Thesis Title Isolation of Some Bioactive Compounds from *Heliotropium indicum* Linn. and Asymmetric Synthesis of (+)-Castanospermine

Author Mr. Theeraphan Machan

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Boonsom Liawruangrath	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Saisunee Liawruangrath	Member
Dr. Apiwat Baramee	Member
Prof. Dr. Stephen Geoffrey Pyne	Member

ABSTRACT

Part I

The chemical composition of the volatile oil and the hexane extract of *Heliotropium indicum* Linn. were studied. The volatile oil from the aerial parts of *H. indicum* was isolated by hydrodistillation and analysed by a combination of gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The essential oil was obtained in 0.004 % yield as a light brown liquid. The major components of this volatile oil were phytol (49.1%), 1-dodecanol (6.4%), *β*-linalool (3.0%), 1-pentadecanol (2.6%), 1-hexanol (1.9%), 2-pentadecanone (1.7%), 1-tetradecanol (1.6%), *n*-heptacosane (1.6%), 1-decanol (1.2%), *n*-nonacosane(0.9%), *β*-ionone (0.6%) and borneol (0.4%).

In the preliminary chemical investigation of the hexane extract by direct insertion DI-MS, indicated the presence of at least eleven fatty acids were revealed based upon fragment-ion (EI mode) and molecular weight (CI mode) information. The analysis of the crude hexane extract and the identification of fatty acids were performed by conversion to their methyl esters followed by GC-FID and GC-MS

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

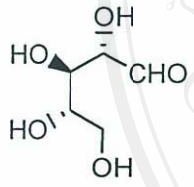
methods. Sixteen fatty acids were identified as their methyl esters. The percentage composition values were obtained from GC-FID integrator data and showed that the fatty acids comprise 95% of chromatographable components of the crude extract with 9,12-octadecadienoic acid (39.7%), 9-octadecenoic acid (32.4%), hexadecanoic acid (14.2%), octadecanoic acid (5.1%), eicosanoic acid (0.7%), hexacosanoic acid (0.6%), tetradecanoic acid (0.5%), docosanoic acid (0.5%), tetracosanoic acid (0.5%), and octacosanoic acid (0.4%) as the major components. During the mass-spectrometric analysis, 46 compounds were detected from the GC-MS total-ion current (TIC) profile of the methylated fatty acids. Twenty six of these compounds accounted for 90% of the TIC. The major components comprise 9,12-octadecadienoic acid (29.8%), 9-octadecenoic acid (16.3), hexadecanoic acid (16.1% and 1.5%), octadecanoic acid (9.2%), docosanoic acid (2.6%), eicosanoic acid (2.4%), octadecenoic acid (2.0%), tetracosanoic acid (1.5%), hexacosanoic acid (0.6%), octacosanoic acid (0.5%), tricosanoic acid (0.5%), tetradecanoic acid (0.3%), pentadecanoic acid (0.2%), pentacosanoic acid (0.2%), and nonadecanoic acid (0.2%), with a small amount of 6,4,10-trimethyl-2-pentadecanone (1.0%) and 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (0.3%), as well as a homologous series of *n*-alkanes present at trace level and ranging from C_{25} to C_{31}. The biological testing of the volatile oil and the hexane extract of *H. indicum* indicated that they had antituberculosis activity against *Mycrobacterium tuberculosis* H37Ra with a MIC of 20.8 μg/mL and 100 μg/mL, respectively.

Part II

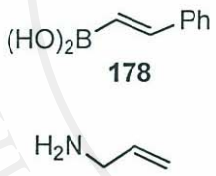
The success of our development of a new synthetic strategy for the preparation of (+)-castanospermine **1a** was achieved in eleven steps with 2.0% overall yield from the starting material, L-xylose. The first step was the Petasis reaction which combined the three components, L-xylose (**177**), *trans*-2-phenyl boronic acid (**178**) and allylamine (**179**), and gave the optically pure *β*-amino alcohol diene **176**. The desired oxazolidinone **180** was obtained by treatment of **176** with triphosgene. The three hydroxyl groups of **180** were subsequently protected by tritylation and then *O*-benzylation to afford **182** and **183**, respectively. The key step, the ring-closing metathesis (RCM) reaction of **183** generated the pyrrolo[1,2-*c*]oxazol-3-one **189**. *Syn*-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

dihydroxylation (DH) of **189** provided a separable mixture of **191a** and **191b** in a 83:17 ratio. A one pot reaction to form the cyclic sulfate **193** was performed by treatment of **191a** with thionyl chloride/triethylamine in dichloromethane solution followed by oxidation with sodium periodate/ruthenium trichloride trihydrate in a mixture of solvents carbon tetrachloride:acetonitrile:water. The diol **194** was afforded by opening the cyclic sulfate ring of **193** with sodium borohydride in dimethyl acetamide solution followed by acid hydrolysis. The basic hydrolysis of **194** under microwave conditions gave the pyrrolidine triol **195**. Mitsunobu cyclization of **195** was performed by treatment with diisopropyl azodicarboxylate/triphenylphosphene in tetrahydrofuran solution to obtain the indolizidine **199**. The final product, (+)-castanospermeine **1a**, was afforded by debenzylation of the indolizidine diol **199**.

