

การทดลองและผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างและการสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีของเปล้าใหญ่

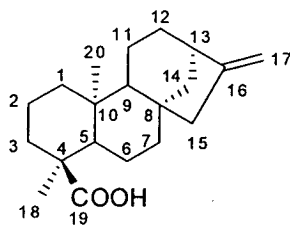
ทำการเก็บตัวอย่างต้นเปล้าใหญ่จาก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดราชบุรี จังหวัดน่าน และ จังหวัดนครสวรรค์ โดยนำส่วนเปลือกลำต้นมาสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ ผึ่งให้แห้งสนิท และบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เฮกเซน เอธิลอะซีเตต และเมทานอล ตามลำดับ ระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวทำละลายชนิด commercial grade ที่กลั่นให้บริสุทธิ์แล้ว

2. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากเปล้าใหญ่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

นำเปลือกต้นเปล้าใหญ่ที่มีน้ำหนักแห้ง 4.4 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเฮกเซน 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอมเขียวน้ำหนัก 82.6 กรัม นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้ส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 60.4 กรัม กากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเมทานอลเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม น้ำหนัก 7.2 กรัม

นำสารสกัดหยาบเฮกเซนมาแยกองค์ประกอบทางเคมี โดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๕ ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอธิลอะซีเตต เอธิลอะซีเตต-เมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ เก็บสารที่ผ่านจากคอลัมน์ทีละ 50 ml ทำการรวบสารที่เหมือนกันเข้าด้วยกันโดยใช้การเทคนิคธินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และใช้วานิลินในสารละลายกรด ในการตรวจสอบสารแต่ละส่วนที่เก็บได้ และนำสารที่เก็บได้แต่ละส่วนไปแยกซ้ำโดยใช้เทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าได้สารประกอบ 1 เป็นของแข็งสีขาวน้ำหนัก 10.9 กรัม ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 302 ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{20}H_{30}O_2$ และได้พิสูจน์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค FT-IR ปรากฏแถบที่ 3300 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ $2940, 2851\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ $sp^3\text{ C-H}$ ที่ 1680 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $C=O$ ที่ 1465 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $C=C$ และที่ $1255, 1192\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ $C-O$

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ได้ผลดังตารางที่ 1 ร่วมกับ 2D NMR พบว่าสารประกอบ 1 มีค่า chemical shift ที่สอดคล้องตรงกับสาร kaur-16-en-19-oic acid และเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว[4]



รูปที่ 1 โครงสร้างสารประกอบ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ 1

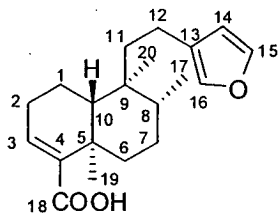
ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	40.6	0.87 (1H, br) 0.85 (1H, d, $J=4$)
2	19.0	1.84 (1H, br) 1.86 (1H, br)
3	37.7	1.12 (1H, d, $J=5$ Hz) 2.16 (1H, d, $J=14$ Hz)
4	43.2	-
5	56.9	1.07 (1H, d, $J=7$ Hz)
6	21.7	1.82 (1H, d, $J=3$ Hz) 1.93 (1H, br)
7	41.3	1.54 (1H, br) 1.46 (1H, br)
8	44.2	-
9	55.6	1.05 (1H, d, $J=7$ Hz)
10	39.6	-
11	18.4	1.60 (1H, br) 1.59 (1H, br)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
12	33.0	1.49 (1H, br) 1.64 (1H, br)
13	43.8	2.64 (1H, br)
14	39.4	1.16 (1H, dd, $J=5,11$ Hz) 2.01 (1H, dd, $J=2,11$ Hz)
15	48.9	2.06 (1H, br) 2.04 (1H, d, $J=2$ Hz)
16	155.5	-
17	102.8	4.75 (1H, s) 4.81 (1H, s)
18	28.6	1.22 (3H, s)
19	184.9	-
20	15.1	0.99 (3H, s)

สารสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตเมื่อนำมาแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอธิลอะซีเตต เอธิลอะซีเตต-เมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ พบว่าได้สารประกอบ 1 น้ำหนัก 1.1 กรัม และได้สารประกอบ 2 เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 1.7 กรัม เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างด้วย FT-IR ปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3140 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ 2930 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $\text{sp}^3\text{ C-H}$ ที่ $1760, 1724\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ C=O ที่ 1597 cm^{-1} แสดงการสั่นของ C=C ที่ $1192, 1174\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ C-O และที่ 869 แสดงการสั่นของ C=CH out of plane

เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 316 ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิค1D และ 2D NMR ได้ผลดังตารางที่ 2 พบว่าสารประกอบ 2 มีค่า chemical shift ที่สอดคล้องตรงกับสาร (–)-hardwickiic acid ซึ่งเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว และพบว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง [5, 6]



รูปที่ 2 โครงสร้างสารประกอบ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสารประกอบ 2

