องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของเอื้องทอง

นางสาวเกสินี ธนากรเมธา

ห้องสมุดคณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชเวท ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5576201233

CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOACTIVITIES OF *DENDROBIUM ELLIPSOPHYLLUM*

Miss Kasinee Tanagornmeatar

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmacognosy

Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

Thesis Title	CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOACTIVITIES OF *DENDROBIUM ELLIPSOPHYLLUM*
By	Miss Kasinee Tanagornmeatar
Field of Study	Pharmacognosy
Thesis Advisor	Associate Professor Boonchoo Sritularak, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Professor Kittisak Likhitwitayawuid, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of Pharmaceutical Sciences

(Assistant Professor Rungpetch Sakulbumrungsil, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman

(Associate Professor Surattana Amnuoypol, Ph.D.)

.....Thesis Advisor

(Associate Professor Boonchoo Sritularak, Ph.D.)

.....Thesis Co-Advisor

(Professor Kittisak Likhitwitayawuid, Ph.D.)

.....Examiner

(Assistant Professor Witchuda Thanakijcharoenpath, Ph.D.)

.....Examiner

(Assistant Professor Pithi Chanvorachote, Ph.D.)

.....External Examiner

(Chaisak Chansriniyom, Ph.D.)

เกสินี ธนากรเมธา : องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของเอื้องทอง. (CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOACTIVITIES OF *DENDROBIUM ELLIPSOPHYLLUM*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ภก. ดร.บุญชู ศรีตุลารักษ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ. ภก. ดร.กิตติศักดิ์ ลิขิตวิทยาวุฒิ, 176 หน้า.

วัตถุประสงค์การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดในชั้นเมทานอล รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของเอื้องทองทั้งต้น ซึ่งยังไม่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน สามารถแยกสารบริสุทธิ์ที่เคยมีรายงานมาก่อน 10 ชนิด ได้แก่ สารกลุ่มไบเบนซิล คือ moscatilin, 4,4′-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl และ 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl, กลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ (2S)-homoeriodictyol, (2S)-eriodictyol, chrysoeriol และ luteolin, กลุ่มไดไฮโดรฟีแนนทรีน คือ 4,5-dihydroxy-2,3-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene, กลุ่มโครโมน คือ 5,7-dihydroxy-chromen-4-one และกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ คือ phloretic acid ซึ่งสารทั้งหมดพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีโดยเทคนิคสเปกโตรสโคปี (UV, IR, MS, NMR) ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลที่เคยมีรายงานมาแล้ว จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl และ luteolin มีฤทธิ์ระดับปานกลางยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปาก KB (IC_{50} 61.93 และ 56.22 μM ตามลำดับ) ซึ่งมีชุดควบคุมผลบวก คือ ellipticine (IC_{50} 4.99 μM) และ doxorubicin (IC_{50} 2.19 μM) รวมทั้งในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 (IC_{50} 135.48 และ 68.01 μM ตามลำดับ) ซึ่งมีชุดควบคุมผลบวก คือ tamoxifen (IC_{50} 20.46 μM) และ doxorubicin (IC_{50} 26.29 μM) นอกจากนี้ 4,4′-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl, 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl, chrysoeriol และ luteolin ยังมีฤทธิ์ต้านการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งปอด H292 เกิดการตายของเซลล์มะเร็งแบบอะพอพโทซิส และกระตุ้นการเกิดอะนอยคิส โดย 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl (IC_{50} 96.56 μM) เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกระตุ้นการเกิดอะนอยคิสออกฤทธิ์เร็วที่สุดที่ 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1 และ 5 μM นอกจากนี้ 4,4′-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl ยังมีฤทธิ์ระดับอ่อนในการต้านไวรัสเริมชนิด HSV-1 และ HSV-2 (IC_{50} 313.61 ± 40.40 และ 334.56 ± 52.66 μM ตามลำดับ)

ภาควิชา เภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต เกสินี ธนากรเมธา

สาขาวิชา เภสัชเวท ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

5576201233 : MAJOR PHARMACOGNOSY
KEYWORDS: DENDROBIUM ELLIPSOPHYLLUM / CHEMICAL CONSTITUENTS / BIOACTIVITIES

KASINEE TANAGORNMEATAR: CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOACTIVITIES OF *DENDROBIUM ELLIPSOPHYLLUM*. ADVISOR: ASSOC. PROF. BOONCHOO SRITULARAK, Ph.D., CO-ADVISOR: PROF. KITTISAK LIKHITWITAYAWUID, Ph.D., 176 pp.

The objective of this study was to investigate the chemical constituents and biological activities of *Dendrobium ellipsophyllum*, a plant with no previous reports. The results led to the isolation of ten known compounds, consisting of three bibenzyls (moscatilin, 4,4′-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl, 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl), four flavonoids ((2*S*)-homoeriodictyol, (2*S*)-eriodictyol, chrysoeriol and luteolin), a dihydrophenanthrene, a chromone and a phenylpropanoids (4,5-dihydroxy-2,3-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene, 5,7-dihydroxy-chromen-4-one and phloretic acid, respectively). Their structures were determined by spectroscopic analysis (NMR, MS) and comparision with the previously reported data. The results from bioassays revealed that 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl and luteolin had moderate cytotoxic activity against KB oral cavity cancer cells (IC_{50} 61.93 and 56.22 μM, respectively), as compared with the positive controls ellipticine (IC_{50} 4.99 μM) and doxorubicin (IC_{50} 1.53 μM). The two compounds had cytotoxicity on MCF-7 breast cancer cells (IC_{50} 135.48 and 68.01 μM, respectively), in comparison with tamoxifen (IC_{50} 20.46 μM) and doxorubicin (IC_{50} 26.29 μM). 4,4′-Dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl, 4,5,4′-trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl, chrysoeriol and luteolin showed anti-metastatic activity on H292 lung cancer cells, displaying apoptosis induction and anoikis sensitizing activities. 4,5,4′-Trihydroxy-3,3′-dimethoxybibenzyl (IC_{50} 96.56 μM) possessed highest cytotoxic activity and the fastest action in sensitizing the cells to anoikis at the concentrations of 1 and 5 μM. Significant effects could be detected as early as 6 hours after exposure to the cells. Moreover, 4,4′-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl showed weak anti-herpes simplex virus activity against HSV-1 and HSV-2 with IC_{50} 313.61 ± 40.40 and 334.56 ± 52.66 μM, respectively.

Department:	Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany	Student's Signature Kasinee Tanagornmeatar
Field of Study:	Pharmacognosy	Advisor's Signature Boonchoo Sritularak
Academic Year:	2013	Co-Advisor's Signature K. Likhitwitayawuid

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like extend to thank my advisor Associate Professor Dr. Boonchoo Sritularak of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University who gave me knowledge, valuable advice, powerfulness, and resolving the problems, and my co-advisor Professor Dr. Kittisak Likhitwitayawuid of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University who gave helpful advice and constructive suggestions for this master thesis.

I am grateful to Assistant Professor Dr. Pithi Chanvorachote and Dr. Chatchai Chaotham of Department Pharmacology, Faculty Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for research facilities of anti-metastasis assay and kind assistance.

I would like to thank Associate Professor Dr. Vimolmas Lipipun of the Department of Microbiology, Faculty Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for the test results of anti-herpes simplex activity.

I am also grateful to my thesis examination committee for useful advice and critical review. I would like to thank for the Graduate School of Chulalongkorn University for granting partial financial support to conduct this investigation.

Finally, I wish to express my deepest gratitude to my teachers in the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Chulalongkorn University, and everyone who gave me truthful assistance in the preparation of this thesis.

CONTENTS

Page

Page

Page

Page

LIST OF TABLES

Page

LIST OF FIGURES

Page

LIST OF SCHEMES

Page

LIST OF ABBREVATIONS

Acetone-d_6	=	Deuterated acetone
α	=	Alpha
β	=	Beta
br s	=	Broad singlet (for NMR spectra)
°C	=	Degree Celsius
CC	=	Column chromatography
$CDCl_3$	=	Deuterated chloroform
CD_3OD	=	Deuterated methanol
cm	=	Centimeter
^{13}C NMR	=	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance
d	=	Doublet (for NMR spectra)
dd	=	Doublet of doublets (for NMR spectra)
δ	=	Chemical shift
2D-NMR	=	Two dimensional Nuclear Magnetic Resonance
DMSO-d_6	=	Deuterated dimethylsulfoxide
ESIMS	=	Electrospray Ionization Mass Spectrometry
EtOAc	=	Ethyl acetate
FCC	=	Flash Column Chromatography
g	=	Gram
GF	=	Gel Filtration Chromatography
Glc	=	Glucose
Hr	=	Hour
^1H-NMR	=	Proton Nuclear Magnetic Resonance
HR-ESI-MS	=	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry
HSV-1	=	Herpes Simplex Virus type 1
HSV-2	=	Herpes Simplex Virus type 2
Hz	=	Hertz
IC_{50}	=	Concentration exhibiting 50% inhibition
IR	=	Infrared spectrum

J	=	Coupling constant
Kg	=	Kilogram
λ_{max}	=	Wavelength at maximal absorption
ε	=	Molar absorptivity
$[M+H]^+$	=	Pseudomolecular ion
$[M+Na]^+$	=	Sodium-adduct molecular ion
m	=	Multiplet (for NMR spectra)
MeOH	=	Methanol
mg	=	Milligram
mL	=	Milliliter
µg	=	Microgram
µg/mL	=	Microgram per milliliter
µL	=	Microliter
µM	=	Micromolar
mm	=	Millimeter
MPLC	=	Medium Pressure Liquid Column Chromatography
MS	=	Mass spectrum
m/z	=	Mass to charge ratio
nm	=	Nanometer
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	=	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ppm	=	Part per million
Rha	=	Rhamnose
s	=	Singlet (for NMR spectra)
t	=	Triplet (for NMR spectra)
TLC	=	Thin Layer Chromatography
UV-VIS	=	Ultraviolet and Visible spectrophotometry
VLC	=	Vacuum Liquid Column Chromatography