13313	0.05045
24	442.26533	8655	1321.7	3635	0.05110
25	449.19564	8880	1263.5	3475	0.05058
26	453.17004	8987	3553.5	9772	0.05042
27	467.27888	8060	1095.9	3014	0.05797
28	469.28882	8988	1570.8	4320	0.05221
29	791.52202	11006	1606.0	4417	0.07192
30	809.53005	11378	1633.6	4493	0.07115

รูปที่ 3.7 HRMS ของสาร 2



รูปที่ 3.8 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสาร 3



รูปที่ 3.9 $^{13}\text{C NMR}$ สเปกตรัมของสาร 3

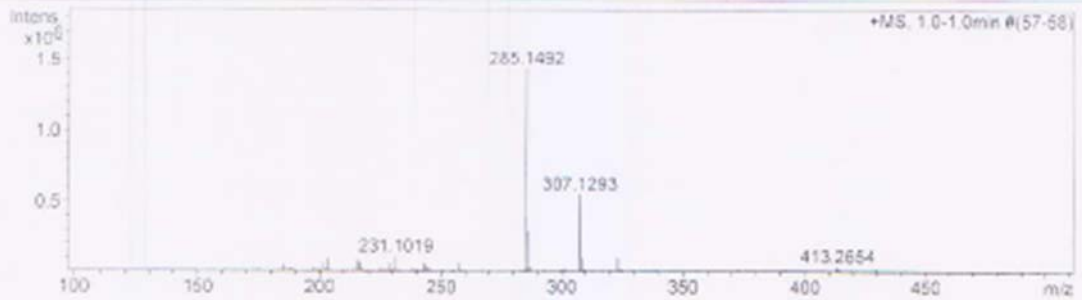
Mass Spectrum List Report

Analysis Info

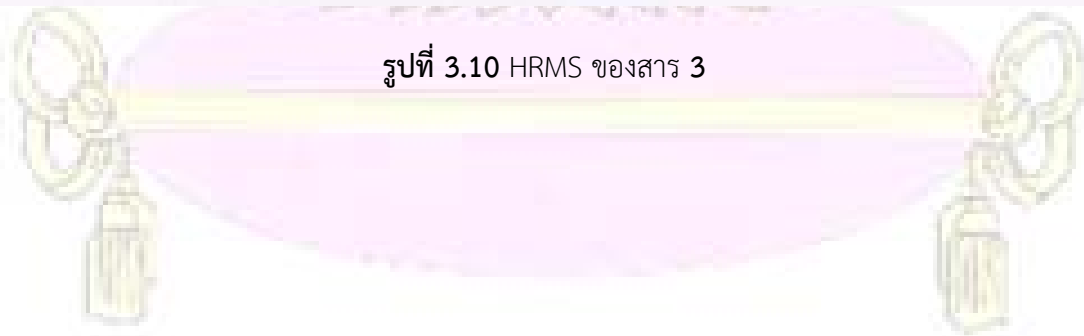
Analysis Name: OSCURH1590508002.d	Acquisition Date: 5/8/2016 3:08:33 PM
Method: Tune_low_POS_Natee20130403.m	Operator: Administrator
Sample Name: G-07	Instrument: microTOF 72

Acquisition Parameter

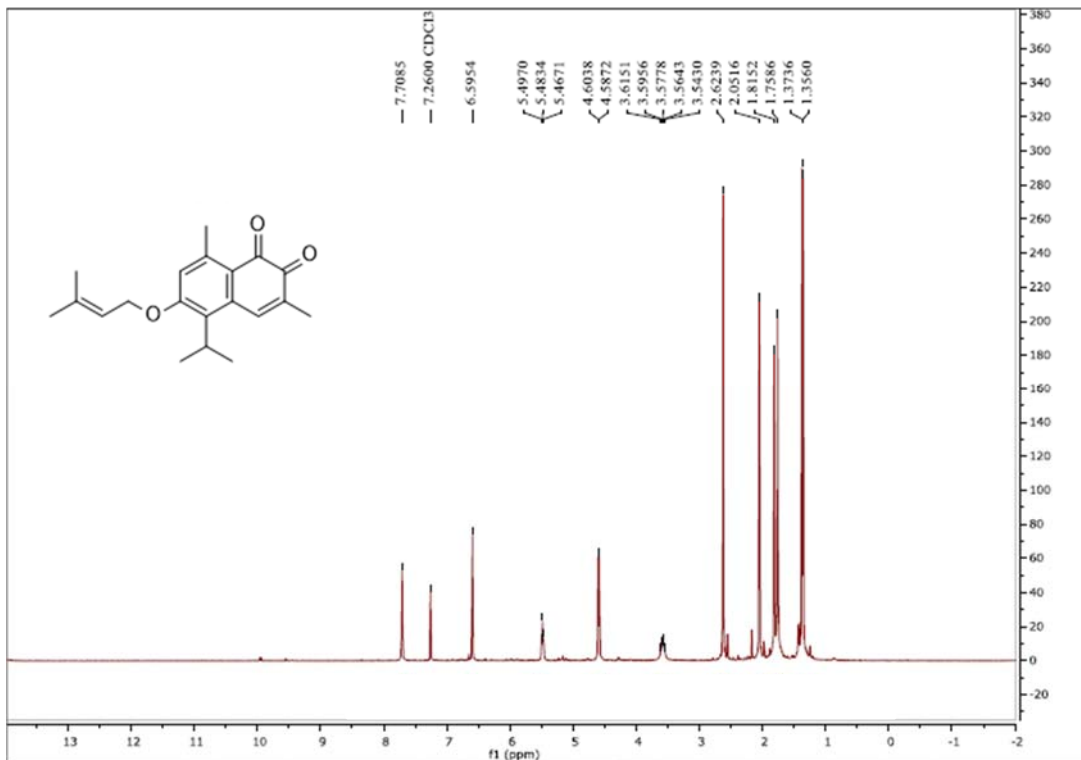
Source Type: ESI	Ion Polarity: Positive	Set Corrector Fill: 50 V
Scan Range: n/a	Capillary Ext: 180.0 V	Set Pulsar Pul: 337 V
Scan Begin: 50 m/z	Hexapole RF: 150.0 V	Set Pulsar Push: 337 V
Scan End: 3000 m/z	Skimmer 1: 45.0 V	Set Reflector: 1300 V
	Hexapole 1: 24.3 V	Set Flight Tube: 9000 V
		Set Detector TOF: 2265 V



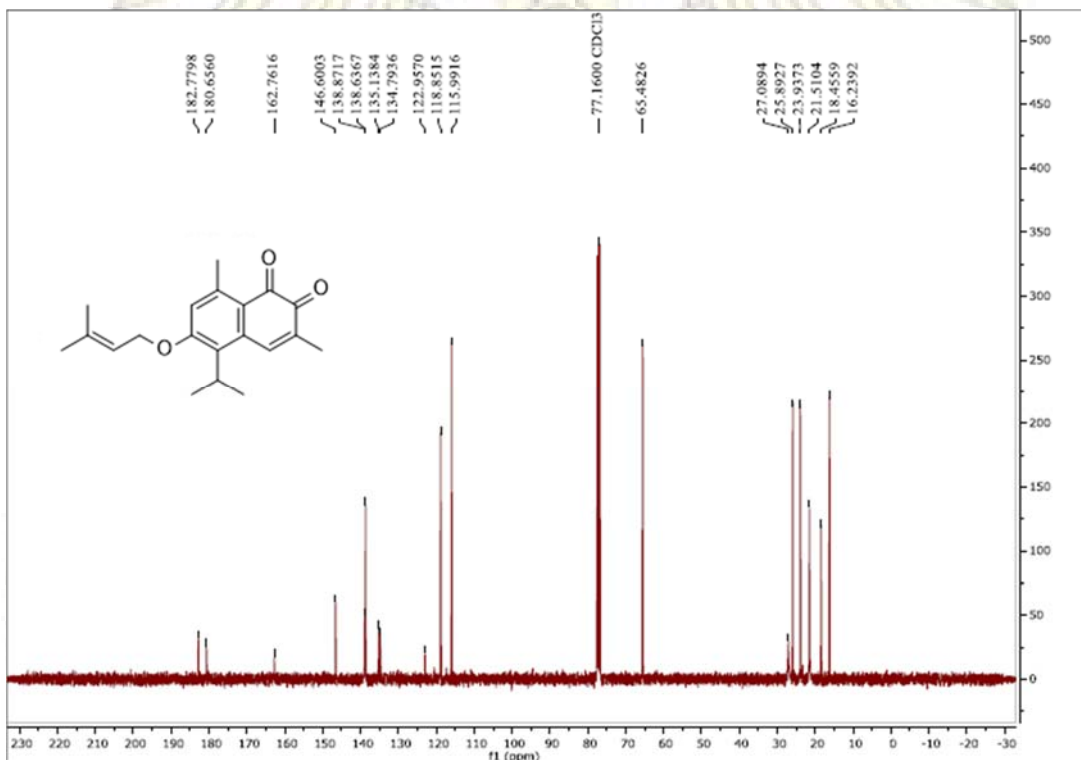
#	m/z	I	I%	S/N	FWHM	Res.
1	185.0940	49433	3.4	69.6	0.0497	3726
2	188.0658	21622	1.5	30.2	0.0642	2928
3	197.0943	32873	2.3	46.4	0.0530	3717
4	201.0909	70337	4.9	99.9	0.0560	3590
5	202.1064	20394	1.4	28.6	0.0808	2507
6	203.1047	96518	6.6	136.0	0.0543	3744
7	215.1061	75931	5.6	114.4	0.0568	3789
8	216.1124	66868	4.6	95.6	0.0557	3879
9	217.1164	26236	2.0	41.5	0.0594	3654
10	225.0933	21073	1.5	29.9	0.0658	3418
11	229.0896	56257	4.0	83.7	0.0672	3408
12	231.1019	108834	7.6	157.0	0.0579	3989
13	238.0388	21668	1.5	30.9	0.0595	4004
14	243.1036	81634	4.3	89.2	0.0640	3788
15	244.1092	37168	2.6	53.5	0.0616	3963
16	245.1171	34300	2.4	49.4	0.0615	3987
17	257.1658	67037	4.7	97.6	0.0645	3987
18	285.1492	1438555	100.0	2137.9	0.0665	4289
19	286.1622	290376	19.9	425.2	0.0624	4584
20	287.1533	36684	2.6	53.8	0.0649	4423
21	301.1404	26026	1.8	38.2	0.0653	4612
22	307.1293	549544	38.2	825.0	0.0651	4720
23	308.1322	103311	7.2	154.5	0.0654	4709
24	323.1032	104344	7.3	157.2	0.0663	4874
25	324.1064	21464	1.5	31.6	0.0644	5035
26	413.2654	39775	2.8	62.4	0.0654	4837
27	622.0312	88366	6.1	157.2	0.1238	5023
28	622.0119	88281	6.1	171.8	0.1817	5073
29	623.0125	19509	1.4	37.2	0.1789	5159
30	1521.9811	31736	2.2	63.4	0.3063	4970



