

PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF
Barringtonia maunwongyathiae W. Chuakul AND
Bursera tonkinensis Guillaum

ARANYA JUTIVIBOONSUK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

ISBN 974-04-7954-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของต้นจิกคงและ *Bursera tonkinensis* Guillaum (PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF *Barringtonia maunwongyathiae* W. Chuakul AND *Bursera tonkinensis* Guillaum)

อรรณญา จุติวิบูลย์สุข 4336445 PYPP/D

ปร.ด. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : นันทวัน บุญยะประภัสร์, Ph.D. (Phytochemistry), Harry H.S. Fong, Ph.D. (Pharmacognosy), อังคณา หิรัญสาลี, Ph.D. (Organic Chemistry), วงศ์ สติติชัย นั่วกุล, Ph.D. (Agronomy)

บทคัดย่อ

จิกคงเป็นพืชชนิดใหม่มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Barringtonia maunwongyathiae* W. Chuakul ค้นพบที่ป่าควนท้อน อำเภออ่าวลึก จังหวัดกระบี่ ประเทศไทย นำใบจิกคงมา สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดคือ ปิโตรเลียมอีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, เอธิลอะซีเตต และเมทานอล แยกหาสารออกฤทธิ์โดยใช้ฤทธิ์ antioxidant และฤทธิ์ป้องกันมะเร็ง นำการแยก การทดสอบศักยภาพในการป้องกันมะเร็ง ใช้วิธีการทดสอบการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ ornithine decarboxylase (ODC), cyclooxygenase (COX) ทั้งชนิด COX-1 และ COX-2, การยับยั้ง nuclear factor kappa B (NFkB), การเหนี่ยวนำเอนไซม์ quinone reductase และการกระตุ้น antioxidant response element (ARE) การศึกษาพบว่าสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่แรงและเฉพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ COX-2 ($IC_{50} = 0.89 \mu\text{g/mL}$) สารสกัดเอธิลอะซีเตตแสดงฤทธิ์ยับยั้งที่แรงต่อ NFkB ($IC_{50} = 0.16 \mu\text{g/mL}$) ส่วนสารสกัดเมทานอลแสดงฤทธิ์ปานกลางในการกระตุ้น ARE ($EC_{50} = 15.9 \mu\text{g/mL}$) การแยกส่วนสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี ได้สาร 14 ชนิด คือ *n*-nonacosane (B1), *n*-tetracosane (B2), taraxerone (B3), taraxerol (B4), β -stigmasterol (B5), 3-(*Z*)-coumaroyltaraxerol (B6), α -tocopherylquinone (B7), stigma-4,22-dien-3-one (B8), 3-(*Z*)-coumaroyllupeol (B9), 3-(*E*)-coumaroyllupeol (B10), 3-(*Z*)-coumaroyl β -amyrin (B11), 3-(*E*)-coumaroyl β -amyrin (B12), 3-(*Z*)-coumaroyl α -amyrin (B13), และ 3-(*E*)-coumaroyl α -amyrin (B14) นอกจากนี้ยังแยกได้สาร 3-(*E*)-coumaroyltaraxerol (B15) จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสาร 3,19,24-trihydroxy-urs-12-ene-28-oic acid (B16) และ 3-*O*- β -D-glucopyranosylstigmasta-5,22-diene (B17) จากสารสกัดเอธิลอะซีเตต พบว่าสาร B6 และ B9 ถึง B15 แสดงฤทธิ์ antioxidant และสาร B4, B7 และ B15 แสดงฤทธิ์ที่แรงในการป้องกันมะเร็ง ขณะที่สาร B5 และ B17 แสดงฤทธิ์อ่อน

การแยกสารสำคัญโดยทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพควบคู่ไปด้วยของต้น *Bursera tonkinensis* Guillaum ได้สารดังนี้ สารกลุ่มลิกแนนชนิดใหม่หนึ่งชนิดคือ burselignan (K6) และเป็นที่รู้จักสี่ชนิดคือ 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin (K1), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (K5), (+)-isolariciresinol (K7) และ 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin-4-*O*- β -D-glucoside (K13), สารกลุ่มนีโอลิกแนนชนิดใหม่หนึ่งชนิดคือ burseneolignan (K9) และเป็นที่รู้จักสามชนิดคือ 1-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-2-[4''-(3-hydroxypropyl)-2'',6''-dimethoxyphenoxy] propane-1,3-diol (K8), 5-methoxy-*trans*-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (K10) และ dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (K11), สารชนิดใหม่ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ phenylpropane คือ bursephenylpropane (K4) มีสูตรโครงสร้างเคมีคือ 2-[4-(3-hydroxy-propyl)-2,6-dimethoxyphenoxy]-propane-1,3-diol, สารกลุ่มคูมารินคือ scopoletin และ β -daucosterol ซึ่งสาร K1 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB, Col2 และ LNCaP (IC_{50} , 17.7, 10.0 and 9.7 ng/mL ตามลำดับ)

PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF *Barringtonia maunwongyathiae* W. Chuakul AND *Bursera tonkinensis* Guillaum

ARANYA JUTIVIBOONSUK 4336445 PYPP/D

Ph.D.(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS : NUNTAVAN BUNYAPRAPHATSARA, Ph. D (PHYTOCHEMISTRY), HARRY H.S. FONG, Ph.D.(PHARMACOGNOSY), ANGKANA HERUNSALEE, Ph.D.(ORGANIC CHEMISTRY), WONGSATIT CHUAKUL, Ph.D. (AGRONOMY)

ABSTRACT

A new plant species, *Barringtonia maunwongyathiae* W. Chuakul (Lecythidaceae), was recently discovered in Khuan Thon Forest, Ao Luek District, Krabi Province, Thailand. The leaves of this plant were successively extracted with petroleum ether, CHCl₃, EtOAc and MeOH. All the extracts were submitted to biological guided separation using antioxidant and cancer chemopreventive assays. Cancer chemopreventive potential of these extracts was evaluated based on inhibition of TPA-induced ODC expression, COX-1 and COX-2 activities, and phorbol ester-induced NF-κB luciferase expression, induction of quinone reductase, as well as activation ARE mediated luciferase expression. The petroleum ether extract showed strongly selective inhibition of COX-2 (IC₅₀, 0.89 μg/mL) and the EtOAc extract showed potent suppression of NFκB luciferase activation (IC₅₀, 0.16 μg/mL) whereas the MeOH extract showed moderate enhancing ARE expression (EC₅₀, 15.9 μg/mL). Chromatographic separation of the petroleum ether extract gave 14 compounds, *n*-nonacosane (B1), *n*-tetracosane (B2), taraxerone (B3), taraxerol (B4), β-stigmasterol (B5), 3-(*Z*)-coumaroyltaraxerol (B6), α-tocopherylquinone (B7), stigma-4,22-dien-3-one (B8), 3-(*Z*)-coumaroyllupeol (B9), 3-(*E*)-coumaroyllupeol (B10), 3-(*Z*)-coumaroyl β-amyrin (B11), 3-(*E*)-coumaroyl β-amyrin (B12), 3-(*Z*)-coumaroyl α-amyrin (B13), and 3-(*E*)-coumaroyl α-amyrin (B14). Besides these compounds, 3-(*E*)-coumaroyltaraxerol (B15) was isolated from the CHCl₃ extract and other two compounds, 3,19,24-trihydroxyurs-12-ene-28-oic acid (B16) and 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-stigmasta-5,22-diene (B17), were isolated from the EtOAc extract. Compounds B6, and B9 to B15 showed scavenging effect on DPPH radicals. Moreover compounds B4, B7 and B15 demonstrated strong cancer chemopreventive activity, while B5 and B17 showed mild activity.

Bioassay guided separation of the roots of *Bursera tonkinensis* Guillaum (Burseraceae) led to the isolation of one new and four known lignans, one new and three known neolignans, a new phenylpropane derivative, a coumarin scopoletin, as well as the ubiquitous β-daucosterol. The lignans were determined to be the new burselignan (K6), and the known 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin (K1), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (K5), (+)-isolariciresinol (K7), and 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin-4-*O*-β-D-glucoside (K13). The new phenylpropane derivative, bursphenylpropane (K4), was identified as 2-[4-(3-hydroxy-propyl)-2, 6-dimethoxyphenoxy]-propane-1, 3-diol. The neolignans included the new burseneolignan (K9), and the known 1-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-2-[4''-(3-hydroxypropyl)-2'', 6''-dimethoxyphenoxy] propane-1, 3-diol (K8), 5-methoxy-*trans*-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (K10), and dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (K11). The 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin (K1) exhibited significant cytotoxic activities against KB, Col2 and LNCaP cell lines with the IC₅₀ values of 17.7, 10.0 and 9.7 ng/mL, respectively.

KEY WORDS: *Barringtonia maunwongyathiae* / *Bursera tonkinensis* / TRITERPENOID / LIGNAN / NEOLIGNAN / CYTOTOXIC / CANCER CHEMOPREVENTION

238 P . ISBN 974-04-7954-5