ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของส่วนประกอบทางเคมีจากเปลือกต้นเปล้าใหญ่ *Croton oblongifolius* Roxb. จาก อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

นางสาว บุญจิรา บุญทา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-347-013-1

CYTOTOXICITY OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM MUANG, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE

Miss. Boonjira Boontha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-347-013-1

Thesis Title	CYTOTOXICITY OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM MUANG, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE
BY	Miss. Boonjira Boontha
Field of Study	Chemistry
Thesis Advisor	Nattaya Ngamrojnavanich, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D.

.....

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's degree.

..... Dean of Faculty of Science

(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)

Thesis Committee

..... Chairman

(Associate Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Nattaya Ngamrojnavanich, Ph.D.)

..... Co-Advisor

(Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

..... Member

(Associate Professor Pipat Karntiang, Ph.D.)

..... Member

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

บุญจิรา บุญทา : ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของส่วนประกอบทางเคมีจากเปลือกต้นเปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius* Roxb.) จาก อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (CYTOTOXICITY OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM MUANG, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. อมร เพชรสม; 118 หน้า. ISBN 974-347-013-1

จากการสกัดเปลือกต้นเปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius* Roxb.) จากอำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน, เอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ และแยกสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีบนซิลิกาเจลได้สาร 6 ชนิด ได้แก่ Trachyloban-19-oic-acid (1) ซึ่งเป็นสารประกอบทราคิโลบาล, Poilaneic acid (2) ซึ่งเป็นสารประกอบเซมบรานอยด์, 12(E),14-labdadiene-7,8-diol (4), 6-acetoxy-12 (E),14-labdadiene-7,8-diol (5), 12(E),14-labdadiene-6,7,8-triol (6) ซึ่งเป็นสารประกอบแลปเดน และของผสมของสเตอรอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ Stigmasterol and β-sitosterol (3) และเป็นครั้งแรกที่พบสาร 1, 5 และ 6 ในต้นเปล้าใหญ่ และได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของสาร 4 โดยปฏิกิริยา acetylation ได้ 7-acetoxy-12,14-labdadiene-8-ol การหาสูตรโครงสร้างของสารต่างๆที่แยกได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและทางสเปกโตสโกปี และนำสารที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งซึ่งได้แก่ Hep-G2 (ตับ), SW 620 (ลำไส้), Chago (ปอด), Kato-3 (กระเพาะอาหาร) and BT 474 (เต้านม) พบว่าสาร 4 และสาร 6 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้ง 5 ชนิด สาร 5 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปานกลางกับมะเร็งชนิด Hep-G2, SW 620, Chago และ Kato-3 นอกจากนี้สาร 1 และ2 มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Hep-G2 และ SW 620 เพียงเล็กน้อย

ภาควิชา Chemistry	**ลายมือชื่อนิสิต** Boonjira Boonthai
สาขาวิชา Organic Chemistry	**ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา** นาตยา งามโรจนวณิชย์
ปีการศึกษา 2006	**ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม**

BOONJIRA BOONTHA: CYTOTOXICITY OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEM BARKS OF *Croton oblongifolius* Roxb. FROM MUANG, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE

THESIS ADVISOR: NATTAYA NGAMROJNAVANICH, Ph.D.

THESIS CO-ADVISOR: Associate Professor AMORN PETSOM, Ph.D.

