ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบไดเทอร์ปีนของเปลือกต้นเปล้าใหญ่ *Croton oblongifolius* Roxb. จังหวัดฉะเชิงเทรา

นางสาว พัชรา บุญญามณี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-347-042-5

CYTOTOXITY TO CANCER CELL LINES OF DITERPENOID COMPOUNDS FROM STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM CHACHOENGSAO PROVINCE

Miss Patchara Bunyamanee

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 2000

ISBN 974-347-042-5

Thesis Title	CYTOTOXICITY TO CANCER CELL LINES OF DITERPENOID COMPOUNDS FROM STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM CHACHOENGSAO PROVINCE
BY	Miss Patchara Bunyamanee
Field of Study	Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Amorn Petsom

.....

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

..... Dean of Faculty of Science

(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)

Thesis Committee

..... Chairman

(Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Nattaya Ngamrojnavanich, Ph.D.)

..... Member

(Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, M.Sc. in Pharm.)

..... Member

(Associate Professor Anongrat Karntiang, Ph.D.)

พัชรา บุญญามณี : ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบไดเทอร์ปีนของเปลือกต้นเปล้าใหญ่ *Croton oblongifolius* Roxb. จังหวัดฉะเชิงเทรา (CYTOTOXICITY TO CANCER CELL LINES OF DITERPENOID COMPOUNDS FROM STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM CHACHOENGSAO PROVINCE)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. อมร เพชรสม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์
117 หน้า. ISBN 974-347-042-5

การสกัดเปลือกต้นเปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius* Roxb.) จากจังหวัดฉะเชิงเทรา ด้วยเฮกเซนและเอธิลอะซิเตต สามารถแยกของผสมสเตอรอยด์ได้ 1 ชนิดและสารบริสุทธิ์อีก 6 ชนิด การหาสูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้อาศัยคุณสมบัติทางกายภาพและเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี สารเหล่านี้คือ ของผสมของ stigmasterol, β-sitosterol และ campesterol (5), สารประกอบเคลอโรเดนไดเทอร์ปีนอยด์ 2 ชนิดคือ (-)-hardwickiic acid (2) และ (-)-20-benzyloxyhardwickiic acid (7) และสารประกอบแลบเดนไดเทอร์ปีนอยด์ 4 ชนิดคือ labda-7,12(*E*),14-triene-17-oic acid (1), 2-acetoxy-labda-8(17),12(*E*),14-triene-3-ol (3), 3-acetoxy-labda-8(17),12(*E*),14-triene-2-ol (4) และ labda-8(17),12(*E*),14-triene-2,3-diol (6) และนำสารที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็ง Hep-G2 (ตับ), SW 620 (ลำไส้ใหญ่), Chago (ปอด), Kato-3 (กระเพาะอาหาร) และ BT 474 (เต้านม) พบว่าสารประกอบ 3 และ 6 มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิด สารประกอบ 4 มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งตับและมะเร็งกระเพาะอาหารได้ในระดับปานกลาง และเป็นครั้งแรกในการรายงานผลการทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็งของ (-)-hardwickiic acid (2)

ภาควิชา.....เคมี..... **ลายมือชื่อนิสิต**.....พัชรา บุญญามณี.....
สาขาวิชา.....เคมีอินทรีย์..... **ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา**.....
ปีการศึกษา.....2543..... **ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม**.....

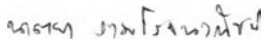
PATCHARA BUNYAMANEE : CYTOTOXICITY TO CANCER CELL LINES OF DITERPENOID COMPOUNDS FROM STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM CHACHOENGSAO PROVINCE.

THESIS ADVISOR : Associate. Professor. AMORN PETSOM, Ph.D.

THESIS Co-ADVISOR : NATTAYA NGAMROJNAVANICH, Ph.D.

117 pp. ISBN 974-347-042-5

Extraction of the stem barks of *Croton oblongifolius* Roxb. from Chachoengsao province with hexane and ethyl acetate gave a mixture of steroids and six compounds. The structures of these substances were established on the basis of physical properties and spectroscopic data. They were a mixture of stigmasterol, β-sitosterol and campesterol (5), two clerodane diterpenoids; (-)-hardwickiic acid (2) and (-)-20-benzyloxyhardwickiic acid (7) and four labdane diterpenoids; labda-7,12(*E*),14-triene-17-oic acid (1), 2-acetoxy-labda-8(17),12(*E*),14-triene-3-ol (3), 3-acetoxy-labda-8(17),12(*E*),14-triene-2-ol (4) and labda-8(17),12(*E*),14-triene-2,3-diol (6). They were tested for their cytotoxicity against human tumor cell lines; Hep-G2 (hepatoma), SW 620 (colon), Chago (lung), Kato-3 (gastric) and BT 474 (breast). Compound 3 and 6 showed significant cytotoxicity against all cell lines. Compound 4 exhibited moderate cytotoxicity against Hep-G2 and Kato-3. Moreover, this is the first report of cytotoxicity test of (-)-hardwickiic acid (2).

Department.....Chemistry.....	**Student's signature**.....Patchara Bunyamanee.....
Field of study...Organic chemistry.....	**Advisor's signature**..... 
Academic year.....2000.....	**Co-advisor's signature**..... 

ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to express her deepest appreciation to her advisor, Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D., and co-advisor, Dr. Nattaya Ngamrojnavanich, for their encouraging guidance, supervision and beneficial suggestions throughout the course of this research. The author is grateful for the suggestions and guidance given by Dr. Pravit Singtotong and Mr. Damrong Sommit during the research work. She would also like to thank Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D. for serving as chairman of her thesis committee and for the valuable comments from Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth and Associate Professor Anongrat Karntiang, Ph.D.

Gratitude is also extended to the Department of Chemistry, Faculty of Science and the Graduate School, Chulalongkorn University for the financial support and to Mrs. Songchan Phuthong, Institute of Biotechnology and Genetic Engineering for cytotoxicity test.

Finally, special thanks are given to her friends for their cooperation and mental supports during this work. Furthermore, the author wishes to express sincere gratitude to her parents for all things that they have endured and sacrificed for her success.

CONTENTS

Page

LIST OF TABLES

Table Page

Table Page

LIST OF FIGURES

Figure Page

Figure Page

LIST OF SCHEMES

Scheme Page

ABBREVIATIONS

b.p.	=	Boiling point
br s	=	Broad singlet (for NMR spectra)
c	=	Concentration
^{o}C	=	Degree Celsius
$CDCl_3$	=	Deuterated chloroform
$CHCl_3$	=	Chloroform
CH_2Cl_2	=	Dichloromethane
cm	=	Centimeter
^{13}C-NMR	=	Carbon-13 nuclear magnetic resonance
COSY	=	Correlated Spectroscopy
d	=	Doublet (for NMR spectra)
dd	=	Doublet of doublet (for NMR spectra)
ddd	=	Doublet of doublet of doublet (for NMR spectra)
DEPT	=	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	=	Dimethyl sulfoxide
δ	=	Chemical Shift
EI MS	=	Electron Impact Mass Spectrum
EtOAc	=	Ethyl acetate
g	=	Gram
^{1}H-NMR	=	Proton nuclear magnetic resonance
Hz	=	Hertz
HMBC	=	Heteromolecular Multiple Bond Correlation
HMQC	=	Heteromolecular Multiple Quantum Correlation
IR	=	Infrared spectrum
J	=	Coupling constant

kg	=	Kilogram
L	=	Litre
M^+	=	Molecular ion
mg	=	Milligram
MHz	=	Megahertz
ml	=	Millilitre
mm	=	Millimetre
m.p.	=	Melting point
MeOH	=	Methanol
M	=	Molar
m/z	=	Mass to charge ratio
M.W.	=	Molecular weight
MS	=	Mass spectrometry
No.	=	Number
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	=	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
ppm	=	Part per million
q	=	Quartet (for NMR spectra)
s	=	Singlet (for NMR spectra)
t	=	Triplet (for NMR spectra)
TLC	=	Thin layer Chromatography
wt	=	Weight
R_f	=	Retention factor in chromatography