การเสาะหาสารควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stal) จากพันธุ์ไม้ไทย

นายปริญญา ก่อศรีพิทักษ์กุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548
ISBN 974-14-1813-2

SEARCHING FOR BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* (Stal) CONTROL AGENTS FROM THAI PLANTS

Mr. Parinya Korsriphithakkul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2005

ISBN 974-14-1813-2

Thesis Title	SEARCHING FOR BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* (Stal) CONTROL AGENTS FROM THAI PLANTS
By	Mr. Parinya Korsriphithakkul
Field of Study	Biotechnology
Thesis Advisor	Professor Udom Kokpol, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.

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

T. Vitidsant ..... Deputy Dean for Administrative Affairs, Acting Dean, The Faculty of Science

(Associate Professor Tharapong Vitidsant, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)

Udom Kokpol ..... Thesis Advisor

(Professor Udom Kokpol, Ph.D.)

Warinthorn Chavasiri ..... Thesis Co-advisor

(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

Kingkaew Wattanasermkit ..... Member

(Associate Professor Kingkaew Wattanasermkit, Ph.D.)

N. Ngamrojanavanich ..... Member

(Associate Professor Nattaya Ngamrojanavanich, Ph.D.)

ปริญญา ก่อศรีพิทักษ์กุล : การเสาะหาสารควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stal) จากพันธุ์ไม้ไทย (SEARCHING FOR BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* (Stal) CONTROL AGENTS FROM THAI PLANTS) อ. ที่ปรึกษา : ศ. ดร.อุดม ก๊กผล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร.วรินทร ชวศิริ, 100 หน้า. ISBN 974-14 -1813 -2.

จากผลการคัดเลือกและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสิ่งสกัดเอทานอลจากพันธุ์ไม้ไทย 14 ชนิด พบว่าสิ่งสกัดของลูกชะพลูแสดงฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงต่อตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีที่สุด ด้วยค่า LC_{50} 3,981 ppm โดยวิธี Topical application เมื่อเปรียบเทียบกับอีโทเฟนพรอกซ์(5%) และแสดงฤทธิ์กับตัวอ่อนระยะ 5 ด้วยค่า LC_{50} 5,718 ppm และแสดงฤทธิ์กับตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วยค่า LC_{50} 5,462 ppm โดยวิธี Parafilm จึงทำการสกัดแยกตามความมีขั้วเป็นส่วน จากการติดตามฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สิ่งสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์ทางชีวภาพดีที่สุด จึงทำการแยกสิ่งสกัดโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้สมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี สามารถพิสูจน์ทราบโครงสร้างได้ 6 ชนิด 1) pellitorine, 2) sylvamine, 3) stigmasterol, 4) 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1*E*-tetradecene, 5) long chain carboxylic acid และ 6) methyl piperate สารทั้งหมดที่แยกได้ พบว่า pellitorine และ sylvamine เป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์และเป็นสารองค์ประกอบหลัก pellitorine และ sylvamine แสดงฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วยค่า LC_{50} 3,834 ppm และ 2,827 ppm ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับคาร์โบซัลเฟน (98%) ด้วยค่า LC_{50} 2,859 ppm จากนั้นได้ศึกษาการเข้าจับกันระหว่างสารออกฤทธิ์ทั้งสองกับ acetylcholinesterase enzyme โดยวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง พบว่า สารออกฤทธิ์ทั้งสองชนิดสามารถเข้าจับกับเอนไซม์บริเวณแอคทีฟไซต์ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับคาร์โบซัลเฟน โดยมีพลังงานการเข้าจับใกล้เคียงกัน ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและการเข้าจับกันของ pellitorin และ sylvamine แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงสำหรับตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....ปาริญญา ก่อศรีพิทักษ์กุล.....

ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4572367823 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: Insecticides/ *Nilaparvata lugens* (Stal)/ *Piper sarmentosum*/ Pellitorine/ Sylvamine

PARINYA KORSRIPHITHAKKUL: SEARCHING FOR BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* (Stal) CONTROL AGENTS FROM THAI PLANTS. THESIS ADVISOR: PROF. UDOM KOKPOL, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASST PROF. WARINTHORN CHAVASIRI, Ph.D., 100 pp. ISBN 974-14-1813 -2.