118 pp. ISBN 974-347-013-1

The stem barks of *Croton oblongifolius* Roxb. were extracted with hexane, ethyl acetate and methanol, respectively. The extracts were separated by column chromatography on silica gel. Six compounds were isolated and identified, namely, Trachyloban-19-oic-acid (1) (trachylobane diterpenoid), Poilaneic acid (2) (cembrane diterpenoid), 12(E),14-labdadiene-7,8-diol (4), 6-acetoxy-12(E),14-labdadiene-7,8-diol (5), 12(E),14-labdadiene-6,7,8-triol (6) (labdane diterpenoid) and a mixed steroid of Stigmasterol and β-sitosterol(3). Moreover, this is the first report of compound 1, 5 and 6 from this plant. Compound 4a was obtained from the acetylation of compound 4, which was assigned as 7-acetoxy-12,14-labdadiene-8-ol. Their physical properties and spectroscopic data identified the structures of the isolate compounds. The compounds were tested for cytotoxicity against cancer cell lines: Hep-G2 (hepatoma), SW 620 (colon), Chago (lung), Kato-3 (gastric) and BT 474 (breast). Compound 4 and compound 6 showed strong activity against all cancer cell lines. Compound 5 and compound 4a showed moderate activity against Hep-G2, SW 620, Chago and Kato-3. However, compound 1 and compound 2 showed only weak activity against Hep-G2 and SW 620.

Department..... **Student's signature** .....

Field of study..... **Advisor's signature** Nattaya Ngamrojnavanich

Academic year..... **Co-advisor's signature** .....

ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to express her deepest appreciation to Dr. Nattaya Ngamrojnavanich, her major advisor and Associate Professor Dr. Amorn Petsom, her co-advisor for their invaluable suggestions, continuous guidance, encouragement and kindness throughout the course of the research work. She is grateful to Associate Professor Dr. Sophon Roengsumran for his generous guidance and serving as chairman of her thesis committee. Innumerable thanks are extended to Dr. Tirayut Vilaivan for his encouraging guidance during the research work. Grateful acknowledgements are made to Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth and Associate Professor Pipat Karntiang for serving as Examination Committee member and correction of her thesis. Thank were extend to Mrs. Songchan Phuthong, Institute of Biotechnology and Genetic Engineering for cytotoxicity test. She would like to thank the Promotion of Science and Technology (DPST) Project scholarship and Department of Chemistry, Faculty of science and the graduate school, Chulalongkorn University for the financial support during this work.

Finally, she would like to express her deepest gratitude to her parents for encouragement and invaluable advice in everything. In addition, she thanks all her friends, her sisters and her brothers for their friendship and help during her graduate study.

CONTENTS

Page

Page

Page

LIST OF TABLES

Page

Page

LIST OF FIGURES

Figure **Page**

Figure **Page**

Figure **Page**

ABBREVIATIONS

br s	=	Broad singlet (for NMR spectra)
c	=	Concentration
^{0}C	=	Degree Celcius
$CDCl_3$	=	Deuterated chloroform
$CHCl_3$	=	Chloroform
cm	=	Centimeter
^{13}C-NMR	=	Carbon-13 nuclear magnetic resonance
COSY	=	Correlated SpectroscopY
d	=	Doublet (for NMR spectra)
dd	=	Doublet of doublet (for NMR spectra)
ddd	=	Doublet of doublet of doublet (for NMR spectra)
DEPT	=	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	=	Dimethyl sulfoxide
δ	=	Chemical Shift
EI MS	=	Electron Impact Mass Spectrum
EtOAc	=	Ethyl acetate
g	=	Gram
^{1}H-NMR	=	Proton nuclear magnetic resonance
Hz	=	Hertz
HMBC	=	Heteromolecular Multiple Bond Correlation
HMQC	=	Heteromolecular Multiple Quantum Correlation
IR	=	Infrared spectrum
J	=	Coupling constant

kg	=	Kilogram
L	=	Litre
M^{+}	=	Molecular ion
mg	=	Milligram
MHz	=	Megahertz
ml	=	Millilitre
mm	=	Millimetre
m.p.	=	Melting point
MeOH	=	Methanol
M	=	Molar
m/z	=	Mass to charge ratio
M.W.	=	Molecular weight
MS	=	Mass spectrometry
No.	=	Number
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	=	Nuclear Overhauser Enhancement SpectroscopY
ppm	=	Part per million
q	=	Quartet (for NMR spectra)
s	=	Singlet (for NMR spectra)
t	=	Triplet (for NMR spectra)
TLC	=	Thin layer Chromatography
wt	=	Weight
R_f	=	Retention factor in chromatography