

การศึกษาหาปริมาณสารไกเทอร์ปินอยู่จากในพืชทั้งหลายโดย ที่เก็บแต่ละเดือน



นางสาว นันทกานยูจน์ มหาวิรawan

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา เอกลัชนาลัมภ์ สาขาวิชาพัฒนาชุมชน

ภาควิชาเอกลัชนาลัมภ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2533

ISBN 974-577-797-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016422

๑๐๓๐๘๒๔๑

DETERMINATION OF DITERPENOID CONTENTS IN THE LEAVES OF
Andrographis paniculata NEES COLLECTED MONTHLY

Miss. Nuntakan Mahaverawat

ศูนย์วิทยาพรพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Department of Pharmaceutical Chemistry
Graduate School
Chulalongkorn University

1990

ISBN 974-577-797-8

Thesis Title Determination of diterpenoid contents in the leaves of *Andrographis paniculata* Nees, collected monthly.

By Miss. Nuntakan Mahaverawat

Department Pharmaceutical Chemistry

Thesis Advisor Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.
Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth,
M.Sc. in pharm.



Accepted by the graduate school, Chulalongkorn University
in Partial Fullfillment of Requirement for the Master's Degree

Tharvorn Vajrabhaya Dean of Graduate School
(Professor Tharvorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee :

Sunibhond Pummangura Chairman

(Associate Professor Sunibhond Pummangura, Ph.D.)

Ekarin Saifah Member

(Associate Professor Ekarin Saifah, Ph.D.)

Suwanna Laungchonlathan Member

(Associate Professor Suwanna Laungchonlathan, M.Sc.in pharm.)

Chaiyo Chaichantipyuth Member

(Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, M.Sc.in pharm.)

Chamnan Patarapanich Member

(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)



ท่านผู้ดีนั้นจะบันทึกถ้อยวิจารณ์พิเศษในการอนุมัติเขียนนี้เพื่อยังคงไว้เดือนเดียว

มันพากอยู่จน มหาวิรรัตน์ : การศึกษาหาปริมาณสารไตรเทอร์ปีโนดจากใบพืชทางล副
ที่เก็บแต่ละเดือน (DETERMINATION OF DITERPENOID CONTENTS IN THE LEAVES
OF Andrographis paniculata NEES COLLECTED MONTHLY) อ.ที่ปรึกษา : พศ.ดร.
ช้านาณ ภัครพานิช, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ชัยโย ชัยชาญพิพุทธ, 117 หน้า. ISBN
974-577-797-8

วิธีทางไอยูเปอร์ฟอร์เมนซ์สิคิวต์โครม่าโโคกราที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถแยกและวิเคราะห์หาปริมาณของสารไคเทอเรปีโนบด์ในสารสกัดเมธานอลจากใบของต้นพืชทะลายใจไว้ โดยใช้คอกัมญ์ ศ-18 เป็นวัสดุภาคคงที่ และเมธานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 42:58 เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ จากการศึกษาหาปริมาณสารไคเทอเรปีโนบด์จากใบของต้นพืชทะลายใจที่เก็บแต่ละเดือนพบว่า ปริมาณ (%) โดยน้ำหนัก) ของสารไคเทอเรปีโนบด์มีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งปี กล่าวคือ พบสารที่ไอยูโรกราฟไฟล์ มีปริมาณมากที่สุด (7.30%) ในเดือนเมษายน และมีปริมาณน้อยที่สุด (0.61%) ในเดือนธันวาคม สารแอนโครกราฟไฟล์ มีปริมาณมากที่สุด (6.02%) ในเดือนพฤษจิกายน และมีปริมาณน้อยที่สุด (0.82%) โดยน้ำหนัก ในเดือนกุมภาพันธ์ สารนีโอดีแอนโครกราฟไฟล์ มีปริมาณมากที่สุด (2.02%) ในเดือนธันวาคม และมีปริมาณน้อยที่สุด (0.61%) ในเดือนเมษายน และสารที่ออกซีแอนโcroกราฟไฟล์-19 เบตา-ดี-กูโคลไซด์ มีปริมาณมากที่สุด (3.81%) ในเดือนมีนาคม และช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤษจิกายนมีปริมาณสารน้อยมากจนไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ภาควิชา ๑ เกสัช เศรษฐ
สาขาวิชา ๒ เกสัช เศรษฐ
ปีการศึกษา ๒๕๓๒