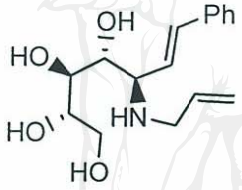


177

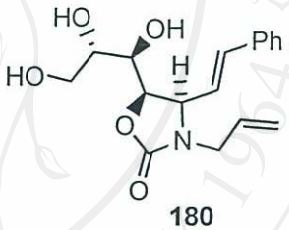


178

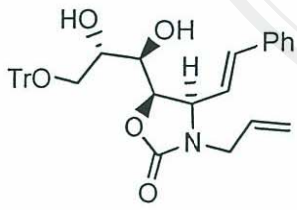
179



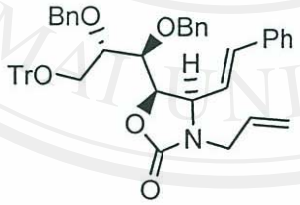
176



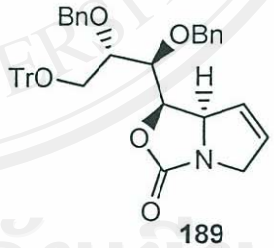
180



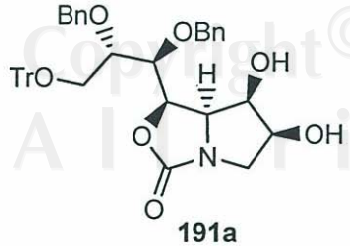
182



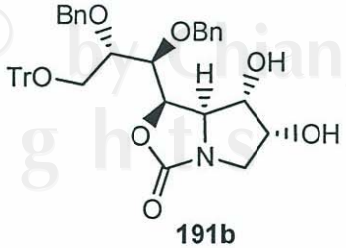
183



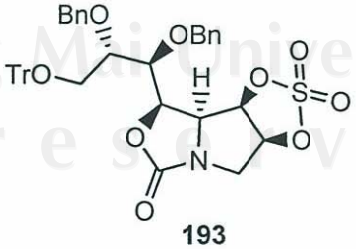
189



191a

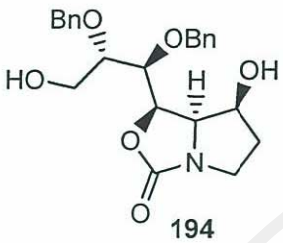


191b

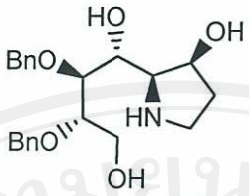


193

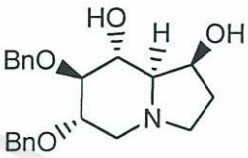
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



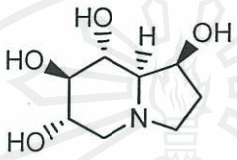
194



195



199



(+)-Castanospermine (1a)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแยกสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากหญ้างวงช้าง และการสังเคราะห์ (+)-คาสตาโนสเปอร์มีน แบบอสมมาตร

ผู้เขียน นายธีรพันธ์ มาจันทร์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. บุญสม เหลี่ยวเรืองรัตน์	ประธานกรรมการ
รศ.ดร. สายสุนีย์ เหลี่ยวเรืองรัตน์	กรรมการ
ดร. อภิวัฒน์ บารมี	กรรมการ
ศ.ดร. สตีเฟน จีออฟเฟรย์ ไพน์	กรรมการ

บทคัดย่อ

ส่วนที่ 1

เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดเฮกเซนจากส่วนเหนือดินของหญ้างวงช้าง จึงได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในส่วนสกัดดังกล่าว น้ำมันหอมระเหยของหญ้างวงช้างสกัดได้โดยใช้เทคนิคการกลั่นด้วยน้ำ และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชัน ดีเทคเตอร์(จีซี-เอฟไอดี) ร่วมกับเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี (จีซี-เอ็มเอส) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มีลักษณะเป็นของเหลว มีสีเหลืองอ่อน ปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 0.004% องค์ประกอบหลักที่วิเคราะห์ได้ประกอบด้วย ไฟทอล (49.1%) 1-โดเดคะนอล (6.4%) เบต้า-ลินาลูออล (3.0%) 1-เพนทะเดคะนอล (2.6%) 1-เฮกซะนอล (1.9%) 2-เพนทะเดคะโนน (1.7%) 1-เททระเดคะนอล (1.6%) เอ็น-เฮปทะโคเซน (1.6%), 1-เดคะนอล (1.2%), เอ็น-โนนะโคเซน (0.9%), เบต้า-ไอโอโนน (0.6%) และ บอร์นีออล (0.4%)

จากการศึกษาเบื้องต้นขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซนจากส่วนเหนือดินของหญ้างวงช้างด้วยวิธีวิเคราะห์ตรงด้วย แมสสเปกโทรเมตรี (ดีไอ-เอ็มเอส) ผลการวิเคราะห์นี้ยืนยันด้วย ข้อมูลจาก ไอออนที่แตกออก (อีไอ โมด) และ มวลโมเลกุล (ซีไอ โมด) พบว่าองค์ประกอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนใหญ่คือกรดไขมันอิสระ ซึ่งมีอย่างน้อย 11 ชนิด ดังนั้นการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระในสารสกัดเฮกเซนสามารถทำได้โดยการเปลี่ยนกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ให้เป็น เมธิล เอสเตอร์ของมัน แล้วจึงทำการวิเคราะห์ด้วย จีซี-เอฟไอดี และ จีซี-เอ็มเอส ผลการวิเคราะห์จาก จีซี-เอฟไอดี พบว่าปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมด เท่ากับ 95% ประกอบด้วย 9,12-ออกตะเดคะไดอีโนอิค แอซิด (39.7%) 9-ออกตะเดคีโนอิค แอซิด (32.4%) เฮกซะเดคะโนอิค แอซิด (14.2%) ออกตะเดคะโนอิค แอซิด (5.1%), ไอโคซะโนอิค แอซิด (0.7%) เฮกซะโคซะโนอิค แอซิด (0.6%) เททระเดคะโนอิค แอซิด (0.5%) โดโคซะโนอิค แอซิด (0.5%) เททระโคซะโนอิค แอซิด (0.5%) เฮกซะโคซะโนอิค แอซิด (0.4%) ผลจากการวิเคราะห์ด้วย จีซี-เอ็มเอส โททัล-ไอออน เคอร์เรนท์ (ทีไอซี) พบองค์ประกอบ 46 ชนิด องค์ประกอบ 26 ชนิดที่ถูกตรวจสอบได้พบว่ามีปริมาณรวมเท่ากับ 90 % องค์ประกอบหลักที่ตรวจพบโดยวิธีนี้ประกอบด้วย 9,12-ออกตะเดคะไดอีโนอิค แอซิด (29.8%) 9-ออกตะเดคีโนอิค แอซิด (16.3%) เฮกซะเดคะโนอิค แอซิด (16.1% และ 1.5%) ออกตะเดคะโนอิค แอซิด(9.2%) โดโคซะโนอิค แอซิด(2.6%) ไอโคซะโนอิค แอซิด (2.4%) ออกตะเดคีโนอิค แอซิด (2.0%) เททระโคซะโนอิค แอซิด (1.5%) เฮกซะโคซะโนอิค แอซิด (0.6%) ออกตะโคซะโนอิค แอซิด (0.5%) ไทร โคซะโนอิค แอซิด (0.5%) เททระเดคาโนอิค แอซิด (0.3%) เพนทะเดคะโนอิค แอซิด (0.2%), เพนทะโคซาโนอิค แอซิด (0.2%) โนนะเดคะโนอิค (0.2%) 6,4,10-ไทรเมธิล-2-เพนทะเดคะโนน (1.0%) 3,7,11,15-เททระเมธิล-2-เฮกซะเดซีน-1-ออล (0.3%) และ อนุกรม เอ็น-อัลเคนส์ C_{25}-C_{31} ปริมาณเล็กน้อย

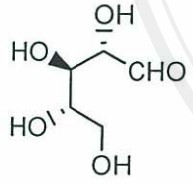
การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดเฮกเซนจากส่วนเหนือดินของหญ้างวงช้างพบว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค *Mycrobacterium tuberculosis* H37Ra ด้วยค่า MIC เท่ากับ 20.8 µg/mL และ 100 µg/mL ตามลำดับ