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
1	17.9	1.56 (1H, m) 1.64 (1H, m)
2	27.7	2.14 (1H, m) 2.27 (1H, m)
3	140.1	6.80 (1H, dd, J=3.0, 4.4 Hz)
4	142.0	-
5	37.9	-
6	36.5	1.09 (1H, td, J=5.2, 12.9, 13.0 Hz) 2.38 (1H, dt, J=3.2, 3.2, 13.0 Hz)
7	27.1	1.35 (1H, m) 1.48 (1H, m)
8	36.4	1.50 (1H, m)
9	39.1	-
10	46.9	1.37 (1H, m)
11	39.2	1.48 (1H, m) 1.59 (1H, m)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
12	18.3	2.14 (1H, m) 2.23 (1H, m)
13	126.1	-
14	111.3	6.22 (1H, dd, $J=0.8, 1.7$ Hz)
15	138.7	7.17 (1H, br s)
16	143.0	7.24 (1H, d, $J=0.8$ Hz)
17	16.2	0.79 (3H, d, $J=6.5$ Hz)
18	173.0	-
19	20.7	1.21 (3H, s)
20	18.3	0.773H, s)

3. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากเปล้าใหญ่ จังหวัดราชบุรี

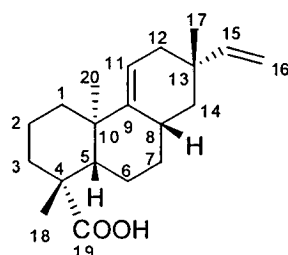
นำเปลือกต้นเปล้าใหญ่บดละเอียดที่มีน้ำหนักแห้ง 3.7 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเฮกเซน 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอมน้ำตาล น้ำหนัก 301.4 กรัม นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 74.1 กรัม กากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเมทานอลเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม น้ำหนัก 10.2 กรัม

นำสารสกัดหยาบเฮกเซนมาแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอธิลอะซีเตต เอธิลอะซีเตต-เมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ เก็บสารที่ผ่านจากคอลัมน์ที่ละ 50 ml ทำการรวบสารที่เหมือนกันเข้าด้วยกันโดยใช้การเทคนิคธินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และใช้วานิลินในสารละลายกรด ในการตรวจสอบสารแต่ละส่วนที่เก็บได้

หลังรวบ fraction ที่ชะด้วย 30% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซน ปรากฏว่ามีผลึกใสไม่มีสีตกออกมาจำนวนมาก ทำการกรองแยกผลึก และสารละลายที่เหลือนำไประเหยตัวทำละลาย และนำกลับมาตกผลึกซ้ำ ได้สารประกอบ 3 เป็นผลึกใสไม่มีสี น้ำหนัก 153.9 กรัม ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 302 ซึ่งมีสูตร

โมเลกุลเป็น $C_{20}H_{30}O_2$ และได้พิสูจน์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค FT-IR ปรากฏแถบที่ 3080 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ $2934, 2856\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ $sp^3\text{ C-H}$ ที่ 1690 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $C=O$ ที่ 1464 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $C=C$ ที่ $1261, 1183\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ $C-O$ และที่ 811 แสดงการสั่นของ $C=CH$ out of plane

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ได้ผลดังตารางที่ 3 พบว่าสารประกอบ 3 มีค่า chemical shift ที่สอดคล้องตรงกับสาร acanthoic acid และเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว[7] ซึ่ง acanthoic acid เป็นสารที่มีรายงานฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ[8] และลดอาการปวดประสาท ลดความดันโลหิตสูง ลดอาการข้ออักเสบ และลดอาการเบหวาน[9]



รูปที่ 3 โครงสร้างสารประกอบ 3

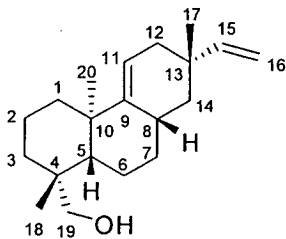
ตารางที่ 3 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ 3

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	41.8	1.29 (1H, m) 1.80 (1H, m)
2	18.9	1.92 (1H, m) 2.20 (1H, m)
3	38.1	0.99 (1H, m) 2.15 (1H, m)
4	44.1	-
5	47.8	1.67 (1H, dd, J=6.2, 13.0 Hz)
6	20.3	1.48 (1H, m) 1.90 (1H, m)
7	27.8	1.22 (1H, m) 1.74 (1H, m)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
8	28.7	2.30 (1H, m)
9	149.9	-
10	38.3	-
11	116.6	5.39 (1H, m)
12	37.5	1.78 (1H, m) 2.01 (1H, m)
13	34.8	-
14	41.7	1.04 (1H, m) 1.47 (1H, m)
15	150.2	5.85 (1H, dd, $J = 10.4, 17.4$ Hz)
16	109.2	4.87 (1H, dd, $J = 1.2, 10.4$ Hz) 4.93 (1H, dd, $J = 1.2, 17.4$ Hz)
17	22.2	0.97 (3H, s)
18	28.6	1.25 (3H, s)
19	184.8	-
20	22.4	1.00 (3H, s)