ลามนือชื่อนิดิต กานต์ ทิพย์
ลามนือชื่ออาจร้ายที่ปรึกษา พ. ดี

ຄາມນົກສອງອາຈານບໍ່ທີ່ປະຕິການຮ່ວມນັ້ນ ບວດ ດົມເຈັກພູກ

พิมพ์ด้วยน้ำเงินบนกระดาษขาว
วิทยานิพนธ์ภาษาไทยในกรอบเล่มนี้เป็นแผ่นเดียว

NUNTAKAN MAHAVERAWAT : DETERMINATION OF DITERPENOID CONTENTS IN THE LEAVES OF Andrographis paniculata NEES COLLECTED MONTHLY. THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSO.PROF. CHAIYO CHAICHANTIPUTH, M.Sc. in Pharm. 117 PP. ISBN 974-577-797-8

A high performance liquid chromatographic method has been developed for separating diterpenoid compounds in the methanolic extracts of leaves of Andrographis paniculata Nees, by using a C-18 column as stationary phase and methanol : water (42:58) as mobile phase. In order to obtain data on the diterpenoid contents variation through out a year, the contents (% w/w) of four diterpenes in the leaves of this plant collected monthly were determined. The results showed that, the highest content (7.30%) and the lowest content (0.61%) of dehydroandrographolide were in April and December. The highest content (6.02%) and the lowest content (0.82%) of andrographolide were in November and February. The highest content (2.02%) and the lowest content (0.61%) of neoandrographolide in December and April. The highest content (3.81%) of deoxyandrographolide-19 β -D glucoside in March and the lowest content which was too low to be detected was during in October to November.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาเคมี
สาขาวิชาเคมี
ปีการศึกษา..... 2532

ลายมือชื่อนักศึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



ACKNOWLEDGEMENTS

The auther wish to express her deepest sincere gratitude and appreciation to Assistant Professor Dr. Chamnan Patarapanich and Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, for their guidance, assistance, kindness and encouragement during the entire course of this study.

For the helpful advice in this research, I would like to express her thankful to Mr. Sutepe Vicrudtha a staff of the Faculty of Pharmaceutical Science, Department of Pharmaceutical Chemistry, KhonKaen University.

She would also like to recorded her grateful thanks to whom assisted in her research :

To the staff members of the Science and Technology Research Equipment Center, Chulalongkorn University, for their determining of spectral information.

To her friends, Mr. Boonchai Suwanpidokkul, Fit. Lerpong Thanakijcharoenpath, Mr. Prasan Tangyuenyongwatthana for their kindly helps.

To the staff member of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Chulalongkorn University, for their helps.

To her parents, for their loves, understanding and

encouragements.

Finally, to the Graduate School, Chulalongkorn University, for the partial financial support.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xii
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II HISTORICAL.....	8
1. The Occurrence of Chemical Compounds in <i>Andrographis paniculata</i> Nees.....	8
2. Chemistry.....	11
3. Pharmacological Activity.....	23
4. Toxicity.....	30
5. Analysis of Diterpene Lactone in <i>Andrographis paniculata</i>	33
III EXPERIMENTS.....	37
1. Source of Plant Materials.....	37
2. General Techniques.....	37
3. Isolation of Chemical Substance from the Leaves of <i>Andrographis paniculata</i>	41
4. Acetylation.....	43
5. Assay of Four Diterpene Lactone Contents in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> by HPLC.....	44
IV RESULT AND DISCUSSION.....	51