รูปที่ 3.10 HRMS ของสาร 3



รูปที่ 3.11 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสาร 4



รูปที่ 3.12 $^{13}\text{C NMR}$ สเปกตรัมของสาร 4

Mass Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name: OSRH590324002.d
 Method: Tune_wide_POS_Tawatchai_06Feb2016.m
 Sample Name: G-08

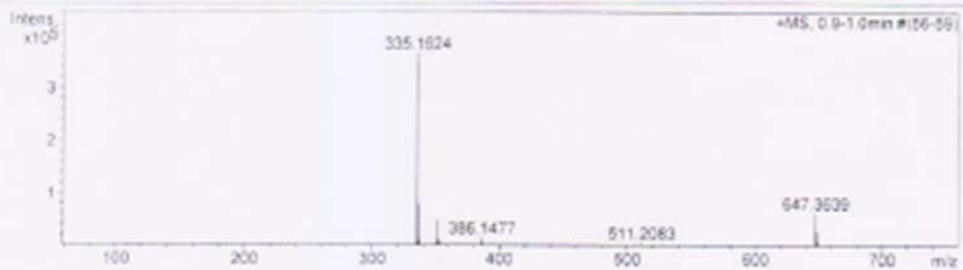
Acquisition Date: 3/24/2016 1:18:34 PM
 Operator: Administrator
 Instrument: micrOTOF 72

Acquisition Parameter

Source Type: ESI
 Scan Range: n/a
 Scan Begin: 50 m/z
 Scan End: 3000 m/z

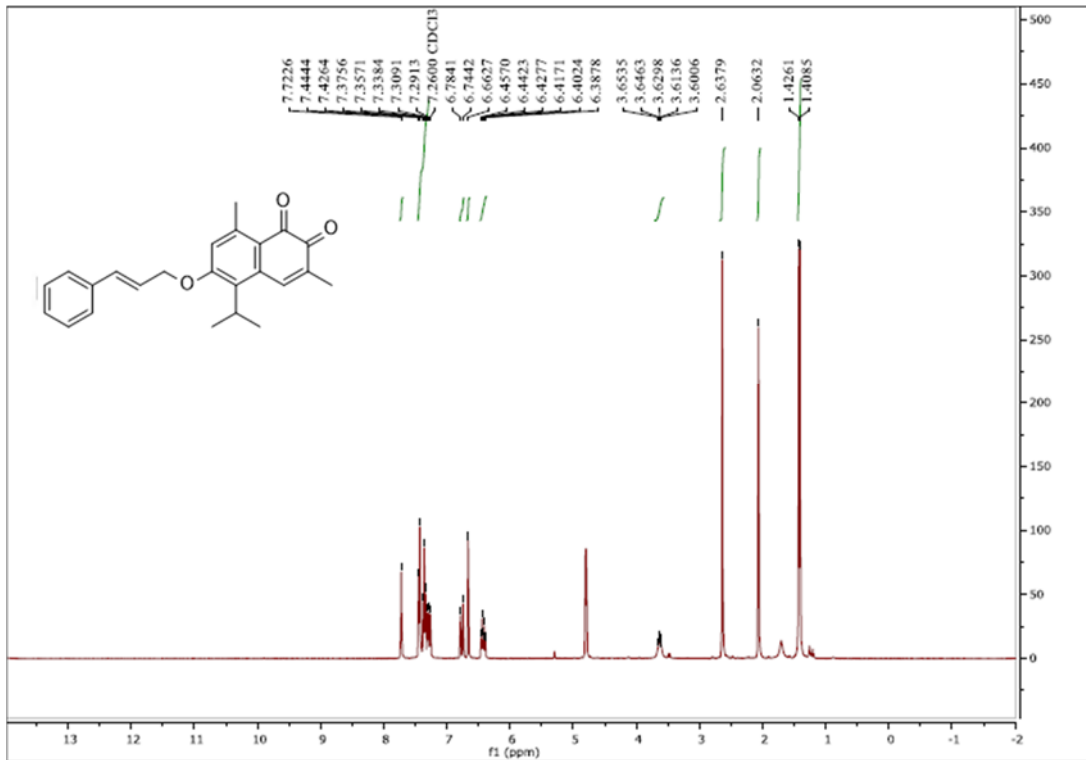
Ion Polarity: Positive
 Capillary Exit: 200.0 V
 Hexapole RF: 400.0 V
 Skimmer 1: 75.0 V
 Hexapole 1: 25.0 V

Set Corrector Fil: 50 V
 Set Pulsar Pull: 337 V
 Set Pulsar Push: 337 V
 Set Reflector: 1300 V
 Set Flight Tube: 9000 V
 Set Detector TOF: 2295 V

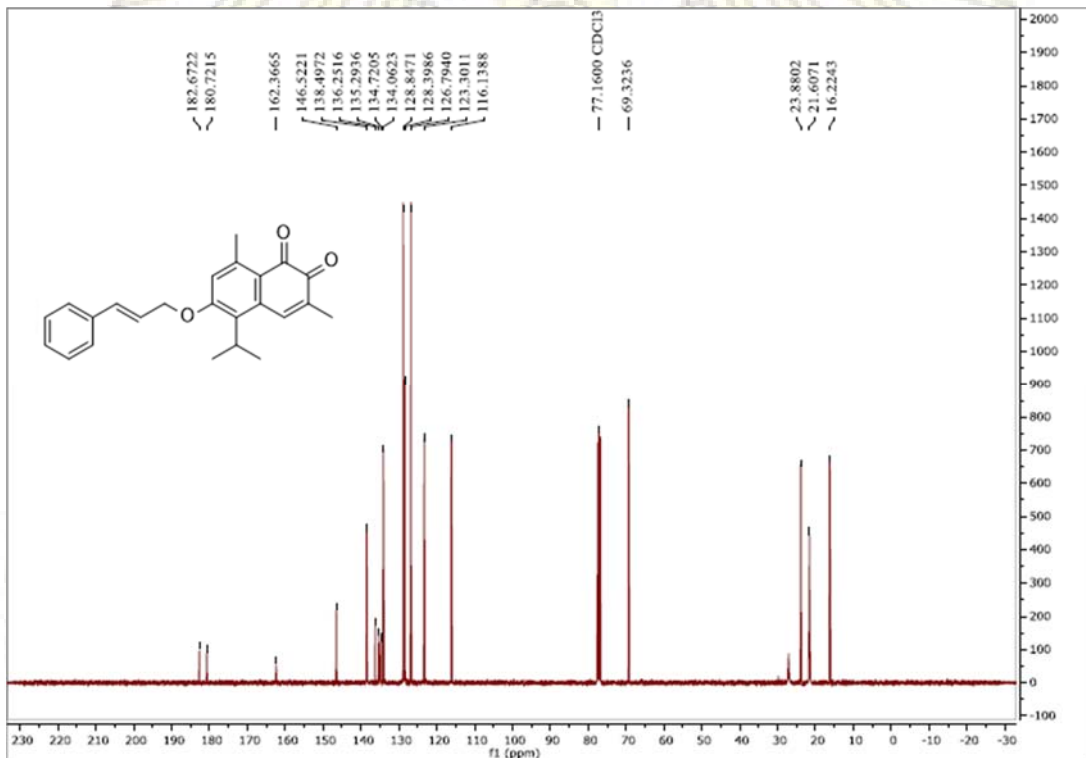


#	m/z	I	I%	S/N	FWHM	Res.
1	145.0541	4038	1.1	9.3	0.0097	14995
2	335.1824	365752	100.0	958.4	0.0670	5004
3	336.1662	78058	21.3	204.3	0.0673	4995
4	337.1679	11828	3.2	30.7	0.0671	5022
5	349.1446	5968	1.6	14.3	0.0767	4613
6	351.1411	48715	13.3	128.1	0.0717	4695
7	352.1440	11304	3.1	29.4	0.0764	4671
8	353.1403	4703	1.3	12.0	0.0802	4404
9	357.1424	4754	1.3	12.1	0.0867	4168
10	386.1477	16274	4.4	42.9	0.0707	5458
11	386.6484	8129	2.2	21.2	0.0842	4391
12	511.2083	6765	1.8	18.0	0.0961	5318
13	527.1886	4480	1.2	11.8	0.1110	4749
14	647.3639	63594	17.4	179.4	0.1343	4820
15	648.3682	27790	7.6	78.1	0.1367	4745
16	649.3714	7346	2.0	20.3	0.1312	4951
17	951.8412	4966	1.4	13.0	0.0209	45473
18	951.9001	3965	1.1	10.5	0.0224	42538
19	1207.1383	4496	1.2	11.8	0.0236	51211
20	1443.0416	5082	1.4	13.1	0.0282	55155
21	1443.2671	3914	1.1	10.1	0.0347	41676
22	1666.9505	3978	1.1	10.4	0.0280	60729
23	1864.2220	4385	1.2	11.4	0.0298	62696
24	1864.4760	4050	1.1	10.5	0.0338	55184
25	2339.2955	5635	1.5	14.5	0.0330	70974
26	2339.4641	3685	1.1	10.4	0.0607	38520
27	2531.2638	4675	1.3	12.4	0.0352	71846
28	2956.4894	4115	1.1	11.0	0.0453	63274
29	2938.0369	4737	1.3	12.6	0.0377	77968
30	2938.2840	3686	1.1	10.6	0.0409	71683