นำ fraction ที่เหลือมาแยกองค์ประกอบซ้ำโดยพบว่าสามารถแยกสารประกอบโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๒ ด้วยตัวทำละลาย เอธิลอะซีเตต-เฮกเซน 30% สามารถแยกสารประกอบ 4 เป็นของแข็งสีขาวน้ำหนัก 1.7 กรัม เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 288 ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{20}H_{32}O$ และได้พิสูจน์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค FT-IR ปรากฏแถบที่ $3241-3152\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ 2923 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $sp^3\text{ C-H}$ ที่ $1626, 1605\text{ cm}^{-1}$ $C=C$ ที่ $1262, 1186\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของ $C-O$

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ได้ผลดังตารางที่ 4 พบว่าสารประกอบ 4 มีค่า chemical shift ที่สอดคล้องตรงกับสาร acanthol และเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว[7]



รูปที่ 4 โครงสร้างสารประกอบ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสารประกอบ 4

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
1	41.1	1.22 (1H, m) 1.86 (1H, m)
2	18.0	1.90 (1H, m) 2.14 (1H, m)
3	35.5	0.93 (1H, m) 1.84 (1H, m)
4	38.4	-
5	46.3	1.57 (1H, dd, J=6.0, 12.9 Hz)
6	19.1	1.49 (1H, m) 1.85 (1H, m)
7	26.9	1.18 (1H, m) 1.70 (1H, m)
8	29.0	2.30 (1H, m)
9	151.3	-
10	37.7	-
11	115.8	5.29 (1H, m)
12	37.6	1.77 (1H, m) 2.03 (1H, m)
13	34.8	-

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
14	41.6	1.02 (1H, m) 1.39 (1H, m)
15	150.3	5.75 (1H, dd, J=17.4, 10.6 Hz)
16	109.1	4.79 (1H, dd, J=10.6, 1.3 Hz) 4.87 (1H, 17.4, 1.3 Hz)
17	22.4	0.98 (3H, s)
18	26.5	0.97 (3H, s)
19	65.1	3.84 (1H, d, J= 8.0 Hz) 3.54 (1H, d, J=8.0 Hz)
20	26.0	1.04 (3H, s)

สารสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตเมื่อนำมาแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ะด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอธิลอะซีเตต เอธิลอะซีเตต-เมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ สามารถแยกสารประกอบเป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 0.6 กรัม เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างด้วย FT-IR แมสสเปกโตรเมตรี $^1\text{H-NMR}$ $^{13}\text{C-NMR}$ และ 2D NMR พบว่าสารประกอบที่แยกได้คือ (-)-hardwickiic acid (1)

4. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากเปล้าใหญ่ จังหวัดน่าน

นำเปลือกต้นเปล้าใหญ่ที่แห้งและบดละเอียด น้ำหนักแห้ง 0.5 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเฮกเซน 5 ลิตร ซ้ำ 2 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอมเขียว น้ำหนัก 15 กรัม นำกากมาสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต 5 ลิตร ซ้ำ 2 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเป็นของเหลวหนืดสีเหลือง น้ำหนัก 25 กรัม กากที่เหลือนำมาสกัดด้วยเมทานอล 5 ลิตร ซ้ำ 2 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง น้ำหนัก 20 กรัม

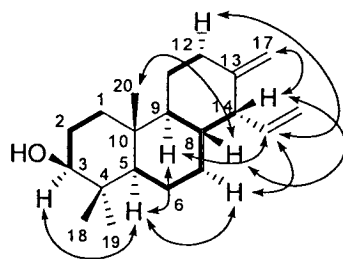
นำสารสกัดหยาบเฮกเซน (15 กรัม) มาทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี เริ่มด้วยตัวทำละลายเฮกเซน จากนั้นเพิ่มขั้วของสารละลายโดยการเพิ่ม

เอธิลอะซีเตต จนถึงเอธิลอะซีเตต 100% เก็บสารที่ผ่านจากคอลัมน์ที่ละ 25 ml ทำการรวบสารที่เหมือนกันเข้าด้วยกันโดยใช้การเทคนิคโครมาโทกราฟี และใช้วานิลินในสารละลายกรด ในการตรวจสอบสารแต่ส่วนที่เก็บได้

จากการแยกดังที่กล่าวข้างต้นหลังจากทำการระเหยตัวทำละลายสามารถรวบส่วนที่เหมือนกันได้ทั้งหมด 3 fraction โดย fraction ที่ 1 ถูกชะออกมาที่ 0-20% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซนมีน้ำหนัก 2.1 กรัม fraction ที่ 2 ถูกชะออกมาที่ 25-30% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซนมีน้ำหนัก 5.4 กรัม และ fraction ที่ 3 ถูกชะออกมาที่ 50% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซนมีน้ำหนัก 1.3 กรัม

นำ fraction ที่ 1 และ 2 มาแยกองค์ประกอบซ้ำโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี สามารถแยกสารประกอบ 5 ได้เป็นมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว เมื่อนำมาตกผลึกจากตัวทำละลายเมทานอล ได้เป็นผลึกสีขาวรูปเข็มน้ำหนัก 200 มิลลิกรัม (0.04% จากน้ำหนักแห้งของเปลือกต้นเปล้าใหญ่) สารประกอบ 5 เมื่อนำไปวิเคราะห์โดยวิธี elemental analysis พบว่ามีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{20}H_{32}O$ ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์โดยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีที่ปรากฏ m/z 289 $[M+H]^+$ และเมื่อนำไปวิเคราะห์โดยเทคนิค FT-IR ปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3413 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล 1633 cm^{-1} แสดงการสั่นของ $C=C$

จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ แสดงผล ดังตารางที่ 5 จาก $^{13}\text{C-NMR}$ ปรากฏสัญญาณของ oxygenated methine carbon (δ 79.1 ppm) สัญญาณของ exocyclic methylene (δ 106.4, CH_2 ; 152.4, C) และสัญญาณของ vinyl คาร์บอน (δ 137.7, CH; 115.9, CH_2) จากเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ปรากฏสัญญาณของ olefinic โปรตอน ของ terminal methylene ที่ δ 4.57(s) และ 4.65(s) สัญญาณของ vinyl โปรตอน ที่ δ 6.01 (1H, ddd, $J=17.0$, 9.6 and 9.2 Hz), 5.02 (1H, dd, $J=9.6$ and 1.6 Hz), and 5.03 (1H, dd, $J=17.0$ and 1.6 Hz) และสัญญาณของ methyl โปรตอน ที่ δ 0.80 (3H, s), 0.97 (3H, s) และ 0.79 (3H, s) จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค 1D ร่วมกับ 2D NMR คือ COSY, HSQC, HMBC และ NOESY พบว่าสาร 5 มีโครงสร้างแบบ cleistanthane-type diterpenoid และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสเตอริโอเคมี โดยพิจารณาจาก NOESY สเปกตรัมอย่างละเอียด ทำให้ทราบว่า สารประกอบ 5 คือ (5 α ,8 β ,9 α ,10 β ,14 α)-cleistantha-13(17),15-dien-3 β -ol (รูป 5)



— COSY

↔ NOESY

รูป 5 โครงสร้างสารประกอบ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ของสารประกอบ 5

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	37.6 (t)	1 α : 1.06 (1H, m) 1 β : 1.73 (1H, m)
2	27.5 (t)	2 α : 1.52 (1H, m) 2 β : 1.63 (1H, ddd, J=3.4, 7.3, 14.8 Hz)
3	79.1 (d)	3.22 (1H, dd, J=11.6, 4.5 Hz)
4	38.9 (s)	-
5	54.3 (d)	0.78 (1H, m)
6	21.3 (t)	6 α : 1.34 (1H, m) 6 β : 1.62 (1H, m)
7	32.1 (t)	7 α : 1.24 (1H, m) 7 β : 1.50 (1H, m)
8	40.5 (d)	1.49 (1H, m)
9	49.2 (d)	1.04 (1H, m)
10	36.9 (s)	-
11	27.0 (t)	11 α : 1.75 (1H, m) 11 β : 1.77 (1H, m)
12	31.3 (t)	12 α : 2.17 (1H, m) 12 β : 2.17 (1H, m)

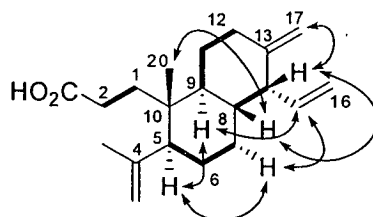
ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
13	152.4 (s)	-
14	54.6 (d)	2.81 (1H, dd, J=9.2, 4.2 Hz)
15	137.7 (d)	6.01 (1H, ddd, J=9.2, 9.6, 17.0 Hz)
16	115.9 (t)	16 α : 5.02 (1H, dd, J=9.6, 1.6 Hz) 16 β : 5.03 (1H, dd, J=17.0, 1.6 Hz)
17	106.4 (t)	17 α : 4.57 (1H, s) 17 β : 4.65 (1H, s)
18	15.8 (q)	0.80 (3H, s)
19	28.4 (q)	0.97 (3H, s)
20	14.0 (q)	0.79 (3H, s)

สารประกอบ 6 สามารถแยกได้จาก fraction 2 จากสารสกัดหยาบเฮกเซน มาแยกซ้ำโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 30% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซน และได้จากการแยกจากส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สาร 6 เป็นของเหลวใสไม่มีสี น้ำหนัก 2.2 กรัม (0.4% จากน้ำหนักแห้งของเปลือกต้นเป้งใหญ่) เมื่อวิเคราะห์สาร 6 โดยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี HRESIMS และ MS [M+H]⁺ ปรากฏ m/z 303 จึงได้ว่าสาร 6 มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₀H₃₀O₂ จากการวิเคราะห์โดยใช้ FT-IR ปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3400-2400 cm⁻¹ และ 1704 cm⁻¹ ซึ่งแสดงการสั่นของหมู่ carboxylic acid และที่ 1627 cm⁻¹ แสดงการสั่นของ C=C

