

399

องค์ประกอบทางเคมีในใบมะกา



นางสาวนิศากร ทองก้อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


พ.ศ. 2538

ISBN 974-631-768-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

116697388.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES OF
Bridelia ovata Decne.



Miss Nisakorn Thongkon

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Chemistry
Graduate School
Chulalongkorn University
1995
ISBN 974-631-768-7

Thesis Title THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES OF
Bridelia ovata Decne.
By Miss Nisakorn Thongkon
Department Chemistry
Thesis Advisor Assistant Professor Dr. Amorn Petsom, Ph. D.
Thesis Coadvisor Associate Professor Suparb Boonyaratavej



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

Santi Thoongsuwon
.....Dean of Graduate School
(Associate Professor Santi Thoongsuwon, Ph.D.)

Thesis Committee

Siri Varothai
.....Chairman
(Associate Professor Siri Varothai, Ph.D.)

Amorn Petsom
.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

Suparb Boonyaratavej
.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Suparb Boonyaratavej)

Sophon Roengsumran
.....Member
(Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)

Warinthorn Chavasiri
.....Member
(Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

iv

นิศากร ทงกอน : องค์ประกอบทางเคมีในใบมะกา (CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES OF Bridelia ovata Decne.) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อมร เพชรสม, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. สุภาพ บุนนยะรัตเวช 140 หน้า. ISBN 974-631-768-7

นำใบมะกาแห้งบดละเอียดมาสกัดด้วยเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ นำสารสกัดของ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล มาทำการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและ ใช้ตัวทำละลาย เฮกเซน ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน ตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเมทานอล และเมทานอล ในการชะคอลัมน์ สามารถแยกสารได้ 8 ชนิด การหาสูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้ได้อาศัยคุณสมบัติทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี และหลักฐานทางสเปกโตรสโคปี สามารถหาสูตรโครงสร้างของสารได้ 6 ชนิด คือ ของผสมแอลเคนโซ่ตรงยาว (C_{26-33}) ของผสมเอสเทอร์โซ่ตรงยาว ของผสมแอลกอฮอล์อิมตัวโซ่ตรงยาว (C_{23} , C_{24} , C_{32}) friedelin friedelan- 3β -ol และ stigmasterol ส่วนสารอีก 2 ชนิดที่เหลือซึ่งมีปริมาณน้อย ยังไม่สามารถหาสูตรโครงสร้างได้ งานวิจัยนี้เป็นครั้งแรกที่ได้มีการหาองค์ประกอบทางเคมีของใบมะกา และยังได้ทำการเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของกิ่งมะกา ซึ่งได้มีผู้ทำงานวิจัยมาแล้วด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เกษ
สาขาวิชา เกษ
ปีการศึกษา 2537
ลายมือชื่อนิติต นิศากร ทงกอน
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อ. อมร เพชรสม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ. สุภาพ บุนนยะรัตเวช



C625094: MAJOR CHEMISTRY

KEY WORD: CHEMICAL CONSTITUENTS/ *Bridelia ovata* Decne
NISAKORN THONGKON :CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE
LEAVES OF *Bridelia ovata* Decne. THESIS ADVISOR :
ASSIST.PROF. AMORN PETSOM, Ph.D., ASSOC. PROF. SUPARB
BOONYARATAVEJ. 140 pp.ISBN 974-631-768-7

The dried and ground leaves of *Bridelia ovata* Decne. (Makaa) were extracted with hexane, dichloromethane and methanol, respectively. Eight substances were isolated by column chromatography of the crude hexane, dichloromethane and methanol extracts using silica gel as an adsorbent and hexane, the mixture of hexane-dichloromethane, dichloromethane, the mixture of dichloromethane-methanol as eluted solvent. From physical properties, chemical properties and spectroscopic data, the six substances were identified as the mixture of long chain aliphatic hydrocarbons ($C_{26} - C_{33}$), the mixture of long chain aliphatic esters, the mixture of long chain aliphatic alcohols (C_{23}, C_{24}, C_{32}), friedelin, friedelan- 3β -ol and stigmasterol. The other two substances cannot be identified. This is the first report ever known about the chemical constituents of the leaves of Makaa and there is comparison with the chemical constituents of the branches of Makaa.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....เคมี.....
สาขาวิชา.....เคมี.....
ปีการศึกษา..... ๒๕๓๗.....
ลายมือชื่อนิสิต..... นิสิต นอกร่อน.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... Suparb Boonyaratavej.....