รูปที่ 3.13 HRMS ของสาร 4



รูปที่ 3.14 ¹H NMR สเปกตรัมของสาร 5



รูปที่ 3.15 ¹³C NMR สเปกตรัมของสาร 5

Mass Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name: OSCURH1590508003.d
 Method: Tune_low_POS_Natee20130403.m
 Sample Name: G-10
 G-10

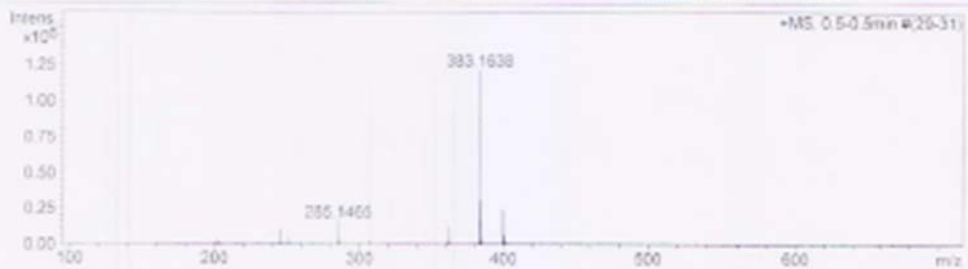
Acquisition Date: 5/8/2016 3:16:58 PM
 Operator: Administrator
 Instrument: micrOTOF 72

Acquisition Parameter

Source Type: ESI
 Scan Range: n/a
 Scan Begin: 50 m/z
 Scan End: 3000 m/z

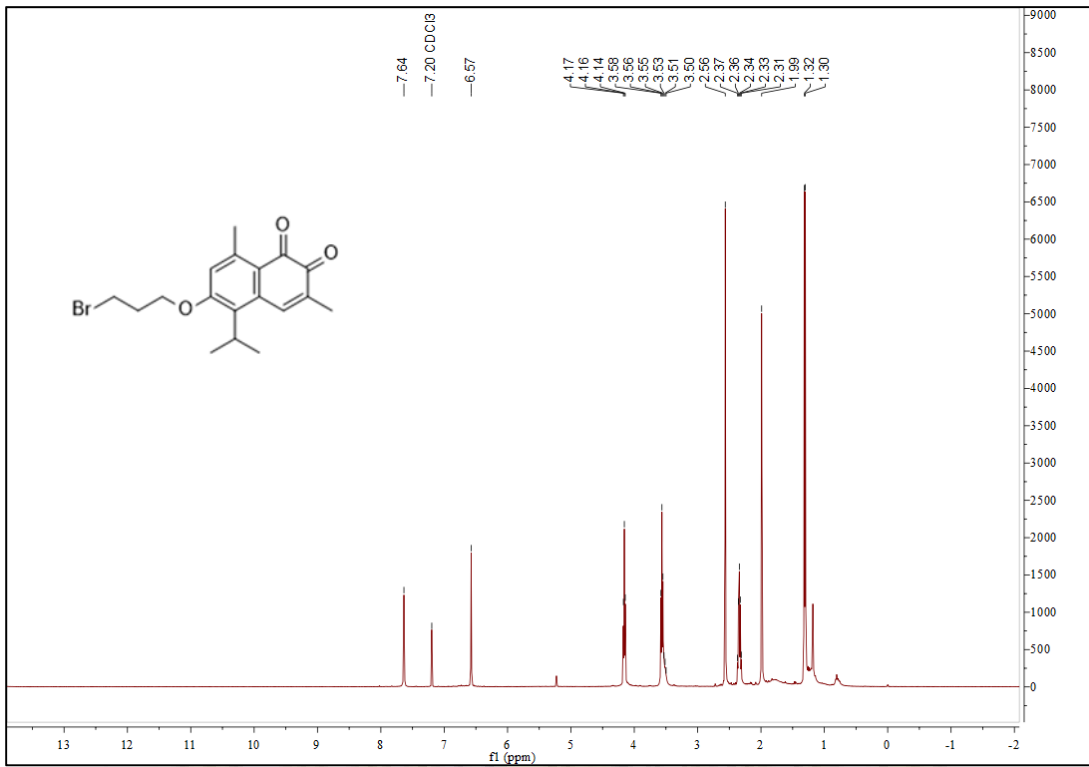
Ion Polarity: Positive
 Capillary Exit: 180.0 V
 Hexapole RF: 150.0 V
 Skimmer 1: 45.0 V
 Hexapole 1: 24.3 V

Set Corrector Fil: 50 V
 Set Pulsar Pull: 337 V
 Set Pulsar Push: 337 V
 Set Reflector: 1300 V
 Set Flight Tube: 9000 V
 Set Detector TCF: 2255 V

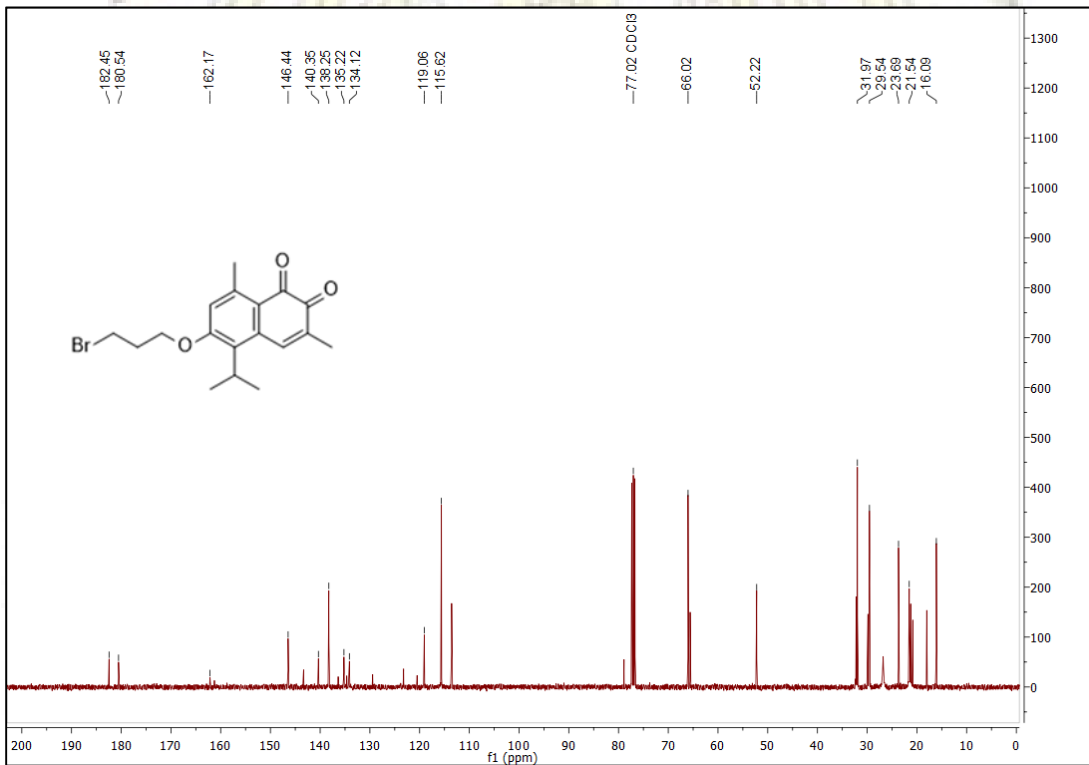


#	m/z	I	I%	S/N	FWHM	Res.
1	201.0990	12743	1.1	21.2	0.0569	3535
2	202.1313	26028	2.1	43.8	0.0499	4052
3	203.1119	11120	0.9	18.5	0.0666	3042
4	217.1213	12267	1.0	20.6	0.0574	3782
5	231.1030	13052	1.1	23.2	0.0565	4089
6	245.1167	103250	8.8	179.6	0.0529	6631
7	245.1205	10941	1.0	32.5	0.0503	4892
8	251.0670	42048	3.5	73.1	0.0552	4550
9	257.1662	13602	1.1	23.4	0.0509	4231
10	266.0897	15079	1.2	26.1	0.0584	4560
11	267.0990	9042	0.8	16.8	0.0668	4001
12	285.1465	159717	13.2	285.0	0.0586	4865
13	286.1497	32434	2.7	57.4	0.0582	4913
14	307.1297	33747	2.8	60.5	0.0646	4752
15	317.1688	10162	0.8	17.9	0.0577	4683
16	351.1801	123060	10.1	230.3	0.0720	5018
17	362.1831	33204	2.7	61.7	0.0725	4995
18	382.9081	8464	0.7	15.3	0.2023	1267
19	383.1638	1213302	100.0	2310.3	0.0736	4815
20	384.1657	305122	25.1	580.8	0.0761	5061
21	385.1686	45970	3.8	86.2	0.0779	4943
22	399.1378	245891	20.3	472.6	0.0810	4906
23	400.1404	64309	5.3	123.1	0.0784	5107
24	401.1412	27356	2.3	52.0	0.0813	4923
25	403.2263	13885	1.1	25.1	0.0818	4929
26	743.3425	340384	28.1	768.5	0.1482	5015
27	744.3458	176690	14.6	398.5	0.1497	4972
28	745.3491	50581	4.2	113.3	0.1485	5018
29	746.3513	10288	0.8	22.2	0.1567	4704
30	763.4035	11657	1.0	25.4	0.1503	5079

