สารแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดที่มีขั้วจากลำต้นพะยุง

นาย สุระศักดิ์ ศรีสุขพลรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-17-0212-4

BIOACTIVE COMPOUNDS OF THE POLAR EXTRACTS FROM THE STEMS OF *Dalbergia cochinchinensis*

Mr. Surasak Seesukphronrarak

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 974-17-0212-4

Thesis Title	Bioactive compounds of the polar extracts from the stems of *Dalbergia cochinchinensis*
By	Mr. Surasak Seesukphronrarak
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.)

W. Bhanthumnavin .....Member
(Assistant Professor Worawan Bhanthumnavin, Ph.D.)

สุระศักดิ์ ศรีสุขพลรักษ์ : สารแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดที่มีขั้วจากลำต้นพะยุง (Bioactive compounds of the polar extracts from the stems of *Dalbergia cochinchinensis*) **อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สันติ ทิพยางค์, 162 หน้า**
ISBN 974-17-0212-4

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตจากลำต้นพะยุง สามารถแยกสารใหม่ได้ 1 ชนิด คือ 5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavonequinone (**13**) และสารที่เคยพบแล้วอีก 12 ชนิด ได้แก่ genistein (**1**), calycosin (**2**), pratensein (**3**), tectorigenin (**4**), formononetin (**5**), secundiflorol H (**6**), claussequinone (**7**), 5,7,3',5,-tetrahydroxyflavanone (**8**), naringenin (**9**), liquiritigenin (**10**), soliquiritigenin (**11**) และ bowdichione (**12**) สูตรโครงสร้างของสารชนิดใหม่สามารถหาได้ด้วยวิธีการทางสเปกโทรสโคปี และ เปรียบเทียบข้อมูลกับสารที่เคยพบแล้วแบบเดียวกัน และยืนยันด้วย single crystal x-ray diffraction

ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้มีการทดสอบฤทธิ์ antioxidant ของสารที่แยกได้ด้วยวิธีต่างๆ อันได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ อนุมูล superoxide โดยเปรียบเทียบกับ BHA (antioxidant ในทางการค้า) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้พบว่า สาร **8** มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH (IC_{50} 0.080 mM) สูงสุดของสารที่แยกได้ทั้งหมด ในขณะที่ สาร **2**, **3** และ **6** มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH (IC_{50} 0.530, 0.620 และ 0.415 mM) ปานกลาง อย่างไรก็ตาม สาร **3**, **12** และ **13** ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้ง superoxide anion radical (IC_{50} 8.00, 1.55 และ 1.40 μM) สูงกว่า BHA (IC_{50} 9.50 μM) นอกจากนี้ สาร **5** และ **11** ยังแสดงความเป็นพิษปานกลางต่อ KB cell lines (IC_{50} 9 และ 8 μg / ml)

ภาควิชา.....เคมี..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เคมี..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2544..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4372465423 : MAJOR CHEMISTRY

KEY WORD : *Dalbergia cochinchinensis* / BIOACTIVE COMPOUND / ANTIOXIDANT

SURASAK SEESUKPHRONRARAK : BIOACTIVE COMPOUNDS OF THE POLAR EXTRACTS FROM THE STEMS OF *Dalbergia cochinchinensis.* THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SANTI TIP-PYANG, Ph.D., 162 pp.

ISBN 974-17-0212-4

The investigation for chemical constituents and their biological activity from crude ethyl acetate extract of *Dalbergia* cochinchinensis led to the isolation of one new compound, 5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavonequinone (**13**) , as well as twelve known compounds, genistein (**1**), calycosin (**2**), pratensein (**3**), tectorigenin (**4**), formononetin (**5**), secundiflorol H (**6**), claussequinone (**7**), 5,7,3',5,-tetrahydroxyflavanone (**8**), naringenin (**9**), liquiritigenin (**10**), isoliquiritigenin (**11**) and bowdichione (**12**). The structure of the new compound was determined by spectroscopic method, comparison the data with the same type of known compounds, and confirmed by single crystal x-ray diffraction.

In biological activity, the isolated compounds were evaluated by various antioxidant assays, including free radicals and superoxide anion radical scavenging activities by comparison with BHA (commercial antioxidant). The biological activity results indicated that compound **8** showed highest free radical scavenging activity on DPPH (IC_{50} 0.080 mM) among the isolated compounds while compound **2**, **3** and **6** showed moderate activity (IC_{50} 0.530, 0.620 and 0.415 mM). However, compound **3**, **12** and **13** showed more potent superoxide anion radical scavenging activity (IC_{50} 8.00, 1.55 and 1.40 μM) than BHA (IC_{50} 9.50 μM). In addition, compound **5** and **11** also showed moderate in vitro cytotoxicity against KB cell lines (IC_{50} 9 and 8 μg / ml)

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

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

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

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to express his appreciation to his advisor, Assistant Professor Dr.Santi Tip-pyang for his assistance and encouragement in conducting this research. He wished to thank the members of his thesis committee, Professor Dr. Udom kokpol, Professor Dr. Padet Sidisunthorn and Assistant Professor Dr. Worawan Bhanthumnawin for their valuable discussion and advice. He would like to acknowledge Miss. Pongpun Siripong (Natural Products Research Section, Research Division, National Cancer Institute, Thailand) for testing cytotoxic activity against KB cell lines and Dr. Thammarat Aree for obtaining and suggestion on single crystal X-ray diffraction technique.

Special appreciation is expressed to the staff of the Natural Products Research Unit, Department of Chemistry, Chulalongkorn University, for the support of chemicals and laboratory facilities throughout the course of study. Moreover, thanks are extended to the Faculty of science and Graduate School of Chulalongkorn University for financial support.

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

CONTENTS

Pages

List of Figures

Pages

Pages

Pages

List of Schemes

List of Tables

Pages

List of Abbreviations

CC, SiO_2	= column chromatography using silica gel as absorbent
TLC	= thin layer chromatography
R_f	= retardation factor
m.p.	= melting point
°C	= degree celsius
w/w	= weight by weight
g	= gram
Kg	= kilogram
mg	= milligram
µg	= microgram
ml	= millilitre
nm	= nanometre
mM	= millimolar
UV	= ultra-violet
EIMS	= electron impact mass spectrometry
m/z	= mass per charge
MW	= molecular weight
IR	= infrared
ν_{max}	= wave number cause maximum absorption
FT	= fourier transform
NMR	= nuclear magnetic resonance
DMSO	= dimethylsulfoxide
$CDCl_3$	= deuterated chloroform
CD_3OD	= deuterated methanol
δ	= chemical shift
J	= coupling constant
Hz	= hertz
s	= singlet
d	= doublet

dd	= doublet of doublet
t	= triplet
q	= quartet
m	= multiplet
DEPT	= distortionless enhancement by polarization transfer
NOE DIFF	= nuclear overhauser effect difference
ppm	= parts per million (or μg/ml)
OMe	= methoxy
OH	= hydroxy
DPPH	= 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical
DPPHn	= 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine
BHA	= butylated hydroxyanisole
XO	= xanthine oxidase