

**CHEMICAL STUDY OF BIOACTIVE CONSTITUENTS FROM
TRICHOSANTHES CUCUMERINA ROOT AND FRUIT JUICE**

SUMONTHIP KONGTUN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR PHILOSOPHY
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2003**

**ISBN 974-04-3946-2
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาเคมีของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากบวบขมและน้ำคั้นจากผลบวบขม (CHEMICAL STUDY OF BIOACTIVE CONSTITUENTS FROM *TRICHOSANTHES CUCUMERINA* ROOT AND FRUIT JUICE)

สุนนต์ทิพย์ คงตัน 4136561 PYPP/D

ปร.ด. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : วิณา จิรัชฌริยากุล, Dr.rer.nat.(พฤกษเคมี), พีรพรรณ ตันอารีย์, Ph. D. (จุลชีววิทยา), ลีณา สุนทรสุข, Ph. D.(เภสัชเคมี)

บทคัดย่อ

บวบขม (*Trichosanthes cucumerina*) เมล็ดมีสรรพคุณรักษาโรคบิด ขับเสมหะ และทำให้อาเจียน ในการศึกษาด้านพฤกษเคมีในพืชวงศ์ Cucurbitaceae พบว่า สารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารจำพวกไตรเทอร์ปีนส์ ได้แก่ cucurbitacins แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง bryonolic และ bryononic acids มีฤทธิ์ต้านอักเสบ ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่พบในสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากรากและน้ำคั้นจากผล รวมถึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ กลุ่ม cucurbitacins ในสารสกัดและในน้ำคั้นจากผล ไตรเทอร์ปีนส์ 5 ชนิดที่แยกได้จากสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากรากในงานวิจัยนี้ ได้แก่ bryonolic acid (SK1), chondrillasteryl-3 β -*O*-glucopyranoside (SK2), bryononic acid (SK3), cucurbitacin B (SK4) และ dihydrocucurbitacin B (SK5) การทดสอบฤทธิ์ด้านเชื่อมาลาเรียของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากราก สารสกัด และน้ำคั้นจากผล พบว่า มีค่า IC₅₀ 0.625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 0.089 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่า SK1 ซึ่งเป็นสารหลักที่พบในสารสกัดราก แสดงฤทธิ์ต้านไวรัสสปีโดมาซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของมะเร็งที่กล่องเสียง (laryngeal cancer) โดยมี ED₅₀ 1.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร นี่เป็นรายงานฤทธิ์ต้านไวรัสสปีโดมาครั้งแรกของสาร bryonolic acid

ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ cucurbitacin B (SK4) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ประกอบด้วยคอลัมน์ที่บรรจุ Hypersil BDS C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร (250 x 4.6 มิลลิเมตร) อะซิโตไนไตรล์และน้ำในอัตราส่วนคงที่ 40:60 เป็นตัวทำละลายเคลื่อนที่ และ UV detector ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ได้ใช้เกณฑ์ของ USP 26 ในการประเมินความถูกต้องและเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการประเมินตามเกณฑ์ของ USP ให้ผลวิเคราะห์ปริมาณสาร cucurbitacin B ในน้ำคั้นจากผลและสารสกัดที่ถูกต้องและเที่ยงตรง

CHEMICAL STUDY OF BIOACTIVE CONSTITUENTS FROM *TRICHOSANTHES CUCUMERINA* ROOT AND FRUIT JUICE

SUMONTHIP KONGTUN 4136561 PYPP/D

Ph.D. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS : WEENA JIRATCHARIYAKUL, Dr.rer.nat.
(PHYTOCHEMISTRY), PEERAPAN TAN-ARIYA, Ph.D. (MICROBIOLOGY),
LEENA SUNTORNSUK, Ph.D. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY)

ABSTRACT

Trichosanthes cucumerina L. seeds have been used as remedies for dysentery, coughs and as an emetic. A previous phytochemical investigation in cucurbitaceous plants revealed that the triterpenes have interesting bioactivities, For example, cucurbitacins elicit catharsis and cytotoxicity, and bryonolic and bryononic acids possess anti-inflammatory property. This research aimed to find the bioactive constituents from *T. cucumerina* root and to establish a validated method for quantitative High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of the isolated cucurbitacins.

The dichloromethane extract of the root was subject to chromatographic separation, which the isoprenoid derived compounds could be isolated. The structures were identified using NMR spectroscopy. They were bryonolic acid (SK1), chondrillasteryl-3 β -*O*-glucopyranoside (SK2), bryononic acid (SK3), cucurbitacin B (SK4) and dihydrocucurbitacin B (SK5). The dichloromethane root extract, the isolated compounds and the fruit juice were tested for antimalarial activity. Compound SK4 and the fruit juice were antimalarial active with IC₅₀ value of 0.625 μ g/ml and 0.089 μ g/ml, respectively. In addition, compound SK1 was proved as an antipapilloma viral agent with the ED₅₀ value of 1.5 ng/ml. This is the first report on the antiviral activity of bryonolic acid, which is the main constituent in *T. cucumerina* root.

The quantitative HPLC analysis was performed on the isolated cucurbitacin B (SK4). This analysis used the 5 μ m Hypersil BDS C18 column (250 x 4.6 mm, i.d.), the solvent system of acetonitrile-water (40:60) and a UV detector at 210 nm. The HPLC analytical method was validated according to the USP 26 requirement.

KEY WORDS : *TRICHOSANTHES CUCUMERINA*/ CUCURBITACIN/
BRYONOLIC ACID/ BRYONONIC ACID/ ACTIVITY

167 P. ISBN 974-04-3946-2