รูปที่ 3.16 HRMS ของสาร 5



รูปที่ 3.17 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสาร 6



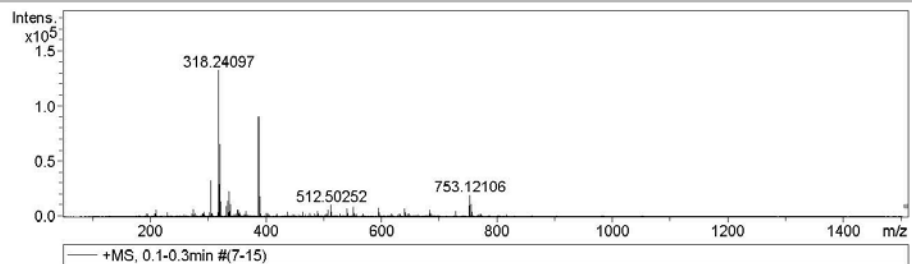
รูปที่ 3.18 $^{13}\text{C NMR}$ สเปกตรัมของสาร 6

Mass Spectrum List Report

Analysis Info		Acquisition Date	1/12/2018 2:20:35 PM
Analysis Name	D:\Data\Data Service\180112_N7.d	Operator	CU.
Method	NV_pos_0.3min_profile_1segment_lowNubulizerDrygas.m	Instrument / Ser#	micrOTOF-Q II 10335
Sample Name	180112_N7		
Comment			

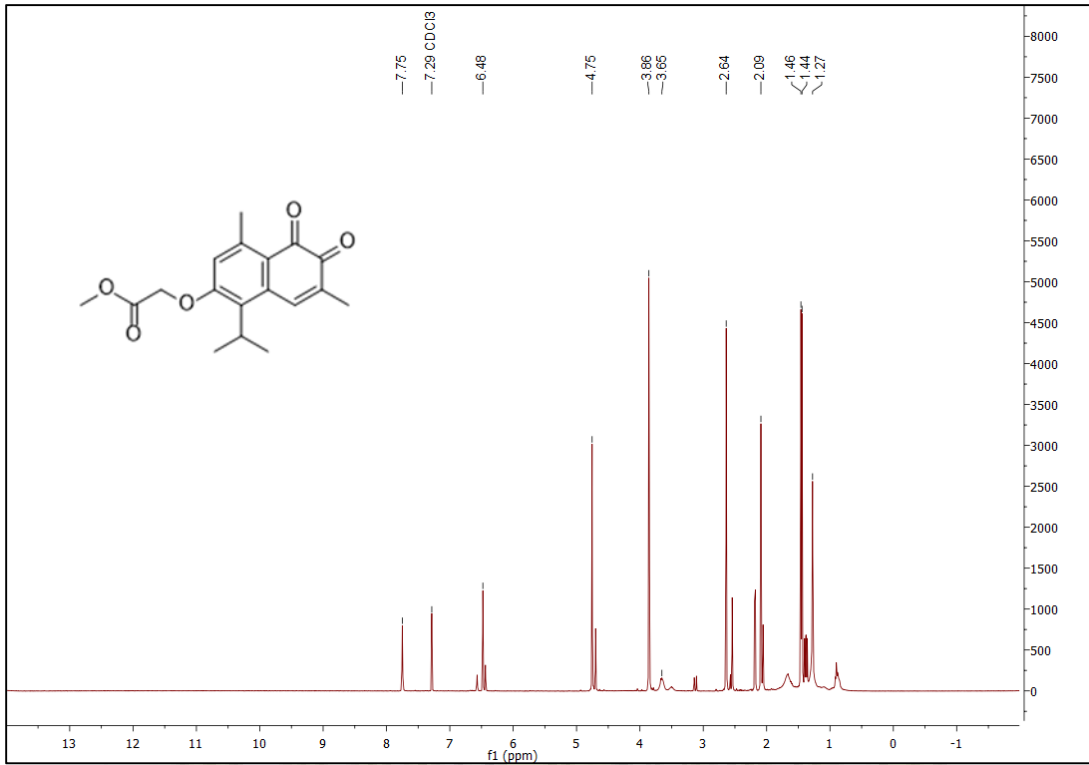
Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4000 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set Collision Cell RF	150.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste

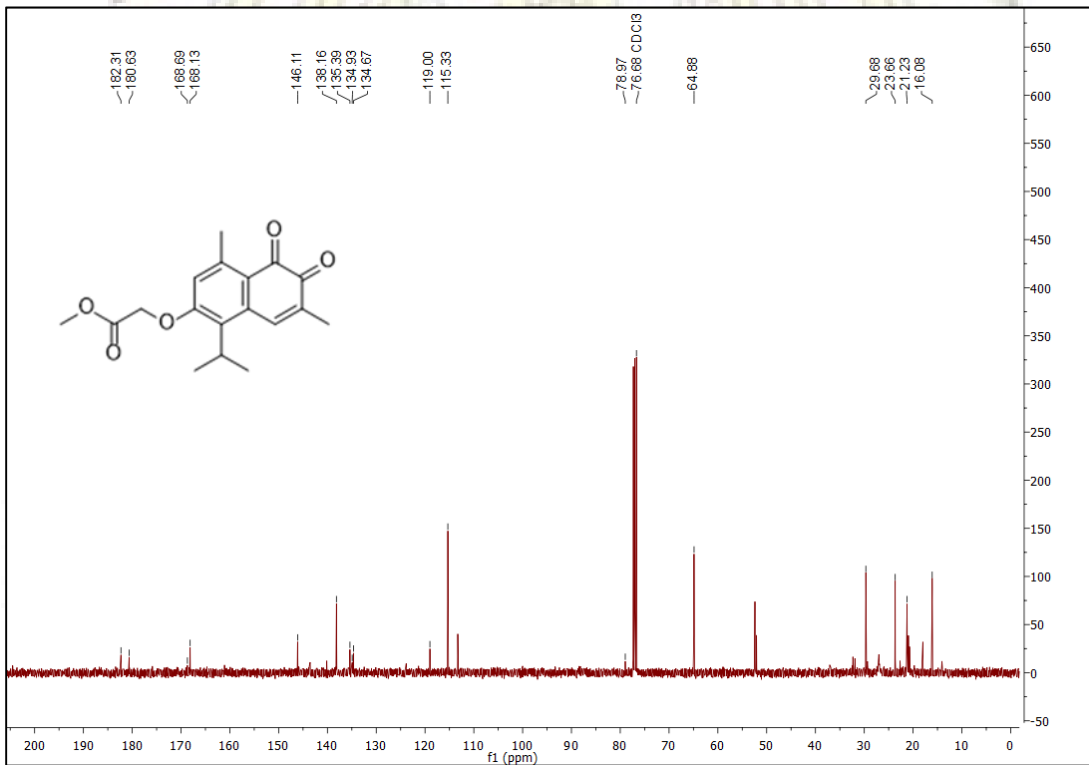


#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	210.10995	7033	4626.5	5655	0.02988
2	274.27306	8087	5080.7	6210	0.03391
3	304.26046	8231	26588.5	32497	0.03697
4	305.26226	8346	5667.3	6927	0.03658
5	318.24097	7847	108031.2	132038	0.04056
6	319.24348	8611	23158.3	28305	0.03708
7	320.25543	8375	53468.5	65350	0.03824
8	321.25707	8573	10533.1	12874	0.03747
9	332.21934	8601	7156.4	8747	0.03863
10	334.23379	8095	11545.6	14111	0.04129
11	336.24879	8619	18079.0	22097	0.03901
12	338.26450	8296	8471.3	10354	0.04077
13	350.22853	8348	4694.1	5737	0.04196
14	352.24145	8342	4512.9	5516	0.04222
15	387.05688	8747	73796.9	90196	0.04425
16	388.05884	8949	14132.5	17273	0.04336
17	389.05524	8970	73690.0	90066	0.04337
18	390.05684	9389	14451.2	17663	0.04154
19	489.36174	9625	3934.4	4809	0.05084
20	507.33233	8927	4908.1	5999	0.05683
21	512.50252	10299	8133.9	9941	0.04976
22	540.53384	10579	5737.1	7012	0.05110
23	551.35453	10533	6511.2	7958	0.05235
24	595.38096	10207	6236.4	7622	0.05833
25	639.40595	10831	5579.6	6820	0.05904
26	683.43227	10798	4514.6	5518	0.06330
27	751.12238	11445	7529.2	9202	0.06563
28	753.12106	11171	15404.2	18827	0.06742
29	754.12418	11847	6246.6	7635	0.06366
30	755.11904	11680	8761.6	10709	0.06465

รูปที่ 3.19 HRMS ของสาร 6



รูปที่ 3.20 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสาร 7



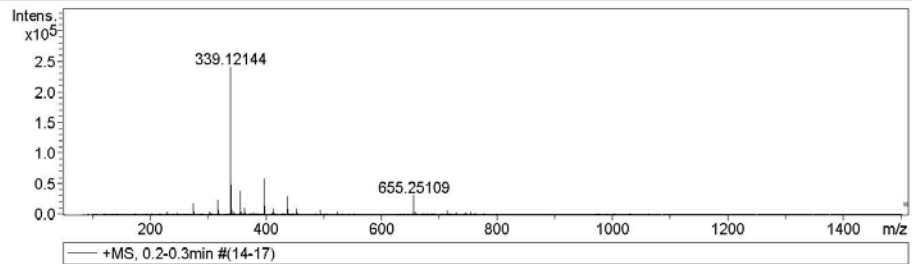
รูปที่ 3.21 $^{13}\text{C NMR}$ สเปกตรัมของสาร 7

Mass Spectrum List Report

Analysis Info		Acquisition Date	4/20/2018 9:43:52 AM
Analysis Name	D:\Data\Data Service\180420_pos_KL004.d	Operator	CU.
Method	NV_pos_0.3min_profile_1segment_lowNubulizerDrygas.m	Instrument / Ser#	micrOTOF-Q II 10335
Sample Name	180420_pos_KL004		
Comment			

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4000 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set Collision Cell RF	150.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste



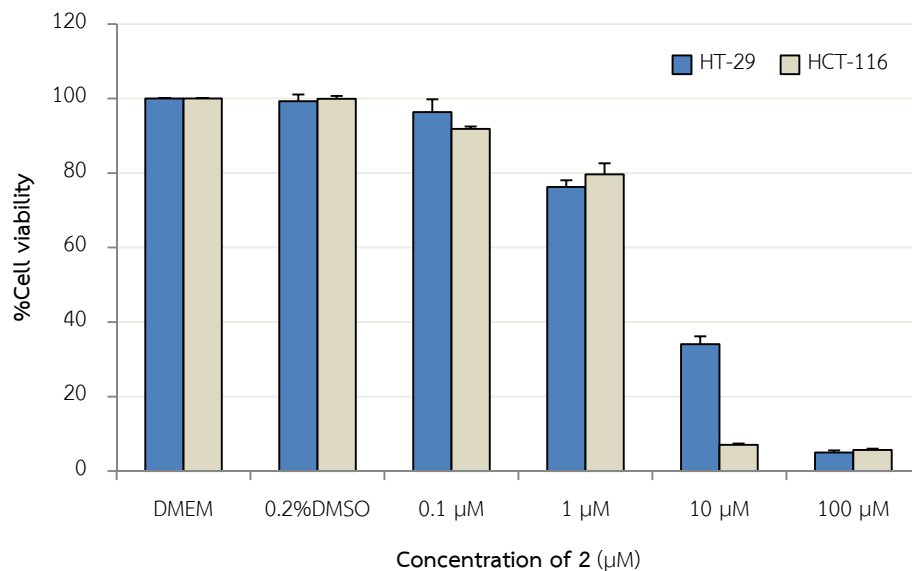
#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	230.24736	7489	1058.6	2911	0.03075
2	274.27359	8053	6045.5	16625	0.03406
3	275.27660	7902	1080.3	2971	0.03483
4	302.30475	8275	1257.2	3457	0.03653
5	317.13795	8405	8282.5	22777	0.03773
6	318.14059	8037	1539.5	4234	0.03959
7	318.29921	8142	2427.5	6676	0.03909
8	339.12144	8107	86741.5	238539	0.04183
9	340.12336	8652	17379.6	47794	0.03931
10	341.12568	8331	2494.0	6859	0.04095
11	345.11722	7964	1161.2	3193	0.04333
12	355.09454	8671	13498.0	37120	0.04095
13	356.09845	8233	2625.4	7220	0.04325
14	357.11170	4633	1377.9	3789	0.07709
15	363.15623	8515	3580.5	9847	0.04265
16	397.16260	8855	21356.9	58732	0.04485
17	398.16480	8940	4868.5	13388	0.04454
18	413.14502	7821	3420.6	9407	0.05283
19	437.19317	9380	10210.0	28078	0.04661
20	438.19586	9415	2647.5	7281	0.04654
21	453.16756	9069	3364.0	9251	0.04997
22	494.17729	9718	2522.5	6937	0.05085
23	494.67898	9058	1491.7	4102	0.05461
24	523.19774	9337	988.1	2717	0.05604
25	655.25109	10384	11141.7	30640	0.06310
26	656.25426	10935	4552.2	12519	0.06001
27	657.25570	10308	1153.9	3173	0.06376
28	713.29166	10474	2332.5	6415	0.06810
29	714.29423	10342	1049.9	2887	0.06907
30	753.32224	11069	1110.8	3055	0.06806

รูปที่ 3.22 HRMS ของสาร 7

จากการสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G พบว่าได้สารใหม่ที่ไม่เคยมีการรายงานในเอกสารอ้างอิงมาก่อน 3 ตัวคือ สาร 2, 6 และ 7

3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ได้นำสาร 2 มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย โดยพิจารณาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% cell viability) กับความเข้มข้นของสาร 2 ได้ความสัมพันธ์แสดงไว้ในรูปที่ 3.23

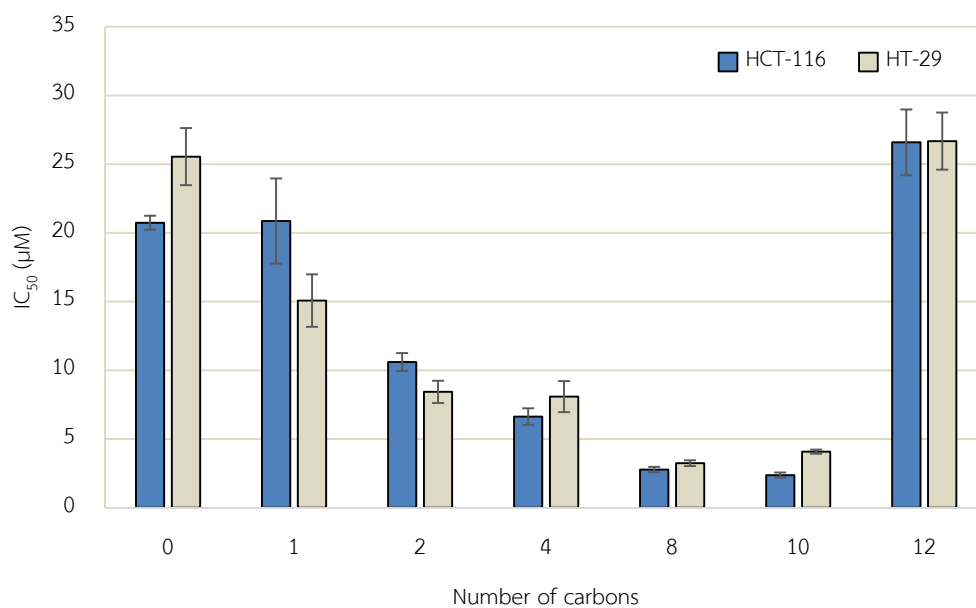


รูปที่ 3.23 ความเข้มข้นของสาร 2 และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29

เมื่อนำข้อมูลความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดียา HT-29 ของสาร 2 ที่สังเคราะห์ได้ ร่วมกับข้อมูลความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งดังกล่าวของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ที่ Hairani และคณะ⁴⁹ สังเคราะห์ไว้ ทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์และเห็นแนวโน้มชัดเจนขึ้น ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3.9 และรูปที่ 3.24

ตารางที่ 3.9 จำนวนคาร์บอนในสายแอลคิลอีเทอร์และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29

จำนวนคาร์บอนในสายแอลคิลอีเทอร์	IC ₅₀ (μM)	
	HCT-116	HT-29
0 (สาร 1)	20.74±0.51	25.55±2.08
1	20.86±3.10	15.07±1.91
2	10.6±0.65	8.43±0.81
4	6.63±0.60	8.09±1.13
8	2.77±0.20	3.24±0.21
10 (สาร 2)	2.37±0.19	4.08±0.15
12	26.59±2.39	26.68±2.08



รูปที่ 3.24 จำนวนคาร์บอนในสายโซ่แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G และค่า IC₅₀ ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29

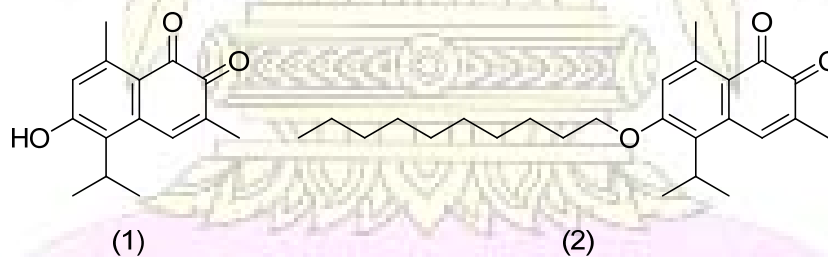
จากการทดลองพบว่าอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดดีกว่า mansonone G (สาร 1) การเพิ่มจำนวนคาร์บอนในสายโซ่ตรง เป็นหนึ่ง สอง สี่ แปด สิบและสิบสองคาร์บอนแสดงแนวโน้มของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดเป็นรูปประฆังหงาย สำหรับเซลล์มะเร็ง HCT-116 แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ที่มีจำนวนคาร์บอนในโซ่ตรงจำนวนสิบคาร์บอน

(สาร 2) ให้ค่า IC_{50} ต่ำที่สุด ($IC_{50} = 2.37 \pm 0.19 \mu M$) ในขณะที่ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HT-29 สารที่แสดงความเป็นพิษดีที่สุดได้แก่ mansonone G ที่มีโซ่แอลคิลอีเทอร์แปดคาร์บอน ($IC_{50} = 3.24 \pm 0.21 \mu M$)

