# สารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกของต้นเฉียงพร้านางแอ *Carallia brachiata* Merr.

นายปรีชา โสวรรณทิพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-17-0211-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# FREE RADICAL SCAVENGERS FROM THE BARKS OF *Carallia brachiata* Merr.

**Mr.Preecha Sowanthip**

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**
**for the Degree of Master of Science in Chemistry**

**Department of Chemistry**
**Faculty of Science**
**Chulalongkorn University**

**Academic Year 2001**
**ISBN 974-17-0211-6**

| | |
|---|---|
| **Thesis Title** | FREE RADICAL SCAVENGERS FROM THE BARKS OF *Carallia brachiata* Merr. |
| **By** | Mr.Preecha Sowanthip |
| **Field of Study** | Chemistry |
| **Thesis Advisor** | Assistant Professor Santi Tip-pyang, Ph.D. |

---

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master 's Degree

.....Pipat Karntiang..... Deputy Dean for Administrative Affairs

(Associate Professor Pipat Karntiang, Ph.D.) Acting Dean, Faculty of Science

**Thesis Committee :**

.....Udom Kokpol.....Chairman

(Professor Udom Kokpol, Ph.D.)

.....Santi Tip-pyang.....Thesis Advisor

(Assistant Professor Santi Tip-pyang, Ph.D.)

.....Padet S.....Member

(Professor Padet Sidisunthorn, Ph.D.)

.....A. Shitangkoon.....Member

(Aroonsiri Shitangkoon, Ph.D.)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ปรีชา โสวรรณทิพย์ : สารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกของต้นเฉียงพร้านางแอ**
**(FREE RADICAL SCAVENGERS FROM THE BARKS OF *Carallia brachiata* Merr.) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สันติ ทิพยางค์, 73 หน้า**
**ISBN 974-17-0211-6**

ในการเสาะหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ สิ่งสกัดจากเปลือกต้นเฉียงพร้านางแอ (*Carallia brachiata* Merr.) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จึงเลือกศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชชนิดนี้ จากการแยกสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตต สามารถแยกสารใหม่ได้หนึ่งชนิดคือ afzalachin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin พร้อมกับของผสมสามชนิดและสารบริสุทธิ์อีกสองชนิด ได้แก่ของผสมเอสเทอร์โซ่ตรง, ของผสม stigmasterol กับ β-sitosterol, ของผสม alkyl *trans*-ferulate ester, *p*-hydroxybenzoic acid และ afzalachin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin ซึ่งสารใหม่พิสูจน์ทราบโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าของผสม alkyl *trans*-ferulate ester, afzalachin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin และ afzalachin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับ DPPH ด้วยค่า $IC_{50}$ 134.96, 98.86, 83.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ afzalachin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin และ afzalachin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin แสดงฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันเมื่อทดสอบด้วยวิธี ferric thiocyanate assay นอกจากนั้นยังแสดงฤทธิ์สูงต่อการทดสอบด้วยวิธี superoxide dismutase, xanthine oxidase inhibition โดยเทียบกับ BHA และ allopurinol ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....เคมี..... ลายมือชื่อนิสิต....ปรีชา โสวรรณทิพย์.....
สาขาวิชา.....เคมีอินทรีย์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา....สันติ ทิพยางค์
ปีการศึกษา.....2544..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4272337723 : MAJOR CHEMISTRY

KEY WORD : Free radical scavenger, Antioxidant, *Carallia brachiata*

**PREECHA SOWANTHIP : FREE RADICAL SCAVENGERS FROM THE BARKS OF *Carallia brachiata* Merr.**

**THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR SANTI TIP-PYANG, Ph.D., 73 pp.** ISBN 974-17-0211-6

In a search for bioactive compounds, the crude extracts from the barks of *Carallia brachiata* Merr. showed significant free radical scavenging activity. This plant was selected for further study on chemical constituents. The fractionation of dichloromethane and ethyl acetate crude extracts led to the isolation of one new compound, afzelechin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin together with three known mixtures and two pure compounds, a mixture of long chain aliphatic esters, a mixture of a stigmasterol and β-sitosterol, a mixture of alkyl *trans*-ferulate ester, *p*-hydroxybenzoic acid and afzelechin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin. The new compound was elucidated by spectroscopic method.

