

49356803 : MAJOR : PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND NATURAL PRODUCTS

KEY WORDS : *PTEROSPERMUM GRANDE* / *MITREPHORA WANGII* / DPPH / BRINE SHRIMP LETHALITY / HYPHAE FORMATION ASSAY / CYTOTOXICITY / NEOLIGNAN

PATCHARAWAN TANAMATAYARAT : BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *PTEROSPERMUM GRANDE* CRAIB AND *MITREPHORA WANGII* HU. THESIS ADVISORS : ASSOC.PROF.ONOOMAR TOYAMA, Ph.D. AND ASSOC.PROF.UTHAI SOTANAPHUN, Ph.D. 310 pp.

*Pterospermum grande* Craib (Sterculiaceae) and *Mitrephora wangii* Hu (Annonaceae) are found on Doi Tung. In the preliminary testing, these two methanol plant extracts exhibited antioxidative activity against DPPH and toxicity against brine shrimp.

The structure determination of isolated compounds from both plants was accomplished by spectroscopic methods, namely UV, IR, MS, and NMR and compared with published reports. The chemical investigation of the leaves of *P. grande* yielded seven compounds, including three triterpenes, i.e. taraxerol, taraxerol acetate, and simiarenol, one steroid, i.e.  $\beta$ -sitosterol, three flavonoids, i.e. kaempferol-*O*- $\beta$ -D-galactopyranoside, kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-(4-hydroxy-*E*-cinnamoyl)- $\beta$ -glucopyranoside, and (-)-epicatechin. Investigation of the leaves and the twigs of *Mitrephora wangii* led to the isolation of eleven compounds including three dihydrobenzofuran neolignans, i.e. (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-methoxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*-propenyl)]benzofuran or methyl conocarpan, (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*-propenyl)]benzofuran or 3'-methoxy conocarpan, and (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-hydroxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*-propenyl)]benzofuran or conocarpan, two aporphine alkaloids, i.e. magnoflorine and corytuberine, two phenolic amides, i.e. *N-p*-coumaroyltyramine and *N*-caffeoyltyramine, quebrachitol, linoleic acid, sitosterol-3-*O*- $\beta$ -glucoside, and allantoin. This is the first time of the isolation of methyl conocarpan from nature.

Only the neolignans from *M. wangii* were studied for their biological activities. Conocarpan displayed the strongest toxicity in BSL with LC<sub>50</sub> value of 6.21  $\mu$ g/ml. In hyphae formation inhibition assay, conocarpan exhibited significant activity against *Streptomyces* 85E with diameter of clear zone inhibition of 21 mm and 3'-methoxy conocarpan with that of bald zone inhibition of 11 mm, respectively. Moreover, conocarpan and 3'-methoxy conocarpan were active against HepG2 cell with IC<sub>50</sub> values of 6.3 and 5.9  $\mu$ g/ml, respectively.

49356803 : สาขาวิชาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

คำสำคัญ : สามเต้า / ลำควนคอย / สารต้านอนุมูลอิสระ / ความเป็นพิษต่อไรทะเล / การยับยั้งการสร้าง  
ไฮฟา / ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง / นิโกลิกแนน

พัชรวรรณ ตันอมตยรัตน์ : สารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากสามเต้า และลำควนคอย. อาจารย์  
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภาณุ.รศ.ดร.อรอุมา โตะยามา และ ภาณุ.รศ.ดร.อุทัย โสธนะพันธ์. 310 หน้า.

สามเต้า (*Pterospermum grande* Craib, Sterculiaceae) และลำควนคอย (*Mitrephora wangii* Hu, Annonaceae) เป็นพืชที่พบบนดอยสูง เมื่อนำมาทดสอบเบื้องต้นพบว่าสารสกัดเมทานอลจากพืช 2 ชนิดให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความเป็นพิษต่อไรทะเล

การพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่แยกได้จากพืชทั้งสองชนิดอาศัยวิธีวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโกปี ได้แก่ UV, IR, MS และ NMR ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลของสารเคมีที่เคยมีรายงานมาแล้ว การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากใบของสามเต้าสามารถแยกสารได้ 7 ชนิด คือ ไตรเทอร์พีน จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ taraxerol acetate, taraxerol และ simiarenol สารกลุ่มสเตอรอยด์ จำนวน 1 ชนิด ได้แก่  $\beta$ -sitosterol สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ keampferol-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside, keampferol-3-O- $\beta$ -D-6" (4-hydroxy-*E*-cinnamoyl)- $\beta$ -glucopyranoside และ (-)-epicatechin สำหรับการศึกษากิ่งของลำควนคอยสามารถแยกสารได้จำนวน 11 ชนิด คือ สารกลุ่มนิโกลิกแนน แบบไดไฮโดรเบนโซฟิวแรน จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-methoxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*)-propenyl]benzofuran หรือ methyl conocarpan, (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*)-propenyl]benzofuran หรือ 3'-methoxy conocarpan และ (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4'-hydroxyphenyl)-3-methyl-5-[1-(*E*)-propenyl]benzofuran หรือ conocarpan สารกลุ่มอะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ magnoflorine และ corytuberine สารกลุ่มฟีนอลิก เอไมด์ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *N-p*-coumaryltyramine และ *N*-caffeyltyramine นอกจากนี้พบสารอื่นๆ ได้แก่ quebrachitol, linoleic acid, sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranoside และ allantoin และพบว่า สาร methyl conocarpan พบในธรรมชาติเป็นครั้งแรก

สารกลุ่มนิโกลิกแนนจากลำควนคอยแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ โดย conocarpan แสดงความเป็นพิษต่อไรทะเลสูงที่สุดโดยให้ค่า LC<sub>50</sub> เท่ากับ 6.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับวิธีทดสอบการยับยั้งการสร้างไฮฟาพบว่าสาร conocarpan ให้ค่าการยับยั้งเชื้อ *Streptomyces* 85E โดยแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone เท่ากับ 21 มิลลิเมตร และ 3'-methoxy conocarpan แสดงด้วยเส้นผ่านศูนย์กลางของ bald zone เท่ากับ 11 มิลลิเมตรตามลำดับ นอกจากนี้ conocarpan และ 3'-methoxy conocarpan แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HepG2 ด้วยค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 6.3 และ 5.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์1.....2.....

## ACKNOWLEDGMENTS

I would like to express my sincere thanks to the people who have given me support from the beginning of my study, along the way till the completion of my thesis.

First and foremost, I would like to gratefully and sincerely thank my thesis supervisor Assoc. Prof. Dr. Onoomar Toyama for her guidance, understanding, patience, and kindness during my study at Silpakorn University. I would like to acknowledge Assoc. Prof. Dr. Uthai Sotanaphun as my co-advisor who helped me develop ideas and experiments.

I would also like to thank the members of my thesis examination committee, Asst. Prof. Dr. Kanawan Pochanakom, Assoc. Prof. Dr. Panadda Phattanawasin, and Assoc. Prof. Dr. Rutt Suttisri for their comments.

I would like to express my appreciation to Asst. Prof. Dr. Siripan Limsirichaikul for her assistance in MTT assay.

I would like to express my sincere gratitude to Asst. Prof. Dr. Leng Chee Chang for her help in HFI assay and Dr. Ghee Teng Tan for cytotoxicity test at the University of Hawaii at Hilo.

I would like to thank, environmental authorities of Doi Tung Project, Mr. Thawatchai Katphab and Mr. Jatupong Apipongpisarn.

I would like to thank scientists at the Faculty of Pharmacy and Scientific and Technological Research Equipment Center, Silpakorn University for their kindness and helpful assistances in several experiments. A special acknowledgment is extended to the Department of Pharmaceutical Chemistry and Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University for providing research facilities.

I would like to thank the Commission on Higher Education, Thailand, for financial support in this study.

I am also grateful to Faculty of Pharmacy and the Graduate School of Silpakorn Research Grant, Silpakorn University for partial financial support, and University of Phayao for giving me the opportunity to enter on Ph.D. program.

I also wish to thank all teachers who have taught me all of my life.

I would like to thank my brothers, sisters, and friends, P’Pam, P’Tum, P’Kwad, P’Am, P’Ni, Toey, Aon, Nummon, Aae, Aew, N’Tan, N’Ple, N’Nui, N’Jew, N’Yim, Samour group, and Kawin group for encouragement.

I would also like to thank my best friends, Nok and Dek (Secret Heart College, 1995), for encouragement, support, and stimulation during my thesis.

Finally, my special thanks to my parents for their financial support, encouragement, and love.