การวิเคราะห์โดยเทคนิค ¹³C-NMR ร่วมกับ DEPT แสดงให้เห็นว่าสาร 6 มีคาร์บอนทั้งหมด 20 คาร์บอน ประกอบด้วย methyl คาร์บอนจำนวน 2 คาร์บอน methylene sp³ คาร์บอนจำนวน 6 คาร์บอน methine sp³ คาร์บอนจำนวน 4 คาร์บอน quaternary sp³ คาร์บอนจำนวน 1 คาร์บอน methylene sp² คาร์บอนจำนวน 3 คาร์บอน methine sp² คาร์บอนจำนวน 1 คาร์บอน quaternary sp² คาร์บอนจำนวน 2 คาร์บอน และ carbonyl คาร์บอน ของหมู่ carboxylic

จากการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ได้ผลดังตารางที่ 6 จากโปรตอนสเปกตรัมแสดงสัญญาณที่ δ 4.59 ppm (1H, d, J=0.9 Hz), 4.67 ppm (1H, d, J=0.9 Hz), 1.74 ppm (3H, s) และ 0.84 ppm (3H, s) ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนบนพันธะคู่ที่อยู่ปลายด้านนอก และเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของสาร 6 กับสาร 5 พบว่ามีความคล้ายคลึงกันมาก ส่วนที่มีความแตกต่างชัดเจนคือ ที่วง A ของสาร 6 ตำแหน่งที่ 3 และ 4 ขาดออกจากกัน และตำแหน่งที่ 3 กลายเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก โครงสร้าง

ของสาร 6 หาได้จากความสัมพันธ์ของ COSY, TOCSY และ NOESY ซึ่งทำให้ทราบว่าสาร 6 คือ 3,4-seco-cleistantha-4(18),13(17),15-trien-3-oic acid ดังรูป 6



— COSY
 ↔ NOESY

รูป 6 โครงสร้างสารประกอบ 6

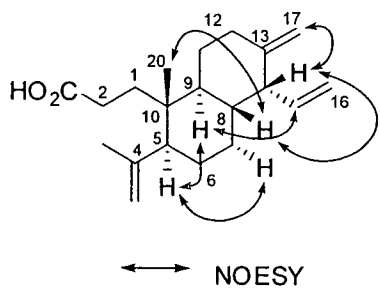
ตารางที่ 6 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ของสารประกอบ 6

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	32.1 (t)	1.65 (2H, m)
2	28.1 (t)	2 α : 2.42 (1H, m) 2 β : 2.30 (1H, m)
3	181.0 (s)	-
4	148.4 (s)	-
5	50.7 (d)	1.96 (1H, dd, $J=12.8, 2.4$ Hz)
6	27.6 (t)	6 α : 1.44 (1H, m) 6 β : 1.67 (1H, m)
7	31.5 (t)	7 α : 1.24 (1H, m) 7 β : 1.46 (1H, m)
8	40.4 (d)	1.57 (1H, m)
9	41.0 (d)	1.26 (1H, m)
10	39.0 (s)	-
11	27.4 (t)	11 α : 1.17 (1H, m) 11 β : 1.72 (1H, m)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
12	31.3 (t)	2.20 (2H, m)
13	151.9 (s)	-
14	54.7 (d)	2.83 (1H, dd, $J=8.8, 4.4$ Hz)
15	137.3 (d)	6.02 (1H, ddd, $J=17.6, 10.4, 8.8$ Hz)
16	116.2 (t)	16 α : 5.03 (1H, dd, $J=10.4, 1.6$ Hz) 16 β : 5.04 (1H, dd, $J=17.6, 1.6$ Hz)
17	106.8 (t)	17 α : 4.59 (1H, d, $J=0.9$ Hz) 17 β : 4.67 (1H, d, $J=0.9$ Hz)
18	113.8 (t)	18 α : 4.67 (1H, s) 18 β : 4.88 (1H, s)
19	23.9 (q)	1.74 (3H, s)
20	16.8 (q)	0.84 (3H, s)

นำผลิตภัณฑ์ของสาร 6 มาทำปฏิกิริยา epoxidation กับ *m*CPBA (1.2 eq.) ในตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบ 7 เป็นผลิตภัณฑ์หลัก และสาร 8 เป็นสารผลิตภัณฑ์รอง ปฏิกิริยา epoxidation ของสาร 6 พบว่าจะไม่เกิด epoxidation ที่ตำแหน่ง isopropylene

สารประกอบ 7 มีโมเลกุลไอออน m/z 341 มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{20}H_{30}O_3$ จากข้อมูล ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสาร 7 (ตารางที่ 7) เปรียบเทียบกับสาร 6 มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ยกเว้นที่ตำแหน่ง พันธะคู่ (C-13 และ C-17) ถูกเปลี่ยนให้เป็น epoxide และเมื่อพิจารณา 2D NMR ของสาร 7 รวมทั้ง พิจารณาความสัมพันธ์ทางสเตอริโอเคมีจาก NOESY สเปกตรัม ทำให้สามารถทราบได้ว่า สาร 7 คือ 13,17-epoxy-3,4-seco-cleistantha-4(18),15-dien-3-oic acid ดังรูป 7



รูป 7 โครงสร้างสารประกอบ 7

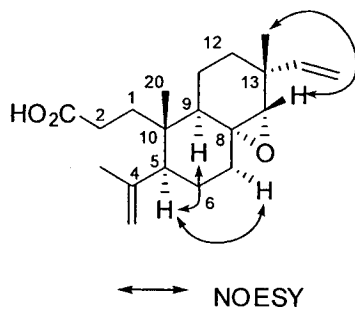
ตารางที่ 7 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสารประกอบ 7

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
1	32.1 (t)	1.65 (2H, m)
2	28.0 (t)	2α: 2.28 (1H, m) 2β: 2.43 (1H, m)
3	180.1 (s)	-
4	147.4 (s)	-
5	50.7 (d)	1.96 (1H, dd, J=12.4, 2.8 Hz)
6	27.5 (t)	6α: 1.42 (1H, m) 6β: 1.71 (1H, m)
7	31.1 (t)	7α: 1.19 (1H, m) 7β: 1.39 (1H, m)
8	36.6 (d)	1.86 (1H, m)
9	40.2 (d)	1.25 (1H, m)
10	39.0 (s)	-
11	29.3 (t)	11α: 1.16 (1H, m) 11β: 2.02 (1H, m)
12	23.0 (t)	12α: 1.46 (H, m) 12β: 1.64 (1H, m)
13	61.5 (s)	-
14	53.0 (d)	1.67 (1H, m)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
15	135.5 (d)	5.90 (1H, ddd, $J=17.2, 10.4, 10.0$ Hz)
16	118.3 (t)	16 α : 5.03 (1H, dd, $J=10.4, 2.0$ Hz) 16 β : 5.11 (1H, dd, $J=17.2, 2.0$ Hz)
17	53.9 (t)	17 α : 2.60 (1H, d, $J=4.4$ Hz) 17 β : 2.63 (1H, d, $J=4.8$ Hz)
18	113.7 (t)	18 α : 4.68 (1H, s) 18 β : 4.86 (1H, s)
19	23.9 (q)	1.74 (3H, s)
20	16.8 (q)	0.90 (3H, s)

ส่วนสารประกอบ **8** มีโมเลกุลาร์ไอออน m/z 318 และมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{20}H_{30}O_3$ ข้อมูล 1H -NMR และ ^{13}C -NMR แสดงในตารางที่ 8 จากการพิจารณา ^{13}C -NMR สเปกตรัม ร่วมกับ HSQC พบว่า สาร **8** มีจำนวนคาร์บอนทั้งหมด 20 คาร์บอน ประกอบด้วย methyl คาร์บอน จำนวน 3 คาร์บอน methylene sp^3 -คาร์บอน จำนวน 6 คาร์บอน methine sp^3 -คาร์บอน จำนวน 2 คาร์บอน oxygenated methine sp^3 -คาร์บอน จำนวน 1 คาร์บอน quaternary sp^3 -คาร์บอน จำนวน 2 คาร์บอน oxygenated quaternary sp^3 -คาร์บอน จำนวน 1 คาร์บอน methylene sp^2 -คาร์บอน จำนวน 2 คาร์บอน methine sp^2 -คาร์บอน จำนวน 1 คาร์บอน quaternary sp^2 -คาร์บอน จำนวน 1 คาร์บอน และ carbonyl คาร์บอน ของ คาร์บอกซิลิก แอซิด จำนวน 1 คาร์บอน

จาก 2D NMR สเปกตรัม คือ HMBC COSY TOCSY NOESY และข้อมูลจากค่า coupling constant ทำให้ทราบโครงสร้างสาร **8** เป็นดังรูป 8 ซึ่งสารเป็นคือ 14-epoxypimara-4(18),15-dien-3-oic acid



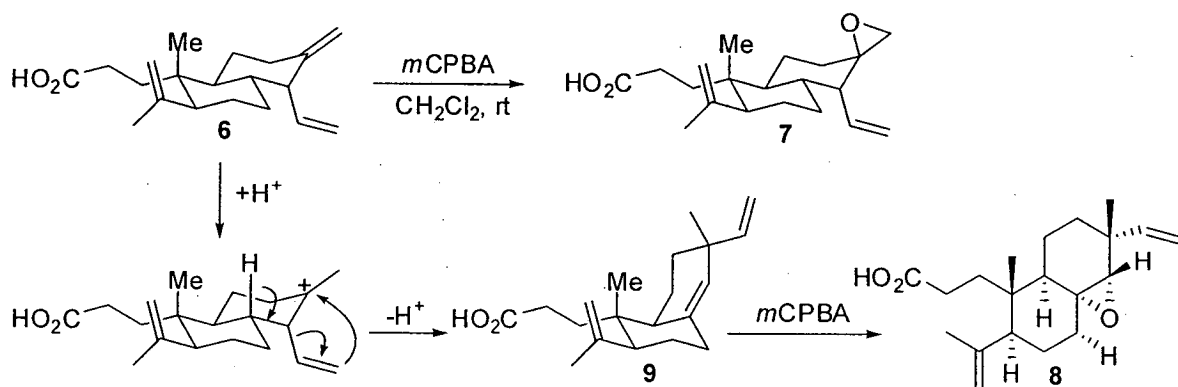
รูป 8 โครงสร้างสารประกอบ 8

ตารางที่ 8 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ของสารประกอบ 8

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	32.1 (t)	1.66 (2H, m)
2	28.0 (t)	2α : 2.22 (1H, m) 2β : 2.44 (1H, m)
3	178.7 (s)	-
4	146.9 (s)	-
5	50.6 (d)	2.15 (1H, dd, $J=12.4, 2.4$ Hz)
6	25.6 (t)	6α : 1.49 (1H, m) 6β : 2.02 (1H, m)
7	34.7 (t)	7α : 1.27 (1H, m) 7β : 1.89 (1H, m)
8	61.4 (d)	-
9	43.3 (d)	1.22 (1H, m)
10	40.3 (s)	-
11	16.4 (s)	1.22 (2H, m)
12	34.9 (t)	1.38 (2H, m)
13	35.6 (s)	-
14	63.7 (d)	2.55 (1H, m)
15	146.8 (d)	5.87 (1H, ddd, $J=17.6, 10.4, 10.0$ Hz)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
16	112.0 (t)	16 α : 5.01 (1H, dd, $J=10.4, 2.0$ Hz) 16 β : 5.04 (1H, dd, $J=17.2, 2.0$ Hz)
17	22.0 (q)	1.10 (3H, s)
18	114.0 (t)	18 α : 4.74 (1H, s) 18 β : 4.90 (1H, s)
19	23.6 (q)	1.78 (3H, s)
20	18.3 (q)	0.98 (3H, s)

สารประกอบ 8 นั้นคาดว่าจะเกิดจากกระบวนการเร่งด้วยกรดระหว่างการศึกษา epoxidation แล้วเกิดผ่าน intermediate 9 ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ 8 ดังแผนภาพ 1



แผนภาพ 1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสาร 6 เป็นสาร 7 และ 8

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร 5, 6, 7 และ 8 นำสารประกอบทั้ง 4 ทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด คือ KATO-3, SW620, BT474, HEP-G2 และ CHAGO โดยใช้วิธี *in vitro* และติดตามผลโดยใช้วิธี MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) colorimetric method [10, 11] และใช้ Doxorubicin hydrochloride เป็นตัวควบคุมบวก ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 9 โดยสารประกอบ 1 มีฤทธิ์ในการยับยั้ง HEP-G2 สูง และมีฤทธิ์ยับยั้ง KATO-3, BT474 และ CHAGO ได้ปานกลาง สารประกอบ 2 มีฤทธิ์ยับยั้ง KATO-3, BT474 และ HEP-G2 ส่วนสารประกอบ 3 และ 4 ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ทดสอบ

ตารางที่ 9 แสดงผลจากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารประกอบ 5-8^a

สารประกอบ	ชนิดของเซลล์มะเร็งทดสอบ ^b				
	KATO-3	SW620	BT474	HEP-G2	CHAGO
1	6.0	>10.0	6.1	0.5	5.5
2	9.6	>10.0	10.0	8.6	>10.0
3	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
4	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
Doxorubicin hydrochloride	0.5	1.2	2.2	1.7	0.1

^a Results are expressed as IC₅₀ values ($\mu\text{g/mL}$); ^b KATO-3, human gastric carcinoma ATCC No. HTB 103; SW620, human colon adenocarcinoma ATCC No. CCL 227; BT474, human breast ductal carcinoma ATCC No. HTB20; HEP-G2, human liver hepatoblastoma ATCC No. HB 8056; CHAGO, human undifferentiated lung carcinoma

จากการศึกษาผลการศึกษาที่ผ่านมาได้นำไปเขียนวารสาร และได้รับการตีพิมพ์ลงในวารสาร "Chemistry of Natural Compounds" ซึ่งเป็น journal ที่อยู่ใน Springer ดังเอกสารที่ได้แนบมาด้วยในท้ายรายงาน

5. การแยกองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกใหญ่ จังหวัดนครสวรรค์

นำเปลือกต้นเปลือกใหญ่ที่แห้งและบดละเอียดน้ำหนัก 2.9 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเฮกเซน 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนเป็นของเหลวหนืด 61.5 กรัม นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเอธิลอะซีเตตเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล น้ำหนัก 37.2 กรัม กากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล ทำการระเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเมทานอลเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้มข้นน้ำหนัก 11.8 กรัม

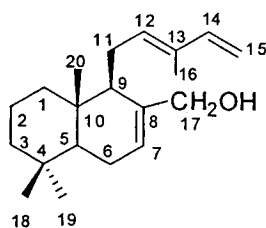
นำสารสกัดหยาบเฮกเซนมาแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๕๕๕ ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เฮกเซน-เอธิลอะซีเตต เอธิลอะซีเตต-เมทานอล และเมทานอล ตามลำดับ เก็บสารที่ผ่านจากคอลัมน์ที่ละ 50 ml ทำการรวมสารที่เหมือนกันเข้าด้วยกันโดยใช้การเทคนิคธินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และใช้วานิลินในสารละลายกรด ในการตรวจสอบสารแต่ละส่วนที่เก็บได้

และนำสารที่เก็บได้แต่ละส่วนไปแยกซ้ำโดยใช้เทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีพบว่าได้สารประกอบเป็นของแข็งสีขาวน้ำหนัก 6.8 กรัม ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS), FT-IR, 1D และ 2D NMR ปรากฏว่าสารประกอบที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ สาร 1 (kaur-16-en-19-oic acid)

ส่วน fraction ที่เหลือเมื่อนำมาแยกซ้ำโดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วย 30% เอธิลอะซีเตตในเฮกเซน สามารถแยกสารประกอบ 9 ได้ เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 741 มิลลิกรัม และสารประกอบ 10 เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 325 มิลลิกรัม

เมื่อนำสารประกอบ 9 ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วย FT-IR ปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3239-3160 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ 2917 cm^{-1} แสดงการสั่นของ sp^3 C-H ที่ 1631, 1608 cm^{-1} แสดงการสั่นของ C=C เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 288 ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิค 1D และ 2D NMR ได้ผลดังตารางที่ 10 พบว่าสารประกอบ 9 คือ labda-7,12(E),14-triene-17-ol ซึ่งเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว[12]



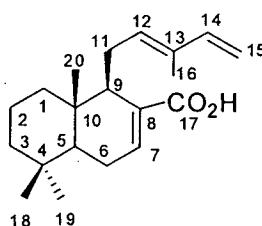
รูป 9 โครงสร้างสารประกอบ 9

ตารางที่ 10 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารประกอบ 9

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
1	39.6	1.02 (1H, dt, J=3.8, 13.1 Hz) 1.20 (1H, m)
2	18.8	1.45 (1H, t, J=3.7 Hz) 1.54 (1H, m)
3	42.2	1.16 (1H, dt, J=3.2, 12.8 Hz) 1.41 (1H, m)
4	33.0	-
5	49.8	1.24 (1H, dd, J=4.8, 13.0 Hz)
6	23.6	2.06 (1H, d, J=5.8 Hz) 1.92 (1H, m)
7	125.6	5.75 (1H, m)
8	138.6	-
9	52.3	2.09 (1H, m)
10	36.7	-
11	25.8	2.34 (1H, d, J=14.8 Hz) 2.15 (1H, m)
12	134.8	5.56 (1H, t, J=6.8 Hz)
13	133.5	-
14	141.3	6.35 (1H, dd, J=10.6, 17.0 Hz)
15	110.6	4.90 (1H, d, J=10.6 Hz) 5.06 (1H, d, J=17.0 Hz)
16	11.9	1.75 (3H, s)
17	66.0	3.88 (1H, d, J=12.8 Hz) 4.05 (1H, d, J=12.8 Hz)
18	33.2	0.86 (3H, s)
19	22.0	0.88 (3H, s)
20	13.9	0.77 (3H, s)

ส่วนสารประกอบ 10 ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วย FT-IR ปรากฏแถบการดูดกลืนที่ 3418-2637 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ที่ 2934 cm^{-1} แสดงการสั่นของ sp^3 C-H ที่ 1711 แสดงการสั่นของหมู่คาร์บอนิล และที่ 1631, 1608 cm^{-1} แสดงการสั่นของ C=C เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MS) พบว่ามีโมเลกุลไอออน (m/z) เป็น 302 ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$

จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิค 1D และ 2D NMR ได้ผลดังตารางที่ 11 พบว่าสารประกอบ 10 คือ labda-7,12(E),14-triene-17-oic acid ซึ่งเป็นสารที่เคยมีการรายงานไว้แล้ว[12]



รูป 9 โครงสร้างสารประกอบ 9

ตารางที่ 11 แสดงผลจากการวิเคราะห์ด้วย ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ของสารประกอบ 10

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	^{13}C	^1H
1	40.8	1.01 (1H, dt, $J=3.6, 13.0$ Hz) 1.20 (1H, m)
2	18.6	1.42 (1H, d, $J=2.8$ Hz) 1.54 (1H, m)
3	42.0	1.16 (1H, d, $J=3.8$ Hz) 1.42 (1H, m)
4	32.8	-
5	49.5	1.21 (1H, d, $J=4.2$ Hz)
6	23.9	2.04 (1H, m) 2.14 (1H, m)

ตำแหน่ง	Chemical shift (ppm)	
	¹³ C	¹ H
7	140.6	6.87 (1H, dt, J=2.0, 6.2 Hz)
8	133.7	-
9	50.0	2.37 (1H, m)
10	36.7	-
11	25.9	2.34 (1H, dd, J=6.2, 16.8 Hz) 2.58 (1H, m)
12	133.4	5.46 (1H, t, J=6.8 Hz)
13	133.1	-
14	141.7	6.31 (1H, dd, J=10.6, 17.2 Hz)
15	110.0	4.84 (1H, d, J=10.6, 17.2 Hz) 4.99 (1H, d, J=17.2 Hz)
16	11.7	1.65 (3H, s)
17	174.1	-
18	33.2	0.85 (3H, s)
19	22.1	0.89 (3H, s)
20	14.8	0.81 (3H, s)