Thesis Title Chemical Constituents and Biological Activities of

Vernonia scandens Aerial Parts and Cleistocalyx

nervosum var. paniala Seeds

Author Mr. Anuruk Chailungka

Degree Doctor of Philosophy (Chemistry)

Advisory Committee Asst. Prof. Dr. Puttinan Meepowpan Advisor

Asst. Prof. Dr. Apiwat Baramee Co-advisor

Asst. Prof. Dr. Nuchnipa Nuntawong Co-advisor

ABSTRACT

The studies of the chemical compositions of natural substances are categorized into two parts. First, the investigation pertaining to chemical constituents of the dichloromethane extract from V. scandens aerial parts found six known compounds, consisting of lupeol palmitate (134), lupeol acetate (135), eugenol (98), macelignan (136), β -sitosterol (137), and stigmasterol (70). All isolated compounds were elucidated and identified their structures on the basis of spectra data and physical properties. These were referred to the data from spectroscopic techniques such as 1 H and 13 C NMR, COSY, DEPT, HMQC, HMBC, mass spectrometry, and FTIR spectroscopy, which were compared with previous literatures. These compounds were reported for the first time in this plant.

Second, the chemical investigation of the dichloromethane extract from the seeds of *C. nervosum* var. *paniala*, known as "Makiang" in Thai, resulted two known compounds, 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone or DMC (128) and hariganetin (138) as in the minor and major, respectively. Moreover, compounds 128 and 138 were tested for biological activities using Salmonella mutation assay against AFB1, MeIQ and AF-2 induced mutagenesis. DMC has high potential antimutagenic compound more than hariganetin at concentrated of 10 μ g/pl, and showed 100.0 \pm 5.4, 99.5 \pm 0.3, and 56.8 \pm 22.0% inhibition respectively.

The synthetic derivatives of DMC were achieved by three methods. The refluxing of DMC in methanol using conc. H₂SO₄ as a catalyst give compound **139** in 70% yield. Compound **140** was afforded by the reduction of **128** using NaBH₄ in 34% yield. Finally, the methylation of DMC has provided three compounds **141–143**. After that, derivatives of DMC were tested for their biological activities.

The cytotoxicity against cancer cell lines (P-388, KB, HT29, MCF-7, A549, ASK and Hek293), chalcone **142** exhibited high cytotoxicity with ED₅₀ 2.06, 3.12, 3.56, 2.51, 3.28, 4.79 and 2.15 μ g/mL respectively, while compounds **138** and **139** were inactive. Compound **140**, containing benzopyran moiety, exhibited strong anti-HIV-1 RT activity in 93.40 % inhibition.

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนเหนือพื้นดิน หัวข้อวิทยานิพนธ์

Vernonia scandens และเมล็ค Cleistocalyx nervosum var. paniala

นายอนุรักษ์ ใชยลังกา ผู้เขียน

ปริญญา ปรัชญาคุษฎีบัณฑิต (เคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร. พุฒินันท์ มีเผ่าพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

> อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร. อภิวัฒน์ บารมี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร. นุชนิภา นันทะวงศ์

บทคัดย่อ

การศึกษาส่วนประกอบของสารจากธรรมชาติแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกศึกษา องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดชั้นไคคลอโรมีเทนจากส่วนเหนือพื้นดิน V. scandens พบว่า ประกอบด้วยสารที่เคยพบแล้ว 6 ชนิด ได้แก่ lupeol palmitate (134) lupeol acetate (135) eugenol (98) macelignan (136) β-sitosterol (137) และ stigmasterol (70) โดยโครงสร้างของ สารทั้งหมคสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และสมบัติทาง กายภาพ ตัวอย่างเช่น ¹H และ ¹³C NMR COSY DEPT HMQC HMBC mass spectrometry และ FTIR spectroscopy และทำการเปรียบเทียบกับผลศึกษาจากรายงานก่อนหน้านี้ สารประกอบ เหล่านี้มีการค้นพบและรายงานในพืชชนิดนี้เป็นครั้งแรก

ส่วนที่สองการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดขั้น ใคคลอ โรมีเทนจากเมล็คมะเกี๋ยง (C. nervosum var. paniala) จากการศึกษาพบว่าประกอบด้วยสารที่เคยพบแล้ว 2 ชนิด คือ 2',4'dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone หรือ DMC (128) เป็นสารองค์ประกอบรอง และ hariganetin (138) เป็นสารองค์ประกอบหลักตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารประกอบ 128 และ 138 เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยศึกษาผลการออกฤทธิ์เป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ต่อ AFB1 MeIQ และ AF-2 ในแบคทีเรีย Salmonella พบว่า DMC มีฤทธิ์การต้านที่ดีกว่า hariganetin ที่ความเข้มข้น 10 μ g/pl และยับยั้งได้ร้อยละ $100.0 \pm 5.4~99.5 \pm 0.3$ และ $56.8 \pm$ 22.0 ตามถำคับ

การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DMC สามารถทำได้ 3 วิธี คือ การรีฟลักซ์ DMC ในเมทานอล โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารประกอบ 139 โดยร้อยละ 70 สารประกอบ 140 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยารีดักชันของโซเดียมบอโรไฮไดรด์ โดยได้ร้อยละ 34 และสุดท้ายคือ ปฏิกิริยาเมทิลเลชันของ DMC ได้สารประกอบ 141–143 หลังจากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ทาง ชีวภาพ

ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (P-388 KB HT29 MCF-7 A549 ASK และ Hek293) พบว่าสารประกอบชาลโคล **142** ออกฤทธิ์ดีที่สุดด้วยค่า ED₅₀ 2.06 3.12 3.56 2.51 3.28 4.79 และ 2.15 μ g/mL ตามลำดับ ขณะที่สารประกอบ **138** และ **139** ไม่มีผลต่อเซลล์ใดๆ สารประกอบ **140** ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างเบนโซไพแรน แสดงฤทธิ์ที่ดีต่อการยับยั้งเซลล์ HIV-1 RT โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งถึง 93.40