The biological activities results indicated that a mixture of alkyl *trans*-ferulate ester, afzelechin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin and afzelechin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin showed significant activity on DPPH with $IC_{50}$ 134.96, 98.86 and 83.49 μg/ml, respectively. Afzelechin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin and afzelechin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin also showed antioxidant activity with ferric thiocyanate assay. In addition, afzelechin-(4→8, 2→O→7)-epiafzelechin and afzelechin-(4→6, 2→O→7)-afzelechin-(4→8, 2→O→7)-afzelechin were exhibited strong activities on superoxide dismutase and xanthine oxidase inhibition methods by comparison with BHA and allopurinol, respectively.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department.....Chemistry.....Student's signature.....

Field of study...Organic Chemistry...Advisor's signature.....Santi Tip-pyang

Academic year.....2001.....

## ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to express gratitude to his advisor, Assistant Professor Dr.Santi Tip-pyang for his assistance and valuable advice in conducting this research. He wish to thank the members of his thesis committee, Professor Dr.Udom Kokpol, Professor Dr.Padet Sidisunthorn and Dr.Aroonsiri Shitangkoon for their comments and suggestions. He would like to acknowledge Mr.Preecha Phuwapraisirisan for operating FABMS data, Ms.Pongpun Siripong (Natural Products Research Section, Reseach Division, National Cancer Institute, Thailand) for testing cytotoxic activity against KB cell lines, Ms.Suratwadee Jiwajinda (Kampangsan, Kasetsart University) for providing xanthine oxidase bioassay method and Dr.Numthip Sitachitta for her good advice. The author wished to express sincere thanks to faculty of science and graduate school, Chulalongkorn University for the financial support. Moreover, thanks was also extended to Natural Products Research Unit, Department of Chemistry, Chulalongkorn University for the chemicals and laboratory facilities throughout the course of study and the staff of the Scientific and Technology Research Equipment Center, Chulalongkorn University for giving services on samples analyses.

He would also like to express his appreciation to his parents for their great support and encouragement throughout the course of his education. Finally, his thanks to all of his friends for their friendship and help during his graduate studies.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# CONTENTS

**Pages**



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# List of Figures

**Pages**

## List of Scheme





ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## List of Tables



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## List of Abbreviations

| | |
|---|---|
| BHA | = butylated hydroxyanisole |
| °C | = degree celsius |
| CC, $SiO_2$ | = column chromatography using silica gel as adsorbent |
| $CD_3OD$ | = deuterated methanol |
| $CDCl_3$ | = deuterated chloroform |
| COSY | = two – dimensional 1H correlation spectroscopy |
| δ | = chemical shift |
| d | = doublet |
| dd | = doublet of doublet |
| DEPT | = distortionless enhancement by polarization transfer |
| DMSO | = dimethylsulfoxide |
| DPPH | = 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl radical |
| DPPHn | = 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazine |
| EIMS | = electron impact mass spectrometry |
| FABMS | = fast atom bombardment mass spectrometry |
| FT | = fourier transform |
| g | = gram |
| GC | = gas chromatography |
| HMBC | = heteronuclear multiple bond connectivity by 2D multiple quantum NMR |
| HMQC | = $^1H$ – detected heteronuclear multiple quantum coherence via direct coupling |
| Hz | = hertz |
| $IC_{50}$ | = inhibition concentration (concentration caused 50% inhibition) |
| IR | = infrared |
| *J* | = coupling constant |
| kg | = kilogram |
| m | = multiplet |
| m.p. | = melting point |
| m/z | = mass per charge |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| | |
|---|---|
| mg | = milligram |
| μg | = microgram |
| ml | = milliliter |
| mM | = milimolar |
| MW | = molecular weight |
| NBT | = nitrobluetetrazolium |
| nm | = nanometre |
| NMR | = nuclear magnetic resonance |
| NOESY | = nuclear overhauser and exchange spectroscopy |
| $\nu_{max}$ | = wave number cause maximum absorption |
| ppm | = part per million (or mg/g) |
| q | = quartet |
| $R_f$ | = retardation factor |
| s | = singlet |
| t | = triplet |
| TLC | = thin layer chromatography |
| UV | = ultra-violet |
| w/w | = weight by weight |
| XA | = xanthine |
| XOD | = xanthine oxidase |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย