

การแยกและหาสูตรโครงสร้างของสารประกอบจากเปลือกรากคนทา



นายประวิทย์ สิงห์โตทอง

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2537

ISBN 974-584-673-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

๑๔๒๔๔๙๙๗

ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF COMPOUNDS
FROM ROOT BARK OF *Harrisonia perforata* Merr.

Mr. PRAVIT SINGTOHONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Chemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-584-673-2

THESIS TITLE

ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF
COMPOUNDS FROM ROOT BARK OF *Harrisonia*
perforata Merr.

By

Mr. Pravit Singtothong

Department

Chemistry

Thesis Advisor

Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.



Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment
of the requirements for the Master's degree.

Thavorn Vajrabhaya Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Chaiyo Chaichantipayuth Chairman

(Associate Professor Chaiyo Chaichantipayuth, M.Sc.)

Amorn Petsom Member

(Assistant Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

Preecha Ngoviwatchai Member

(Mr. Preecha Ngoviwatchai, Ph.D.)

Sophon Roengsumran Member

(Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)



พิมพ์ด้วยน้ำเงินบัดบักด้วยอวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ประวิทย์ สิงห์โตทอง : การแยกและหาสูตรโครงสร้างของสารประกอบจากเปลือก
รากคนทา (ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF
COMPOUNDS FROM ROOT BARK OF *Harrisonia perforata* Merr.

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. โภสภณ เริงสำราญ, 119 หน้า ISBN 974-584-673-2

นำเปลือกรากคนทา (*Harrisonia perforata* Merr.) มาสกัดด้วยเมทานอล ได้สาร
สกัดเมทานอล นำสารสกัดนี้มาสกัดต่อด้วยไคลอฟิลล์และเมทานอล ได้สารสกัดไคลอฟิล
ลีเชอร์และเมทานอล นำสารสกัดทั้งสองมาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์ไฮโดรโฟฟิลิก สามารถ
แยกสารได้ 5 ชนิด การหาสูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้ อาศัยคุณสมบัติทางกายภาพ
คุณสมบัติทางเคมีและหลักฐานทางสเปกตรอสโคปี สาร 4 ชนิดที่สามารถหาสูตรโครงสร้าง
ได้คือ ของผสมของ saturated and unsaturated hydrocarbon, ของผสมของ campesterol,
stigmasterol และ β -sitosterol, harrisonin และ obacunone สำหรับสารอีกชนิดหนึ่งยัง
ไม่สามารถออกสูตรโครงสร้างได้

ภาควิชา ๖๗๘
สาขาวิชา ๖๗๙
ปีการศึกษา ๒๕๓๖

ลายมือชื่อนิสิต ปริญญา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



C525153 : MAJOR CHEMISTRY
KEY WORD: ROOT BARK/ *Harrisonia perforata* Merr.

PRAVIT SINGTOOTHONG : ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF COMPOUNDS FROM ROOT BARK OF *Harrisonia perforata* Merr.

THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SOPHON ROENGSUMRAN, Ph.D. 119 pp.

ISBN 974-584-673-2

The root bark of *Harrisonia perforata* Merr. was extracted by methanol to afford crude extract. This crude was further extracted by diethyl ether and methanol, giving diethyl ether and methanol crude extracts. All of crudes were isolated by column chromatography and five compounds were obtained. The structures of these compounds were established on the basis of physical properties, chemical properties and spectral evidences. Four identified components were a mixture of saturated and unsaturated hydrocarbon compounds, a mixture of campesterol stigmasterol and β -sitosterol, harrisonin and obacunone. In addition, there was another compound whose structure was unidentified.

ภาควิชา.....
สาขาวิชา.....
ปีการศึกษา.....

เคมี
เคมี
2536

ลายมือชื่อนิสิต ประวิทย์ สิงห์ตานตระ^{กุล}
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my sincere appreciation and heartfull gratitude to Associated Professor Dr. Sophon Roengsumran, my major advisor, for his kindly helping, guiding and continuous encouraging me throughout the course of this research. I grateful to the Rhone-Poulenc Group and Professor Jean-Marie Lehn, University of Louis Pasteur (France) for their kindness to grant me a Rhone-Poulenc Professor Lehn Scholarship, during 1993. I greatly appreciated Associated Professor Chaiyo Chaichantipayut, Assistant Professor Dr. Amorn Petsom, and Dr. Preecha Ngoviwatchai for their comment and suggestion. Moreover, Thanks are extended to the Graduate School and the Department of Chemical Faculty of Science, Chulalongkorn University for the financial support and to the staffs of the Scientific and Technology Research Equipment Centre, Chulalongkorn University for giving services on sample analysis.



