

**PHYTOCHEMICAL STUDY OF
ZANTHOXYLUM LIMONELLA (DENNST.) ALSTON PERICARP**



NADKANJANA SRIRATTANANONT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2010**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

PHYTOCHEMICAL STUDY OF *ZANTHOXYLUM LIMONELLA* (DENNST.)
ALSTON PERICARP

NADKANJANA SRIRATTANANONT 5036312 PYPP/M

M.Sc. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: WEENA JIRATCHARIYAKUL, Dr.rer.nat.,
AIMON SOMANABANDHU, Ph.D., WARANUN BUAJEEB, Ph.D.

ABSTRACT

The phytochemical study of *Zanthoxylum limonella* pericarp ethanol extract, which inhibited *Candida albicans* ATCC 13802, resulted in the isolation of compounds **1**, **2** and **3**. They were identified using spectroscopic methods (UV, IR, MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR). The compounds were as follows: **1** was β -sitosterol, **2** was comprised of a mixture of 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*)-24 α -ethylcholesta-5-ene (β -sitosteryl glucoside, **2.1**) and 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-22*E*,(2*S*)-24 α -ethylcholest-5,22-diene(stigmasteryl glucoside, **2.2**) in a proportion of 58:42, and **3** was lupeol. The isolated compounds **2** and **3** did not inhibit *C. albicans* ATCC 13802. Compound **3** was selected as a marker compound in the quality assessment (standardization) of the pericarp extract because it could be isolated in sufficient amount without difficulty and had a reported antiinflammatory effect. A quantitative analysis of **3** using high-performance liquid chromatography (HPLC) was performed. An appropriate isocratic condition analysis was performed on a Hypersil[®] Gold C18 column (150×4.6 mm i.d.) with a solvent system comprised of a mixture of methanol and water (with 1% acetic acid) in the ratio of 95:5 which include UV detection at 214 nm. The peak of **3** appeared at the retention time of 10 min. The test of system suitability resulted in a precision (%RSD) of 0.68-1.26, number of theoretical plates (N) of 7,584, a tailing factor (TF) of 0.8 and a resolution factor (R_s) of 2.46. A test of method validation was performed. A calibration curve of **3** was linear in the range of 10-100 μ g/ml, with a regression coefficient (r^2) of 0.9994 (n = 15). The recovery of **3** spiked into the extract was 98.24%. The limits of detection and quantitation were 1.47 μ g/m and 4.45 μ g/ml, respectively. The results of the system suitability test and method validation conformed to the USP 26 requirement. The content of **3** in the pericarp extract quantitated by the HPLC method was 0.195% w/w.

KEY WORDS: *ZANTHOXYLUM LIMONELLA* / β -SITOSTEROL /
 β -SITOSTERYL GLUCOSIDE / STIGMASTERYL GLUCOSIDE /
LUPEOL / HPLC QUANTITATIVE ANALYSIS

121 pages

การศึกษาพฤกษเคมีของสมุนไพรพริกพราน

PHYTOCHEMICAL STUDY OF *ZANTHOXYLUM LIMONELLA* (DENNST.) ALSTON PERICARP

นาคกาญจนา ศรีรัตนานนท์ 5036312 PYPP/M

วท.ม. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : วิชา จิรจรรย์ยากุล, Dr.rer.nat., เอมอร โสมนะพันธุ์, Ph.D.,
วรานันท์ บัวจิบ, Ph.D.

บทคัดย่อ

จากการศึกษาพฤกษเคมีของสารสกัดอัลคอกซอลจากเปลือกผลพริกพราน *Zanthoxylum limonella* ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 13802 สามารถแยกสาร 1, 2 และ 3 และพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีโดยอาศัยเทคนิคสเปกโตรสโคปี (UV, IR, MS, $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$) พบว่าสาร 1 คือ β -sitosterol, 2 คือ สารผสมของ 3-O- β -D-glucopyranosyl-(24S)-24 α -ethylcholesta-5-ene (β -sitosteryl glucoside, 2.1) และ 3-O- β -D-glucopyranosyl-22E,(24S)-24 α -ethylcholest-5,22-diene (stigma steryl glucoside, 2.2) ในสัดส่วน 58:42 และสาร 3 คือ lupeol สาร 2 และ 3 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 13802 การทดลองได้เลือกสาร 3 เป็น marker compound ในการควบคุมคุณภาพสารสกัดจากเปลือกผลเนื่องจากแยกได้ไม่ยากในปริมาณเพียงพอและมีรายงานฤทธิ์ต้านอักเสบ การวิเคราะห์ปริมาณของสาร 3 ในสารสกัดเปลือกผลพริกพรานใช้เทคนิค high-pressure liquid chromatography (HPLC) โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ประกอบด้วยคอลัมน์ Hypersil[®] Gold C18 (150×4.6 มม., i.d.) ส่วนผสมของเมทานอล-น้ำ (95:5) ซึ่งในน้ำมีกรดน้ำส้ม 1% เป็นตัวทำลายเคลื่อนที่ ในอัตราส่วนคงที่ UV detection ที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร พีคของสาร 3 ปรากฏที่นาทีที่ 10 ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบให้ค่าความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์คิดเป็น % RSD เท่ากับ 0.68-1.26 ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์เท่ากับ 7,584 ค่าความสมมาตรของพีคเท่ากับ 0.8 และประสิทธิภาพการแยกของคอลัมน์เท่ากับ 2.46 ผลการทดสอบวิธีวิเคราะห์ให้กราฟมาตรฐานของสาร 3 ในช่วงความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient, r^2) 0.9994 ค่าความถูกต้องของวิธีซึ่งคิดเป็นค่า % recovery เท่ากับ 98.24% ชีดจำกัดของการวัดและชีดจำกัดการหาปริมาณคือ 1.47 และ 4.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบและวิธีวิเคราะห์เป็นไปตามข้อกำหนดของ USP 26 จากการวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธี HPLC พบว่าสารสกัดเปลือกผลมีปริมาณสาร 3 เท่ากับ 0.195 % w/w