ACKNOWLEDGMENT

The author would like to express her sincere gratitude to her advisor, Assistant Professor Dr. Amorn Petsom; and her co-advisor Associate Professor Suparb Boonyaratavej for their kind help, guidance, correction and encouragement throughout the course of this study. She is grateful to the French government for the financial support during 1994-1995. Great appreciation are to Associate Professor Dr. Siri Varothai, Associate Professor Dr. Sophon Roengsumran, Associate Professor Gaysorn Veerachato, Associate Professor Chaiyo Chaicharntippayut, Dr. Warinthorn Chavasiri and Dr. Santi Tippayang for their comments and suggestions. Moreover, Thanks are extended to Department of Chemistry, Faculty of Science, and graduate school, 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 analyses.

Deep and sincere gratitude is acknowledged to her parents, her two young brothers, her friends for their understanding, guidance and encouraging throughout the entire study.

CONTENTS



	Page
ABSTRACT IN THAI.....	iv
ABSTRACT IN ENGLISH.....	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	vi
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF SCHEMES.....	xiii
LIST OF TABLES.....	xiv
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xvi
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II EXPERIMENTS AND RESULT.....	17
<u>PLANT MATERIALS</u>	17
<u>INSTRUMENTS AND EQUIPMENT</u>	17
<u>CHEMICAL SUBSTANCES</u>	19
<u>SEPARATION TECHNIQUES</u>	19
<u>DISTILLATION</u>	20
<u>EXTRACTION</u>	21
<u>PRELIMINARY TESTS IN CHEMISTRY</u>	22
<u>ALKALOID TEST</u>	25
<u>CARDIAC GLYCOSIDE TEST</u>	28
<u>FLAVONOID TEST</u>	29

<u>SAPONIN TEST</u>	30
<u>COUMARIN TEST</u>	31
<u>ISOLATION TECHNIQUE</u>	31
<u>Separation of Fraction I</u>	31
<u>Separation of fraction 54-62(Fraction I)</u>	33
<u>Separation of Fraction II</u>	33
<u>Separation of fraction 31-35(Fraction II)</u>	34
<u>Separation of Mixture II by PTLC Technique</u>	35
<u>Separation of Fraction III</u>	35
<u>Separation of fraction 45-70(Fraction III)</u>	36
<u>Separation of Fraction IV</u>	38
<u>PURIFICATION AND PROPERTIES OF SUBSTANCES</u>	
<u>FROM "MAKAA"</u>	40
<u>Purification and properties of BOV1</u>	40
<u>Purification and properties of BOV2</u>	40
<u>Purification and properties of BOV3</u>	41
<u>Purification and properties of BOV4</u>	42
<u>Purification and properties of BOV5</u>	42
<u>Purification and properties of BOV6</u>	43
<u>Purification and properties of BOV7</u>	45
<u>Purification and properties of BOV8</u>	46
<u>III RESULTS AND DISCUSSION</u>	48
<u>STRUCTURAL ELUCIDATION OF SUBSTANCES FROM</u>	
<u>CRUDE EXTRACTS</u>	48

Structural elucidation of BOV1.....	48
Structural elucidation of BOV2.....	51
Structural elucidation of BOV3.....	53
Structural elucidation of BOV4.....	55
Structural elucidation of BOV5.....	63
Structural elucidation of BOV6.....	71
Structural elucidation of BOV7.....	77
Structural elucidation of BOV8.....	78
IV CONCLUSION.....	82
REFERENCES.....	85
APPENDIX.....	88
VITA.....	140