CONTENTS

	Page
Abstract in Thai	iv
Abstract in English	v
Acknowledgement	vi
List of Figures	ix
List of Schemes	xii
List of Tables	xiii
List of Abbreviations	xv
Chapter	
I INTRODUCTION	1
- Botanical Aspects of <i>Harrisonia perforata</i> Merr.	1
- Chemical Constituents of the Genera <i>Harrisonia</i>	2
- Pharmacological Activity	8
- The Target of this Research	9
II EXPERIMENTS AND RESULTS	10
- Plant Materials	10
- Instruments and Equipments	10
- Chemical Reagents	11
- Physical Separation Techniques	12
- Extraction	12
- Isolation of Chemical Constituents from the	14
Root bark of <i>Harrisonia perforata</i> Merr.	
- Fractionation of Fraction I.	14
- Fractionation of Fraction II	16

	Page
- Purification and Structural Elucidation of Eluted Compounds	17
from the Column Chromatography	
- Purification and structural elucidation of PA-1.....	17
- Purification and structural elucidation of PA-2	18
- Purification and structural elucidation of PA-3	19
- Purification and structural elucidation of PA-4	20
- Purification and structural elucidation of PA-5	21
III RESULTS AND DISCUSSION	23
- Structural Elucidation of PA-1	23
- Structural Elucidation of PA-2	30
- Structural Elucidation of PA-3	36
- Structural Elucidation of PA-4	43
- Structural Elucidation of PA-5	49
IV CONCLUSION	56
REFERENCES	57
APPENDIX	60
VITA	119

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1 Chemical constituents of some <i>Harrisonia</i> genera	4-7
2 The IR spectrum of PA-1	61
3 The GC-MS chromatogram of PA-1	62
4 The mass spectrum of PA-1 at retention time 12.72 min.	63
5 The mass spectrum of PA-1 at retention time 16.09 min.	64
6 The mass spectrum of PA-1 at retention time 18.11 min.	65
7 The mass spectrum of PA-1 at retention time 18.42 min.	66
8 The mass spectrum of PA-1 at retention time 20.22 min.	67
9 The mass spectrum of PA-1 at retention time 21.48 min.	68
10 The mass spectrum of PA-1 at retention time 21.77 min.	69
11 The mass spectrum of PA-1 at retention time 22.21 min.	70
12 The mass spectrum of PA-1 at retention time 22.58 min.	71
13 The mass spectrum of PA-1 at retention time 22.71 min.	72
14 The mass spectrum of PA-1 at retention time 23.88 min.	73
15 The mass spectrum of PA-1 at retention time 25.26 min.	74
16 The mass spectrum of PA-1 at retention time 25.63 min.	75
17 The mass spectrum of PA-1 at retention time 25.88 min.	76
18 The mass spectrum of PA-1 at retention time 26.49 min.	77
19 The mass spectrum of PA-1 at retention time 27.00 min.	78
20 The mass spectrum of PA-1 at retention time 29.20 min.	79
21 The mass spectrum of PA-1 at retention time 33.36 min.	80
22 The mass spectrum of PA-1 at retention time 34.13 min.	81