V CONCLUSION.....	61
REFERENCES.....	63
APPENDIXS.....	73
VITA.....	117

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Tables no.	page
1. The Occurrence of Chemical Compounds in <i>Andrographis paniculata</i> Nees.....	8
2. Effect of Various Extracts from <i>Andrographis paniculata</i>	31
3. Rf Value of Four Diterpenoid Compounds on Silica Gel 60 GF 254, The Detection was Iodine Vapour.....	74
4. Values of Peak Height and Peak Area versus Concentration of Dehydroandrographolide (C-2)....	75
5. Values of Peak Height and Peak Area versus Concentration of Andrographolide (C-3).....	76
6. Values of Peak Height and Peak Area versus Concentration of Neoandrographolide (C-4).....	77
7. Values of Peak Height and Peak Area versus Concentration of Deoxyandrographolide-19 β -D- -glucoside (C-5).....	78
8. Precision of Peak Height and Peak Area for Dehydroandrographolide (C-2).....	79
9. Precision of Peak Height and Peak Area for Andrographolide (C-3).....	80
10. Precision of Peak Height and Peak Area for Neoandrographolide (C-4).....	81
11. Precision of Peak Height and Peak Area for Deoxyandrographolide-19 β -D-glucoside (C-5).....	82

Tables no.	page
12. Contents of Dehydroandrographolide (C-2) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	83
13. Contents of Andrographolide (C-3) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	85
14. Contents of Neoandrographolide (C-4) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	87
15. Contents of Deoxyandrographolide-19 β -D-glucoside (C-5) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	89
16. Contents of Four Diterpenoid Compounds in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	91

LIST OF FIGURES

Figures no.		page
1. <i>Andrographis paniculata</i> Wall.ex Nees, Acanthaceae.....		2
2. Thin Layer Chromatogram of C-3, C-4, C-5 Compound and Their Authentic Samples in CHCl ₃ : MeOH (9:1).....		92
3. Ultraviolet Absorption Spectra of Dehydroandrographolide (C-2).....		93
4. Infrared Absorption Spectra of C-2 Compound.....		94
5. Mass Spectrum of Dehydroandrographolide (C-2).....		95
6. Thin Layer Chromatogram of AC-1 and AC-2 in Chloroform.....		96
7. Infrared Absorption Spectrum of Dehydroandrographolide and C-2 Compound.....		97
8. Ultraviolet Absorption Spectra of Andrographolide (C-3).....		98
9. Infrared Absorption Spectrum of Andrographolide and C-3 Compound.....		99
10. Mass Spectrum of Andrographolide (C-3).....		100
11. Ultraviolet Absorption Spectra of Neoandrographolide (C-4).....		101
12. Infrared Absorption Spectrum of Neoandrographolide and C-4 Compound.....		102
13. Ultraviolet Absorption Spectra of Deoxyandrographolide-19 β -D-glucoside (C-5).....		103

Figures no.	page
14. Infrared Absorption Spectrum of Deoxyandrographolide-19 β -D-glucoside and C-5 Compound.....	104
15. Heigh Pressure Liquid Chromatogram of Four Diterpenoids Standard.....	105
16. Heigh Pressure Liquid Chromatogram of Methanolic Extract from the leaves of <i>Andrographis</i> <i>paniculata</i>	106
17. Calibration Curve of Dehydroandrographolide (C-2).....	107
18. Calibration Curve of Andrographolide (C-3).....	108
19. Calibration Curve of Neoandrographolide (C-4).....	109
20. Calibration Curve of Deoxyandrographolide-19 β -D- -glucoside (C-5).....	110
21. Contents of Dehydroandrographolide (C-2) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	111
22. Contents of Andrographolide (C-3) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	112
23. Contents of Neoandrographolide (C-4) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	113
24. Contents of Deoxyandrographolide-19 β -D-glucoside (C-5) in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	114

Figures no.	page
25. Contents of Four Diterpenoid Compounds in the leaves of <i>Andrographis paniculata</i> , Sampling Monthly.....	115



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย