สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากฟ้าลายโจรและสวาด

นางสาวณัฐิดา สุวรรณกิตติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549

BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *Andrographis paniculata* AND *Caesalpinia bonduc*

Miss Nattida Suwanakitti

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 2006

Thesis Title	Bioactive compounds from *Andrographis paniculata* and *Caesalpinia bonduc*
By	Miss Nattida Suwanakitti
Field of Study	Biotechnology
Thesis Advisor	Assistant Professor Khanitha Pudhom, Ph.D.

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

.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

Sirirat Kokpol
.....Chairman
(Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D.)

Khanitha Pudhom
.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Khanitha Pudhom, Ph.D.)

N. Ngamrojanavanich
.....Member
(Associate Professor Nattaya Ngamrojanavanich, Ph.D.)

.....Member
(Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

ณัฐิดา สุวรรณกิตติ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากฟ้าทะลายโจรและสวาด (BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *Andrographis paniculata* AND *Caesalpinia bonduc*) อ. ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. ขนิษฐา พุดหอม 84 หน้า.

จากการแยกสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย ฟ้าทะลายโจร และ เมล็ดสวาด โดยนำสารสกัดเอธิลแอซิเตดและเมทานอลจากฟ้าทะลายโจร มาทำการแยกสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโทรกราฟี ได้สาร 7 ชนิดได้แก่ andrographolide (**1**), 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (**2**), neoandrogapholide (**3**), andrographiside (**4**), 5,2'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone (**5**), 8-*O*-acetylharpagide (**6**) และ antirrinoside (**7**) และซึ่งสาร iridoid glucoside **6** และ **7** พบเป็นครั้งแรกในพืชชนิดนี้ ส่วนการแยกสารสกัดเอธิลแอซิเตดจากเมล็ดสวาด ได้ cassane diterpenoid ชนิดใหม่ 1 ชนิด คือ caesalpinin Q(**17**) และสารที่มีรายงานมาก่อนอีก 9 ชนิด ได้แก่ caesalpinin C (**8**), caesalpinin P (**9**), 14(17)-dehydrocaesalpin F (**10**), Ɛ-caesalpin (**11**), bonducellpins C (**12**), caesalpinin K (**13**), caesalmin B (**14**), caesalpinin I (**15**), และ 2-acetoxycaesaldekarin e (**16**) การพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แยกได้ อาศัยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีและการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ เมื่อนำสารบริสุทธิ์ที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง พบว่า สารประกอบที่ **1** และ **5** มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* สายพันธุ์ K1 ได้ดี โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 17.0 และ 6.46 µM ตามลำดับ สารประกอบที่ **2** และ **5** มีความเป็นพิษในระดับกลางต่อเซลล์มะเร็ง Hep-G_2 และ SW620 และมีความเป็นพิษในระดับดีมากต่อเซลล์มะเร็ง KATO-3 ส่วนสารประกอบ cassane ทุกตัวที่แยกได้จากเมล็ดสวาดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ดีมาก แต่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งน้อยมากและ/หรือไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2549.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4872286923: MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: *A. paniculata* / *C. bonduc* / ANTIMALARIAL ACTIVITY / CYTOTOXICITY

NATTIDA SUWANAKITTI: BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *Andrographis paniculata* AND *Caesalpinia bonduc*. THESIS ADVISOR: ASSIT. PROF. KHANITHA PUDHOM Ph.D.84 pp.

In phytochemical investigation of isolated compounds from *Andrographis paniculata* and *Caesalpinia bonduc*, the ethyl acetate and methanol crude extract of *A. paniculata* purified by chromatographic techniques to afford seven known compounds; andrographolide (**1**), 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (**2**), neoandrogapholide (**3**), andrographiside (**4**), 5,2'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone (**5**), 8-*O*-acetylharpagide (**6**) and antirrinoside (**7**). Iridoid glucosides **6** and **7** were fist isolated from this plant. On the otherhand, the chromatography of the ethyl acetate crude extract of *C. bonduc* led to the isolation of one new cassane diterpenoid, caesalpinin Q (**17**), along with nine known cassanes; caesalpinin C (**8**), caesalpinin P (**9**), 14(17)-dehydrocaesalpin F (**10**), ε-caesalpin (**11**), bonducellpins C (**12**), caesalpinin K (**13**), caesalmin B (**14**), caesalpinin I (**15**), and 2-acetoxycaesaldekarin e (**16**). The chemical structures of all isolated compounds were established on the basis of spectroscopic data and compared to literatures. Pure isolated compounds were also evaluated for antimalarial and cytotoxic activity. Compounds **1** and **5** showed good antimalarial activity against chloroquine-resistant K1 strain of *Plasmodium falcipaum* with IC_{50} values of 17.0 and 6.46 μM, respectively. Moreover, compounds **2** and **5** exhibited moderate cytotoxicity on Hep-G_2, SW620 cell lines, and showed strong cytotoxicity on KATO-3 cell lines. For cassane diterpenoids isolated from *C.bonduc*, all compounds showed significant antimalarial activity, but exhibited weak or inactive cytotoxicity against all tested cell lines.

Field of study.....Biotechnology.....Student's signature.....Nattida Suwanakitti.....
Academic year.....2006.....Advisor's signature.....Khanitha Pudhom.....

Acknowledgements

The author would like to express her faithful gratitude to her advisor, Assistant Professor Khanitha Pudhom, Ph.D. for her assistance and encouragement in conducting this research.

The author also gratefully acknowledges the members of her thesis committee, Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D., Associate Professor Nattaya Ngamrojanavanich, Ph.D., and Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D. for their worthy discussion and guidance.

The author would like to thank Nation center for Genetic Engineering for antimalarial activity assay and Miss Songchan Puthong, Institute of Biotechnology and Genetic Engineering, Chulalongkorn University for cytotoxicity assays. The author would like to thank Program in Biotechnology for many helpful.

The author also gratefully acknowledges financial support from the Graduate School, Chulalongkorn University.

Finally, the author would like to express appreciate to her parents for their great support and encourage all over the course of my education and all of her friends for their friendship and advice during her graduate study.

CONTENTS

Pages

List of Figures

Pages

Pages

List of Tables

Pages

List of Schemes

List of Abbreviations

^{o}C	Degree Celsius
^{13}C-NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance
^{1}H-NMR	Proton nuclear magnetic resonance
Brd	Broad doublet
brs	Broad singlet
brt	Broad tripet
$CDCl_3$	Deutrated chloroform
CH_2Cl_2	Dichloromethane
COSY	Correlated spectroscopy
d	Doublet
dd	Doublet of doublet
ddd	Doublet of doublet of doublet
DI water	Deionize water
DMSO	Dimethyl sulfoxide
dt	Double of triplet
EtOAc	Ethyl acetate
g	Gram
HMBC	Heteronuclear multiple bond connectivity
HMQC	Heteronuclear multiple-quantum coherence
hr	Hour
Hz	Hertz
IC_{50}	Median inhibitory concentration
J	Coupling constant
m	Multiplex
m/z	Mass per charge
MeOH	Methanol
mg	Milligram
MHz	Megahertz
MW	Molecular weight
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy

s	Singlet
t	Triplet
td	Triplet of doublet
TLC	Thin layer chromatography
w/w	Weight by weight
δ	Chemical shift
µl	Microliter