สารเคมีจากปะการังอ่อน *Cladiella tuberosa* Tixier-Durivault

นาย นิสิต พิศุทธานันท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเภสัชเวท
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2538

ISBN 974-632-990-1

CHEMICAL CONSTITUENTS FROM THE SOFT CORAL *CLADIELLA TUBEROSA* TIXIER-DURIVAULT

Mr. Nisit Pisutthanan

A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Sciences in Pharmacy
Department of Pharmacognosy
Graduate School
Chulalongkorn University
1995

ISBN 974-632-990-1

Thesis Title	Chemical Constituents from the Soft Coral *Cladiella tuberosa* Tixier-Durivault
By	Mr. Nisit Pisutthanan
Department	Pharmacognosy
Thesis Advisor	Mr. Khanit Suwanborirux, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Santi Thoongsuwan

..... Dean of Graduate School

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

Chaiyo Chaichantipyuth ..... Chairman

(Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, M.Sc.)

Khanit Suwanb ..... Thesis Advisor

(Mr. Khanit Suwanborirux, Ph.D.)

S. Amnuoypol ..... Member

(Associate Professor Surattana Amnuoypol, M.Sc.)

Rutt Suttisri ..... Member

(Mr. Rutt Suttisri, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

นิสิต พิศุทธานันท์ : สารเคมีจากปะการังอ่อน *Cladiella tuberosa* Tixier-Durivault (Chemical Constituents from the Soft Coral *Cladiella tuberosa* Tixier-Durivault) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. คณิต สุวรรณบริรักษ์, 171 หน้า. ISBN 974-632-990-1

จากการแยกสกัดสารควบคู่ไปกับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการใช้ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ฆ่าไรสีน้ำตาล ของสิ่งสกัดในชั้นไดคลอโรมีเธน จากปะการังอ่อน *Cladiella tuberosa* ทำให้สามารถแยกสารพวกยูนิซิลลินไดเทอปีน ได้ 4 ชนิด คือ สาร 3-deacetylpalmonin A ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ใหม่ที่ยังไม่มีการรายงานมาก่อน สาร deacetylcladiellin ซึ่งเป็นการค้นพบครั้งแรกในธรรมชาติ สาร sclerophytin A ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกที่พบในปะการังอ่อนสกุล *Cladiella* และ สาร (1*R*, 2*R*, 3*R*, 6*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-cladiell-7(19),11(20)-dien-3,6-diol การพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีและ relative stereochemistry ของสารทั้ง 4 ชนิดนี้ ทำโดยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี จาก IR, MS, ^{1}H และ ^{13}C NMR โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 1-D และ 2-D NMR ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลกับสารอื่นที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่สัมพันธ์กัน นอกจากนี้ยังพบว่า สาร deacetylcladiellin แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด คือ P-388 โดยมี IC_{50} 2 µg/ml HT-29, A-549 และ MEL-28 มี IC_{50} 5 µg/ml และมีฤทธิ์ฆ่าไรสีน้ำตาลโดยมี LD_{50} 0.6 µg/ml

ภาควิชา เภสัชเวท ลายมือชื่อนิสิต นิสิต พิศุทธานันท์

สาขาวิชา เภสัชเวท ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C675549 : MAJOR PHARMACOGNOSY
KEY WORD: *CLADIELLA TUBEROSA* / SOFT CORAL / CHEMICAL CONSTITUENTS BIOACTIVITY
NISIT PISUTTHANAN : CHEMICAL CONSTITUENTS FROM THE SOFT CORAL *CLADIELLA TUBEROSA* TIXIER-DURIVAULT. THESIS ADVISOR : Mr. KHANIT SUWANBORIRUX, Ph.D., 171 pp. ISBN 974-632-990-1

The bioassay-directed fractionation, using cytotoxic and brine shrimp lethality activities, of the dichloromethane extract from the soft coral *Cladiella tuberosa* led to the isolation of four eunicellin diterpenoids : 3-deacetylpalmonin A which is a new eunicellin derivative, deacetylcladiellin which is reported for the first time as naturally occuring, sclerophytin A which has never been found in soft corals of the genus *Cladiella*, and (1*R*, 2*R*, 3*R*, 6*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-cladiell-7(19), 11(20)-dien-3,6-diol. The structures and relative stereochemistry of the compounds were elucidated through extensive analyses of their ir, ms, ^{1}H and ^{13}C nmr spectral data, expecially 1D- and 2D-nmr, as well as comparison with known related compounds. Deacetylcladiellin showed cytotoxic activity against P-388 with IC_{50} value of 2 μg/ml, whereas for HT-29, A-549,and MEL-28 the IC_{50} was 5 μg/ml and also showed brine shrimp lethality activity with LD_{50} of 0.6 μg/ml.

ภาควิชา เภสัชเวท ลายมือชื่อนิสิต นิสิต พิสุทธานันท์

สาขาวิชา เภสัชเวท ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

Acknowledgements

I am deeply indebted to my thesis advisor, Dr. Khanit Suwanborirux of the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for his concern, encouragement, and valuable advice throughout my peroid of study.

I am very grateful to Associate Professor Chaiyo Chaichantipyuth, Associate Professor Surattana Amnuoypol, and Dr. Rutt Suttisri, the thesis committee, for the valuable suggestion and correctitude.

I would like to express my gratitude to Professor Piamsak Menasaveta, the Director of the Aquatic Resource Research Institute, Chulalongkorn University for his supporting in the sample collection.

I would like to express my thank to Dr. Jun-ichi Tanaka of the Department of Marine Sciences, University of Ryukyus for his assitance in the FABMS experiment. I also thank all NMR operators of the Scientific and Technological Research Equipment Center, Chulalongkorn University for their helpful assistance.

I would like to thank Dr. Lora Gracia Gravalos, Department of Screening, Pharma Mar, Spain for measurement of the cytotoxic activity.

I would like to thank the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology and the Graduate School of Chulalongkorn University for granting my partial financial support to conduct this research, and the University Development Commission (UDC) for a schlolarship throughout the two years of study.

Finally, I wish to express my infinite gratitude to my parents and Miss Sirintorn Mookayaprasert for their love, understanding, and encouragement.

CONTENTS

Page

LIST OF FIGURES

Figure **Page**

LIST OF SCHEMES

Scheme **Page**

LIST OF TABLES

Table **Page**

ABBREVIATIONS

br d	= Broad doublet
br s	= Broad singlet
br t	= Broad triplet
°C	= Degree celsius
^{13}C-NMR	= Carbon-13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	= Deuterated chloroform
CH_2Cl_2	= Dichloromethane
$CHCl_3$	= Chloroform
cm	= Centimeter
COSY	= Correlated spectroscopy
δ	= Chemical shift
1-D	= One dimensional
2-D	= Two dimensional
d	= Doublet
dd	= Doublet of doublets
ddd	= Doublet of doublet of doublets
dddd	= Doublet of doublet of doublet of doublets
DEPT	= Distortionless enhancement by polarization transfer
dq	= Doublet of quartets
dt	= Doublet of triplets
EIMS	= Electron impact mass spectrum
FABMS	= Fast atom bombardment mass spectrum
g	= Gram
^{1}H-NMR	= Proton nuclear magnetic resonance
HMBC	= ^{1}H-detected heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	= ^{1}H-detected heteronuclear multiple quantum coherence
HSQC	= ^{1}H-detected high sensitive quantum coherence
Hz	= Hertz

IC_{50}	=	50% Inhibition concentration
IR	=	Infrared
J	=	Coupling constant
kg	=	Kilogram
l	=	Liter
LD_{50}	=	50% Lethality dose
M^+	=	Molecular ion
MeOH	=	Methanol
MHz	=	Megahertz
μg	=	Microgram
mg	=	Milligram
ml	=	Milliliter
mm	=	Millimeter
MS	=	Mass spectrum
MTPA	=	α-Methoxy-α-trifluoromethyl-α-phenylacetic acid
ν_{max}	=	Wavenumber at maximum absorption
NA	=	Nutrient agar
NMR	=	Nuclear magnetic resonance
No.	=	Number
NOE	=	Nuclear Overhauser effect
NOEDS	=	Nuclear Overhauser effect difference spectrum
NOESY	=	Nuclear Overhauser effect correlated spectroscopy
ppm	=	Part per million
q	=	Quartet
s	=	Singlet
SCUBA	=	Self-contained underwater breathing apparatus
SDA	=	Sabouraud dextrose agar
sp.	=	Species
t	=	Triplet
TLC	=	Thin layer chromatography
TSA	=	Trypticase soy agar