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1 HPLC Chromatogram of mixture in fraction 45-70.....	37
2 The apparatus for extraction of the substances from Preparative Thin Layer Chromatography.....	38
3 The IR spectrum of BOV1.....	89
4 The Gas-Liquid chromatogram of standard long chain aliphatic hydrocarbons(C = 24-33).....	90
5 The Gas-Liquid chromatogram of BOV1.....	91
6 The calibration curve of standard long chain aliphatic hydrocarbons.....	92
7 The IR spectrum of BOV2.....	93
8 The ^1H -NMR spectrum of BOV2 in CDCl_3	94
9 The IR spectrum of BOV3.....	95
10 The Gas-Liquid chromatogram of standard long chain aliphatic alcohols(C = 14, 16, 18, 20, 22).....	96
11 The Gas-Liquid chromatogram of BOV3.....	97
12 The calibration curve of standard long chain aliphatic alcohols.....	98
13 The IR spectrum of BOV4.....	99
14 The ^1H -NMR spectrum of BOV4 in CDCl_3	100
15 The ^{13}C -NMR spectrum of BOV4 in CDCl_3	101
16 The mass spectrum of BOV4.....	102
17-18 The ^{13}C - ^1H correlation of BOV4.....	103-104
19-20 The ^1H - ^1H COSY of BOV4.....	105-106

LIST OF SCHEMES

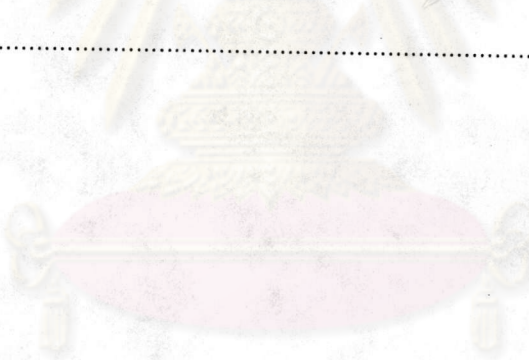
Scheme	Page
1 The procedure of extraction.....	22
2 The sample preparation for chemistry tests.....	24
3 Fragmentation of BOV4.....	59
4 Fragmentation of BOV5.....	67
5 Fragmentation of BOV6.....	73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1 The results of preliminary pharmacological test on the crude extracts of <i>Bridelia ovata</i> Decne.....	4
2 The constituents of five species of the plants in Euphorbiaceae family.....	6
3 Summary of research in pharmacology and chemistry of <i>Bridelia</i>	8
4 The results of alkaloid test.....	26
5 The results of cardiac glycoside test of crude methanol extract.....	29
6 The results of flavonoid test.....	30
7 The results of saponin test.....	30
8 The results of separation of Fraction I by column chromatography.....	32
9 The results of separation of Fraction II by column chromatography.....	34
10 The results of separation of Fraction III by column chromatography.....	36
11 The results of separation of Fraction IV by column chromatography.....	39
12 The Infrared absorption band assignments of BOV1.....	48
13 Retention time of BOV1.....	50
14 Names of long chain aliphatic hydrocarbons in BOV1.....	50
15 The Infrared absorption band assignments of BOV2.....	52
16 The Infrared absorption band assignments of BOV3.....	53
17 Retention times of BOV3.....	54
18 Names of long chain aliphatic alcohols in BOV3.....	55

19 The Infrared absorption band assignments of BOV4.....	56
20 Comparison of ^{13}C -NMR of BOV4 with friedelin.....	57
21 ^{13}C - ^1H correlation of BOV4(500 MHz, CDCl_3).....	61
22 The Infrared absorption band assignments of BOV5.....	64
23 Comparison of ^{13}C -NMR of BOV5 with friedelan- 3β -ol	65
24 ^{13}C - ^1H correlation of BOV5(500 MHz, CDCl_3).....	68
25 The Infrared absorption band assignments of BOV6.....	71
26 Retention time of BOV6 and three standard steroids.....	72
27 Comparison of ^{13}C -NMR of BOV6 with stigmasterol.....	75
28 The Infrared absorption band assignments of BOV8.....	79
29 Comparison of chemical constituents in the leaves and the branches of <i>B. ovata</i>	81


 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF ABBREVIATIONS

Fig.	Figure
R_f	Retardation Factor
TMS	Tetramethylsilane
δ	Chemical shift
ppm	part per million
m.p.	melting point
TLC	Thin Layer Chromatography
PTLC	Preparative thin layer chromatography
cm	centrimeter
ml	millilitre(s)
g	gram(s)
mg	milligram(s)
$^{\circ}\text{C}$	degree celsius
ν_{max}	wavenumber
cm^{-1}	unit of wavenumber
min	minute
M^+	molecular ion in mass spectrum
m/e	mass to charge ratio