Figure	Page
23 The mass spectrum of PA-1 at retention time 35.40 min.	82
24 The mass spectrum of PA-1 at retention time 37.38 min.	83
25 The mass spectrum of PA-1 at retention time 41.06 min.	84
26 The mass spectrum of PA-1 at retention time 45.83 min.	85
27 The mass spectrum of PA-1 at retention time 46.16 min.	86
28 The mass spectrum of PA-1 at retention time 46.93 min.	87
29 The mass spectrum of PA-1 at retention time 47.08 min.	88
30 The mass spectrum of PA-1 at retention time 50.91 min.	89
31 The IR spectrum of PA-2	90
32 The ^1H NMR spectrum of PA-2	91
33 The ^{13}C NMR spectrum of PA-2	92
34 The EI mass spectrum of PA-2	93
35 The GC-MS chromatogram of PA-2	94
36 The IR spectrum of PA-3	95
37 The ^1H NMR spectrum of PA-3	96
38 The ^{13}C NMR spectrum of PA-3	97
39 The DEPT-90 and DEPT-135 ^{13}C NMR spectrum of PA-3	98
40 The ^{13}C - ^1H correlation of PA-3	99
41 The ^1H - ^1H COSY of PA-3	100
42 The ^1H - ^1H NOESY of PA-3	101
43 The CI mass spectrum of PA-3	102
44 The EI mass spectrum of PA-3	103
45 The IR spectrum of PA-4	104
46 The ^1H NMR spectrum of PA-4	105

Figure	Page
47 The ^{13}C NMR spectrum of PA-4	106
48 The DEPT-90 and DEPT-135 ^{13}C NMR spectrum of PA-4	107
49 The ^1H - ^1H COSY of PA-4	108
50 The CI mass spectrum of PA-4	109
51 The EI mass spectrum of PA-4	110
52 The IR spectrum of PA-5	111
53 The ^1H NMR spectrum of PA-5	112
54 The ^{13}C NMR spectrum of PA-5	113
55 The DEPT-90 and DEPT-135 ^{13}C NMR spectrum of PA-5	114
56 The ^{13}C - ^1H correlation of PA-5	115
57 The ^1H - ^1H COSY of PA-5	116
58 The CI mass spectrum of PA-5	117
59 The EI mass spectrum of PA-5	118

LIST OF SCHEMES

Schemes	Pages
1. The extraction of the root bark of <i>Harrisonia perforata</i> Merr.	13
2. The possible mass fragmentation pattern of PA-2	35
3. The possible mass fragmentation pattern of PA-3	42
4. The possible mass fragmentation pattern of PA-4	48
5. The possible mass fragmentation pattern of PA-5	54

LIST OF TABLES

Table	Page
1 The chemical constituents of some <i>Harrisonia</i> genera	3
2 The utilities as herbs from Simaroubaceae family	8
3 The utilities of <i>Harrisonia perforata</i> Merr.	9
4 Silica gel quick column chromatography of Fraction I	15
5 Silica gel quick column chromatography of Fraction II	16
6 The retention times of various peaks from the gas chromatogram	19
of PA-2 compare with steroid standard	
7 The IR absorption band assignments of PA-1	24
8 The component of the saturated hydrocarbon compounds.....	25
contained in PA-1	
9 The component of the unsaturated hydrocarbon compounds	28
contained in PA-1	
10 The composition of compounds contained in PA-1	29
11 The IR absorption band assignments of PA-2	31
12 The ^{13}C NMR chemical shifts of β -sitosterol, stigmasterol	32
and PA-2	
13 The comparison of GLC retention times between PA-2	34
and authentic steroids	
14 The IR absorption band assignments of PA-3	37
15 Comparison of spectroscopic data of PA-3	39
16 The ^{13}C NMR chemical shifts of PA-3 and Harrisonin	40

Table	Page
17 The IR absorption band assignments of PA-4	44
18 Comparison of spectroscopic data of PA-4	46
19 The IR absorption band assignments of PA-5	50
20 Comparison of spectroscopic data of PA-5	52
21 The ^{13}C NMR chemical shifts of PA-5 and Obacunone	53

LIST OF ABBREVIATION

b	broad
δ	chemical shift
°C	degree Celsius
GLC	gas-liquid chromatography
g	gram (s)
m/e	mass to charge ratio
m	medium (IR)
m.p.	melting point
mg	milligram (s)
ml	milliliter (s)
mm.	millimeter
min	minute
MW	Molecular weight
pp	page
ppm	part per million
R_f	rate of flow in chromatogram
R_t	retention time
s	strong (IR)
TMS	tetramethyl silane
TLC	thin layer chromatography
cm	unit of centimeter
cm⁻¹	unit of wave number
w	weak (IR)
wt	weight