From the results of preliminary screening bioactivity test of ethanolic extracts from 14 Thai plants, it was found that the extract of the fruits of *P. sarmentosum* displayed the strong insecticidal activity against adult brown planthoppers by Topical application method with LC_{50} 3,981 ppm compared with etofenprox (5%). In addition, exhibited LC_{50} 5,718 ppm against nymph fifth stage and showed LC_{50} 5,462 ppm against adult brown planthoppers by Parafilm method. Therefore, then extract were followed with solvent polarity parts. The bioassay-guided as a navigator of fractionation. The hexane extract displayed the highest bioactivity. Consequently, this extract could be separated by column chromatography by on the basis of physical and spectroscopic. The structure could be identified 6 compounds. 1) pellitorine, 2) sylvamine, 3) stigmasterol, 4) 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1*E*-tetradecene, 5) long chain carboxylic acid and 6) methyl piperate. All the separated compounds pellitorine and sylvamine were alkaloid and major compounds. Both, pellitorine and sylvamine showed insecticidal activity against adult brown planthoppers by Topical application method with LC_{50} 3,834 ppm and LC_{50} 2,827 ppm when compared to carbosulfan(98%) with LC_{50} 2,859 ppm. From the study binding between bioactive compounds with acetylcholinesterase enzyme by molecular docking method. Found that both pellitorine and sylvamine were bioactive compounds could be bind in active site of AChE when compared carbosulfan were shown binding energy of compounds correlation. From this study the bioactivity and binding of pellitorine and sylvamine with acetylcholinesterase enzyme exhibit insecticidal activity against adult brown planthoppers.

Field of study……Biotechnology…… Student's signature P. Korsriphithakkul

Academic year ……2005…….. Advisor's signature U. Kokpol

Co-advisor's signature W. Chavasiri

Acknowledgements

The author wishes to express his sincere gratitude to Professor Dr. Udom Kokpol, his major advisor, and for their kind help. Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri, his co-advisor. Thanks are also extended to Professor Dr. Sophon Roengsumran, Associate Professor Dr. Kingkaew Wattanasermkit and Associate Professor Dr. Nattaya Ngamrojnavanich, serving as the chairman and members of this committee, respectively, for their valuable comments and suggestion.

The author is also greatful to Mrs. Wantana Sriratanasak' entomologist at Rice Research Institute' Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative for supporting brown planthopper, rice cultivar and manual of testing insecticides and Pathum Thani Rice Center for supporting rice cultivar Rice Division (RD) 7. The author would express sincere thank to Assistant Professor Dr. Thiti Budharugsa, Assistant Professor Dr. Somnuk Bungard from Faculty of Science' Ramkhamhaeng University for their suggestion for the use of the Microapplicator.

Special thanks are gratitute to Associate Professor Dr. Sirirat Kokpol and Assistant Professor Dr. Somsak Tonmunphean, Computational Chemistry Unit Cell, department of Chemistry, Faculty of Science Chulalongkorn University for proceeding molecular docking section. In addition thanks are extended to Assistant Professor Dr. Preecha Phuwapraisirisarn for interpreting ^{1}H- and ^{13}C-NMR spectra, Mr. Ong-art Thanetmit, Miss Wanida Munbunjong and Miss Nadtanet Nanthaboot, Ph.D. students for helpful advice throughout the entire period of this research.

Finally, the author gratefully acknowledge the financial support from Graduate School, Chulalongkorn University to conduct this research and his parents and family member for their inspiration, understanding, and encouragement throughout the entire study.

CONTENTS

pages

pages

pages

LIST OF FIGURES

Figures pages

LIST OF TABLES

Tables pages

Tables pages

LIST OF SCHEMES

Schemes pages

LIST OF ABBREVIATIONS

°C	degree Celsius
^{1}H-NMR	proton nuclear magnetic resonance
^{13}C-NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	denaturated chloroform
cm^{-1}	unit of wavenumber
CH_2Cl_2	dichloromethane
C_6H_{14}	*n*-henane
d	doublet (NMR)
dd	doublet of doublet (NMR)
s	singlet (NMR)
DMSO	dimethylsulfoxide
EtOAc	ethyl acetate
g	gram(s)
h	hour
IR	infrared
J	coupling constant
Kg	kilogram(s)
MeOH	methanol
m/z	mass per charge
min	minute(s)
mg	milligram(s)
mL	milliliter(s)
No.	number
ppm	part per million
s	singlet (NMR)
t	triplet (NMR)
wt/wt	weight by weight
δ	chemical shift