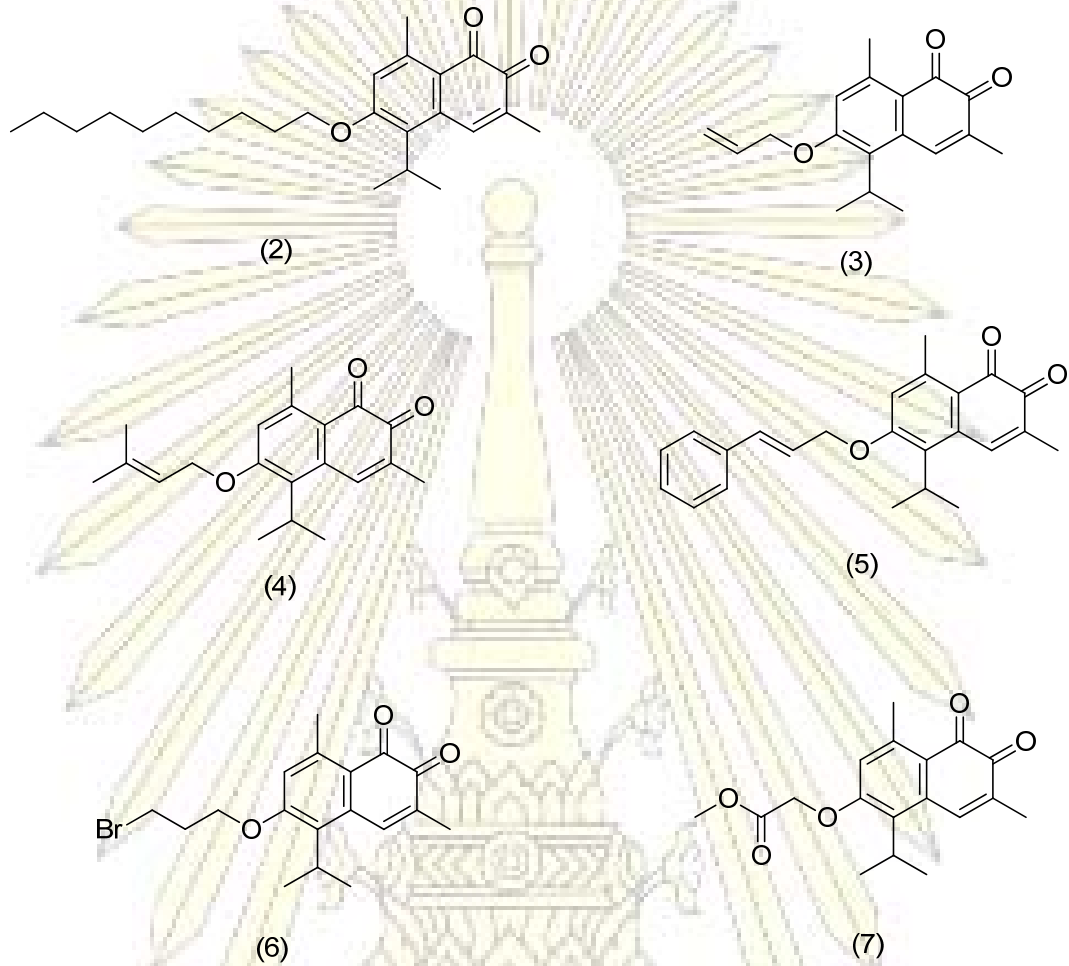
ลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและความเป็นพิษดังกล่าวสอดคล้องเป็นอย่างดีกับการประเมินความเป็นพิษทั่วไปที่เคยมีรายงานมา⁵¹ เช่น การทดสอบความเป็นพิษของอนุพันธ์ของ lipophilic hydroxytyrosol alkyl ether ต่อเซลล์มะเร็งปอด A549 ค่า IC_{50} ที่ได้จากการทดลองมีแนวโน้มเป็นรูปประขังหายเมื่อเพิ่มจำนวนคาร์บอนในอนุพันธ์แอลคิล

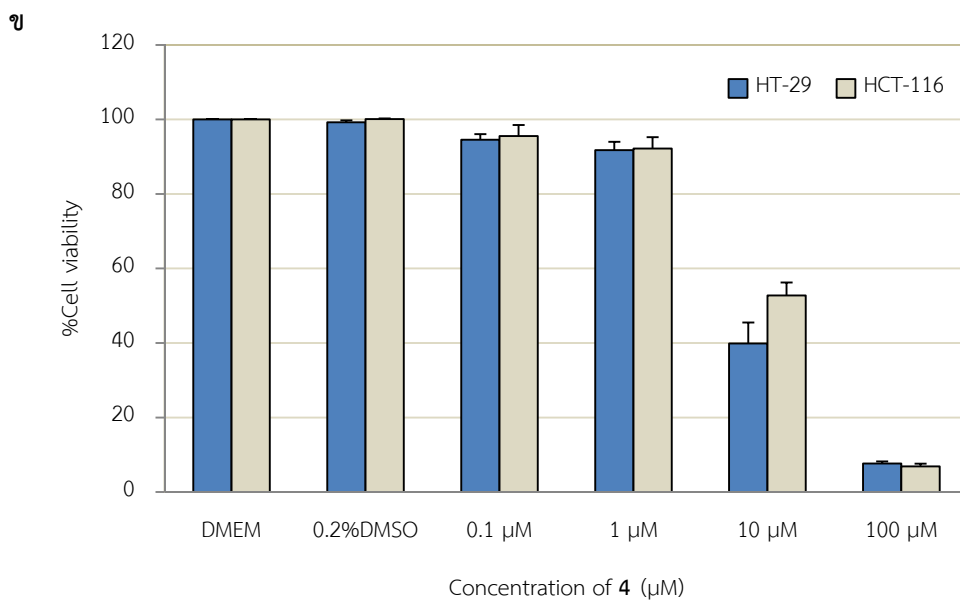
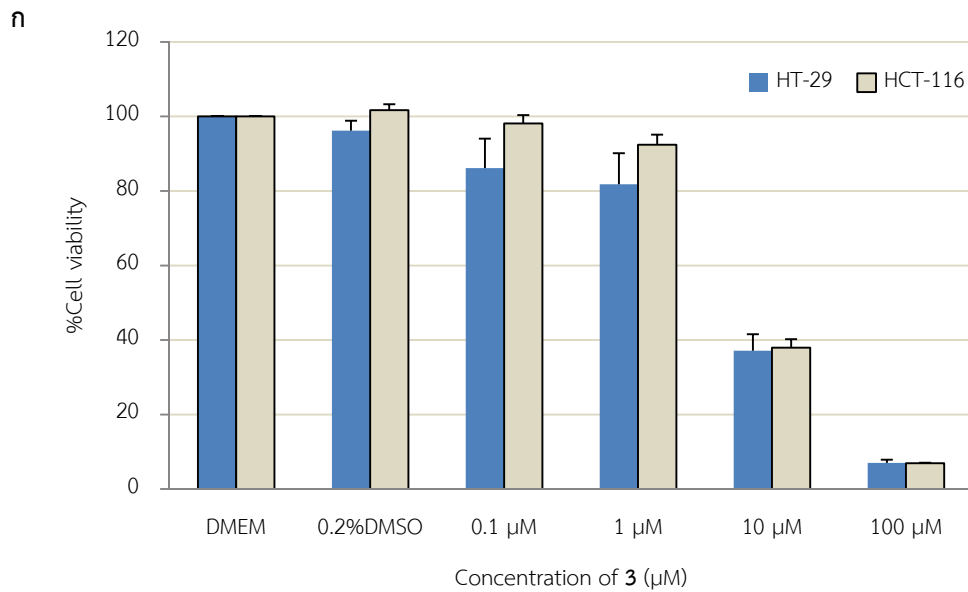
ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นตามลำดับจนถึงจุดหนึ่งอาจเป็นเพราะการเพิ่มจำนวนคาร์บอนในโซ่ตรงของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ทำให้ความมีขี้ของสารลดลงสามารถซึมผ่านชั้นไขมันได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ได้มากขึ้นจึงเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายขึ้น แต่เมื่อความยาวในโซ่ตรงเป็นสิบสองคาร์บอนซึ่งมีจำนวนคาร์บอนมากเกินไปทำให้สารมีขนาดใหญ่จนไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเข้าสู่เซลล์ได้ ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดดังกล่าวจึงลดลงอย่างเห็นได้ชัด

สารส่วนใหญ่ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 ดีกว่าเซลล์มะเร็ง HT-29 เนื่องจาก HCT-116 เป็นเซลล์มะเร็งที่เป็น p53-wildtype ส่วน HT-29 เป็น p53-mutant ซึ่งมีการกลายพันธุ์ของยีน p53 ยีนนี้เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์แบบ apoptosis การกลายพันธุ์ของยีน p53 จึงเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งตายลดลงโดยเกิดการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดลดลง หรือเกิดการดื้อยามากขึ้นในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย⁵² ส่วนอนุพันธ์ที่มีจำนวนคาร์บอนในสายโซ่ตรงเป็นหนึ่งและสองมีค่า IC_{50} ในเซลล์ HT-29 (p53 mutant) ดีกว่า HCT-116 (p53 wildtype) เป็นไปได้ว่าสารไม่ได้ออกฤทธิ์ผ่านการกระตุ้น p53 หรือ p53 ไม่ได้มีบทบาทหลักในการกระตุ้นให้เซลล์ตาย

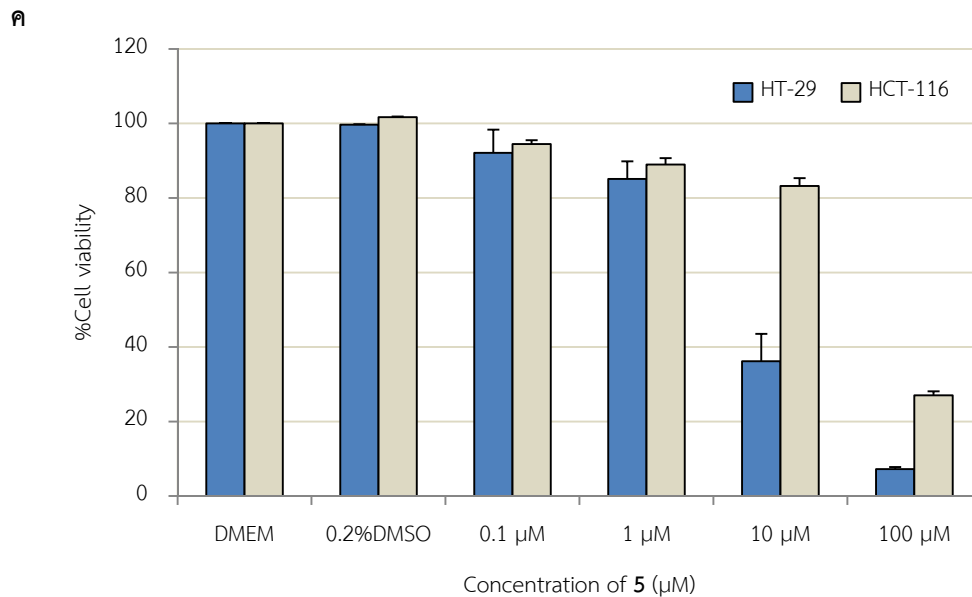


ได้นำสาร 3-7 มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย โดยพิจารณาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% cell viability) กับความเข้มข้นของสาร 2 ได้ความสัมพันธ์แสดงไว้ในรูปที่ 3.25





รูปที่ 3.25 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29 ของ ก. ความเข้มข้นของสาร 3 ข. ความเข้มข้นของสาร 4 และ ค. ความเข้มข้นของสาร 5

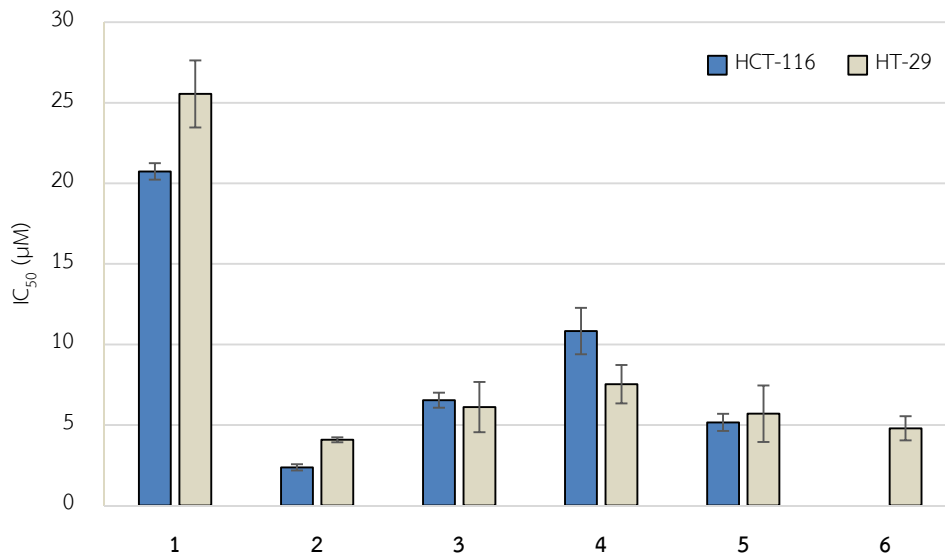


รูปที่ 3.19 (ต่อ)

ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29 (IC_{50}) ของ mansonone G (1) และอนุพันธ์ 2-7 แสดงไว้ในตารางที่ 3.10 และรูปที่ 3.26
 ตารางที่ 3.10 ความเป็นพิษของ mansonone G (1) และอนุพันธ์ 2-7 ต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29

สาร	IC_{50} (µM)	
	HCT-116	HT-29
1	20.74±0.51	25.55±2.08
2	2.37±0.19	4.08±0.15
3	6.54±0.47	6.11±1.56
4	10.83±1.44	7.53±1.19
5	5.16±0.53	5.70±1.75
6	-*	4.79±0.75
7	-*	-*

หมายเหตุ -* = ยังไม่ได้รับผลการทดสอบความเป็นพิษ



รูปที่ 3.26 IC₅₀ ของ mansonone G (1) และอนุพันธ์ (2-6) ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29

อนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ทุกชนิดแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29 ที่ดีกว่า mansonone G (สาร 1) สาร 2 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดดังกล่าวดีที่สุด เมื่อพิจารณาสาร 3-6 ซึ่งเป็นอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ที่ประกอบด้วยคาร์บอนในสายโซ่หลักสามคาร์บอนแต่มีหมู่แทนที่ต่างกัน พบว่าสารกลุ่มนี้น่าสนใจอย่างยิ่ง เพราะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29 ได้ดี ซึ่งอาจกระตุ้นยีน p53 ส่งผลให้เหนี่ยวนำการตายของเซลล์แบบ apoptosis ได้ดี สำหรับการศึกษากลไกความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ผู้ร่วมงานจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จะรับไปศึกษาในรายละเอียดเชิงลึกต่อไป

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

ด้วยวัตถุประสงค์ที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และ HT-29 งานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ดังกล่าว 6 ชนิด ได้แก่ decyl ether (สาร 2), allyl ether (สาร 3), 3,3-dimethylallyl ether (สาร 4), cinnamyl ether (สาร 5), 3-bromopropyl ether (สาร 6) และ methyl acetyl ether (สาร 7) mansonone G คิดเป็นผลได้ร้อยละ 19-56 พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย ^1H , ^{13}C NMR และ HRMS พบว่าได้อนุพันธ์ mansonone G ใหม่ 3 ตัวคือ 2, 6 และ 7

ได้ศึกษาความเป็นพิษของอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ของ mansonone G ทั้ง 6 ตัว ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย HCT-116 และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่ดีอย่าง HT-29 พบว่า อนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ที่สังเคราะห์ได้ทุกตัว มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HCT-116 และ HT-29 มากกว่า mansonone G โดยสาร 2 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดดังกล่าวดีที่สุดในบรรดาอนุพันธ์แอลคิลอีเทอร์ที่สังเคราะห์ขึ้น

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่ให้ข้อมูลที่น่าสนใจ และจะสามารถทราบความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ดังกล่าวได้ หากสามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ที่มีหมู่ฟังก์ชันที่หลากหลาย เช่น แอลคิลอีเทอร์ตัวอื่นๆ, เอสเทอร์หรือเอไมด์ นอกจากนี้หากขยายงานสำหรับการทดสอบกับเซลล์มะเร็งที่หลากหลาย เช่น เซลล์มะเร็งตับ Hep-G2 เซลล์มะเร็งปอด A549 เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa เป็นต้น และศึกษาความเป็นพิษของสารที่สังเคราะห์ได้กับเซลล์ปกติ จะเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมเพื่อนำไปศึกษาสารต้านมะเร็งในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Jemal, A., Cancer statistics, *CA. Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 7-30.
2. Bolognesi, C., Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* **2003**, *543*, 251-252.
3. Dupont, C.; Armant, D. R.; Brenner, C. A., Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective. *Semin. Reprod. Med.* **2009**, *27*, 351-357.
4. Florea, A. M.; Busselberg, D., Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers (Basel)* **2011**, *3*, 1351-1371.
5. Cannon, J.; Li, D.; Wood, S. G.; Owen, N. L.; Gromova, A.; Lutsky, V., Investigation of secondary metabolites in plants - A general protocol for undergraduate research in natural products. *J. Chem. Educ.* **2001**, *78*, 1234-1237.
6. Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E., Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.* **2001**, *161*, 839-851.
7. Breitling, R.; Ceniceros, A.; Jankevics, A.; Takano, E., Metabolomics for secondary metabolite research. *Metabolites* **2013**, *3*, 1076-1083.
8. Liu, J. R.; Choi, D. W.; Chung, H. J.; Woo, S. S. Production of useful secondary metabolites in plants: Functional genomics approaches. *J. Plant Biol.* **2002**, *45*, 1-6.
9. Mei, N.; Guo, L.; Fu, P. P.; Fuscoe, J. C.; Luan, Y.; Chen, T., Metabolism, genotoxicity, and carcinogenicity of comfrey. *J. Toxicol. Environ. Health.* **2010**, *13*, 509-526.
10. Seigler, D. S., *Plant secondary metabolism*. Springer Science & Business Media: **2012**.
11. Thomson, R. H., Naturally occurring quinones. *Academic press.* **1971**, 93-197.
12. Didry, N.; Pinkas, M.; Dubreuil, L. Antimicrobial activity of some naphthoquinones found in plants. *Ann. Pharm. Fr.* **1986**, *44*, 73-78.
13. Wellington, K. W. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones - a review. *RSC Advances.* **2015**, *5*, 20309-20338.

- 14 Sendl, A.; Chen, J. L.; Jolad, S. D.; Stoddart, C.; Rozhon, E.; Kernan, M.; Nanakorn, W.; Balick, M. Two new naphthoquinones with antiviral activity from *Rhinacanthus nasutus*. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 808-811.
- 15 Likhitwitayawuid, K.; Kaewamatawong, R.; Ruangrunsi, N.; Krungkrai, J. Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii*. *Planta Med.* **1998**, *64*, 237-241.
- 16 Gafner, S.; Wolfender, J. L.; Nianga, M.; Stoeckli-Evans, H.; Hostettmann, K. Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newbouldia laevis* roots. *Phytochemistry.* **1996**, *42*, 1315-1320.
- 17 Souza, L. G. D. S.; Almeida, M. C.; Lemos, T. L.; Ribeiro, P. R.; de Brito, E. S.; Silva, V. L.; Silva, A. M.; Braz-Filho, R.; Costa, J. G.; Rodrigues, F. F.; Barreto, F. S. Synthesis, antibacterial and cytotoxic activities of new biflorin-based hydrazones and oximes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 435-439.
18. Hook, I.; Mills, C.; Sheridan, H. Bioactive naphthoquinones from higher plants. In *Studies in Natural Products Chemistry* **2014**, *41*, 119-160.
- 19 Eyong, K. O.; Kuete, V.; Efferth, T. Quinones and benzophenones from the medicinal plants of Africa. *J. Med. Plant Res.* **2013**, 351-391.
- 20 Babula, P.; Adam, V.; Havel, L.; Kizek, R. Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones-their occurrence, pharmacological properties and analysis. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2009**, *5*, 47-68.
- 21 Luo, P.; Wong, Y. F.; Ge, L.; Zhang, Z. F.; Liu, Y.; Liu, L.; Zhou, H. Anti-inflammatory and analgesic effect of plumbagin through inhibition of nuclear factor- κ B activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *335*, 735-742.
- 22 Gomathinayagam, R.; Sowmyalakshmi, S.; Mardhatillah, F.; Kumar, R. A. J.; Akbarsha, M. A.; Damodaran, C. Anticancer mechanism of plumbagin, a natural compound, on non-small cell lung cancer cells. *Anticancer Res.* **2008**, *28*, 785-792.

- 23 Ahmad, A.; Banerjee, S.; Wang, Z.; Kong, D.; Sarkar, F. H., Plumbagin-induced apoptosis of human breast cancer cells is mediated by inactivation of NF- κ B and Bcl-2. *J. Cell. Biochem.* **2008**, *105*, 1461-1471.
- 24 Jeon, J. H.; Lee, C. H.; Kim, M. K.; Lee, H. S. Antibacterial effects of juglone and its derivatives against oral pathogens. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **2009**, *52*, 720-725.
- 25 Xu, H. L.; Yu, X. F.; Qu, S. C.; Zhang, R.; Qu, X. R.; Chen, Y. P.; Ma, X. Y.; Sui, D. Y. Anti-proliferative effect of juglone from *Juglans mandshurica* Maxim on human leukemia cell HL-60 by inducing apoptosis through the mitochondria-dependent pathway. *Eur. J. Pharmacol.* **2010**, *645*, 14-22.
- 26 Fang, F.; Qin, Y.; Qi, L.; Fang, Q.; Zhao, L.; Chen, S.; Li, Q.; Zhang, D.; Wang, L. Juglone exerts antitumor effect in ovarian cancer cells. *Iran J. Basic Med. Sci.* **2015**, *18*, 544-548.
- 27 Ashnagar, A.; Shiri, A. Isolation and characterization of 2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone (lawsone) from the powdered leaves of henna plant marketed in Ahwaz city of Iran. *Int. J. Chemtech. Res.* **2011**, *3*, 1941-1944.
- 28 Rahmoun, N. M.; Boucherit-Otmani, Z.; Boucherit, K.; Benabdallah, M.; Villemin, D.; Choukchou-Braham, N. Antibacterial and antifungal activity of lawsone and novel naphthoquinone derivatives. *Med. Mal. Infect.* **2012**, *42*, 270-275.
- 29 Saeed, S. M. G.; Sayeed, S. A.; Ashraf, S.; Naz, S.; Siddiqi, R.; Ali, R.; Mesaik, M. A. A new method for the isolation and purification of lawsone from *Lawsonia inermis* and its ROS inhibitory activity. *Pak. J. Bot.* **2013**, *45*, 1431-1436.
- 30 Inagaki, R.; Ninomiya, M.; Tanaka, K.; Koketsu, M., Synthesis, characterization, and antileukemic properties of naphthoquinone derivatives of lawsone. *Chem Med Chem.* **2015**, *10*, 1413-1423.

- 31 De Moura, K. C.; Salomão, K.; Menna-Barreto, R. F.; Emery, F. S.; Maria do Carmo, F. R.; Pinto, A. V.; Castro, S. L. Studies on the trypanocidal activity of semi-synthetic pyran [b-4, 3] naphtho [1, 2-d] imidazoles from β -lapachone. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 639-645.
- 32 Moon, D. O.; Choi, Y. H.; Kim, N. D.; Park, Y. M.; Kim, G. Y. Anti-inflammatory effects of β -lapachone in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. *Int. Immunopharmacol.* **2007**, *7*, 506-514.
- 33 Pardee, A. B.; Li, Y.; Li, C. J. Cancer therapy with β -lapachone. *Curr. Cancer Drug Targets.* **2002**, *2*, 227-242.
- 34 Wisintainer, G. D. S.; Scola, G.; Moura, S.; Lemos, T. L. G.; Pessoa, C.; Moraes, M. O.; Henriques, J. A. P. *O*-naphthoquinone isolated from *Capraria biflora* L. induces selective cytotoxicity in tumor cell lines. *Genet. Mol. Res.* **2015**, *14*, 17472-17481.
- 35 Vasconcellos, M. C.; Moura, D. J.; Rosa, R. M.; Machado, M. S.; Guecheva, T. N.; Villela, I.; Moraes, M. E. A. Evaluation of the cytotoxic and antimutagenic effects of biflorin, an antitumor 1, 4 *o*-naphthoquinone isolated from *Capraria biflora* L. *Arch. Toxicol.* **2010**, *84*, 799-810.
- 36 Wisintainer, G. G.; Simoes, E. R.; Lemos, T. L.; Moura, S.; Souza, L. G.; Fonseca, A. M.; Henriques, J. A. Biflorin: an *o*-naphthoquinone of clinical significance. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2014**, *86*, 1907-1914.
- 37 Inoue, K.; Ueda, S.; Nayeshiro, H.; Inouye, H. Quinones of *streptocarpus dunnii*. *Phytochemistry.* **1983**, *22*, 737-741.
- 38 Bian, J.; Xu, L.; Deng, B.; Qian, X.; Fan, J.; Yang, X.; Sun, H. Synthesis and evaluation of (\pm)-dunnione and its *ortho*-quinone analogues as substrates for NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1244-1248.

- 39 Liu, X.; Zhou, W.; Zhang, X.; Ding, Y.; Du, Q.; Hu, R. 1-L-MT, an IDO inhibitor, prevented colitis-associated cancer by inducing CDC20 inhibition-mediated mitotic death of colon cancer cells. *Int. J. Cancer*. **2018**, 1-14.
- 40 Kai, K.; Nagano, O.; Sugihara, E.; Arima, Y.; Sampetean, O.; Ishimoto, T.; Nakanishi, M.; Ueno, N.T.; Iwase, H.; Saya, H. Maintenance of HCT116 colon cancer cell line conforms to a stochastic model but not a cancer stem cell model. *Cancer Sci*. **2009**, *100*, 2275-2282.
- 41 HCT-16, from American Type Culture Collection web site: <https://www.atcc.org/products/all/CCL-247.aspx>, retrived April 23, 2018.
- 42 HT-29, from American Type Culture Collection web site: <https://atcc.org/Products/All/HTB-38.aspx>, retrived April 23, 2018.
- 43 Tiengtham, P. Chemical constituents and their biological activities of the roots and the leaves of *Mansonia gagei* Drumm. Degree of Master of Science in Chemistry, Department of Chemistry Chulalongkorn University, 2004
- 44 Tiew, P.; Ioset, J. R.; Kokpol, U.; Chavasiri, W.; Hostettmann, K. Antifungal, antioxidant and larvicidal activities of compounds isolated from the heartwood of *Mansonia gagei*. *Phytother. Res*. **2003**, *17*, 190-193.
- 45 El-Halawany, A. M.; Dine, R. S. E.; Hattori, M. Anti-estrogenic activity of mansonone G and mansorin A derivatives. *Pharm. Biol*. **2013**, *51*, 948-954.
- 46 Puckhaber, L. S.; Stipanovic, R. D. Thespesenone and dehydrooxoperezinone-6-methyl ether, new sesquiterpene quinones from *Thespesia populnea*. *J. Nat. Prod*. **2004**, *67*, 1571-1573.
- 47 Dai, Y.; Harinantenaina, L.; Brodie, P. J.; Callmander, M. W.; Randrianasolo, S.; Rakotobe, E.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. G. I. Isolation and synthesis of two antiproliferative calamenene-type sesquiterpenoids from *Sterculia tavia* from the Madagascar Rain Forest. *Bioorg. Med. Chem*. **2012**, *20*, 6940-6944.

- 48 Hairani, R.; Mongkol, R.; Chavasiri, W. Allyl and prenyl ethers of mansonone G, new potential semisynthetic. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 5300-5303.
- 49 Hairani, R. *et al.* unpublished results
- 50 Werkhoven, T. M.; Nispen, R.; Lugtenburg, J. Specific isotope enrichment of methyl methacrylate. *Eur. J. Org. Chem*, **11**, 1999, 2909-2914.
- 51 Calderón-Montaño, J. M.; Madrona, A.; Burgos-Moron, E.; Orta, M. L.; Mateos, S.; Espartero, J. L.; López-Lázaro, M. Selective cytotoxic activity of new lipophilic hydroxytyrosol alkyl ether derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 5046-5053.
- 52 Elizabeth P.; John K. p53 in the pathogenesis, diagnosis and treatment of cancer. *J Oncol. Pharm. Practice.* **1998**, *4*, 75-102.



ประวัติผู้วิจัย

นายกรรณิรมย์ เลิศบำรุงชัย เกิดเมื่อวันที่ 6 เดือนมกราคม พ.ศ. 2539 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนวัดนวลนรดิศ จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 8 ซอยนครลุง 2 ถนนนครลุง แขวงบางไผ่ เขตบางแค กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10160 อีเมล ndkanphirom@gmail.com