ส่วนที่ 2

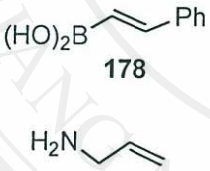
วิทยานิพนธ์นี้ได้แสดงความสำเร็จของการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ (+)-คาสตาโนสเปอร์มีน **1a** ด้วยขั้นตอนการสังเคราะห์ทั้งหมด 11 ขั้นตอน ปริมาณผลผลิตรวมเท่ากับ 2.0% จากสารตั้งต้น แอล-ไซโลส ขั้นตอนแรกของการสังเคราะห์ใช้ปฏิกิริยาพีตาซีส เพื่อรวมเอาสารประกอบ 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ แอล-ไซโลส (**177**) ทราน-2-ฟีนิล โบโรนิก แอซิด (**178**) และ แอลลิลเอมีน (**179**) เข้าด้วยกัน ได้สารที่มีความบริสุทธิ์เชิงแสง เบต้า-อะมิโน อัลกอฮอล์ ไดอีน **176** เป็นผลิตภัณฑ์สารประกอบ ออกซาโซลิดิโนน **180** เตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่าง **176** กับ ไทรฟอสจีน ทำการปกป้องหมู่ไฮดรอกซิลทั้งสามของ **180** โดยปฏิกิริยาไทรทิเลชัน และ โอ-เบนซิเลชันตามลำดับ ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

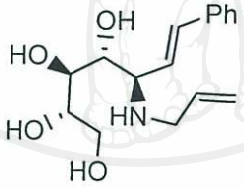
182 และ **183** เป็นผลิตภัณฑ์ ปฏิกิริยา ริง-โคลสซิง เมตาทิซิส (อาร์ซีเอ็ม) ของ **183** ได้ พิโรโล[1,2-*c*]ออกซาโซล-3-โอน **189** ปฏิกิริยา ซิน-ไดไฮดรอกซิเลชัน ของ **189** ได้ สารผสม 2 ชนิดที่สามารถแยกออกจากกันได้ คือ **191a** และ **191b** โดยมีอัตราส่วน 83:17 ไซคลิกซัลเฟต **193** เตรียมได้จากปฏิกิริยา ของ **191a** และ ไธโอนิล คลอไรด์/ไทรเอธิลเอมีน ในสารละลายของ ไดคลอโรมีเธน แล้วตามด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้ โซเดียม เปอร์ไอโอเดต/รูธีเนียมไทรคลอไรด์ ไทรไฮเดรต ในตัวทำละลายผสม คาร์บอนเททระคลอไรด์:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ สารไดออล **194** เตรียมได้จากปฏิกิริยาการเปิดวงไซคลิกซัลเฟตของ **193** ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ในสารละลายไดเมธิลอะเซทาไมด์ แล้วตามด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ด้วย กรด ไดออล **194** เมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสด้วยเบส ได้ พิโรลิดินไทรออล **195** เป็นผลิตภัณฑ์ ปฏิกิริยาการปิดวงแบบมิตซุโนบุของ **195** ด้วยการทำปฏิกิริยากับ ไดไอโซโพรพิล เอโซไดคาร์บอกซิเลต/ไทรฟีนิล ฟอสฟีน ในสารละลาย เททระไฮโดรฟูราน ได้ อินโดลิซิดีน **199** เป็นผลิตภัณฑ์ ปฏิกิริยา ดีเบนซิเลชันของ **199** ได้ (+)-คาสตาโนสเปอร์มีน **1a** เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย



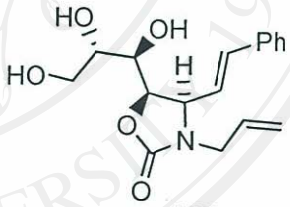
177



178 **179**

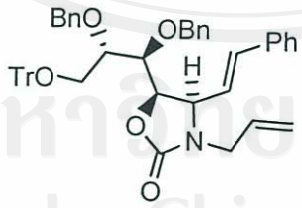


176

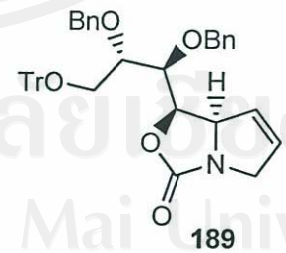


180

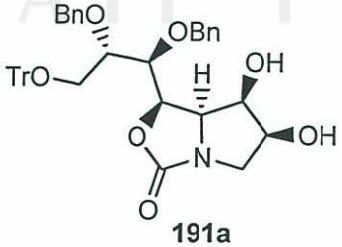
182



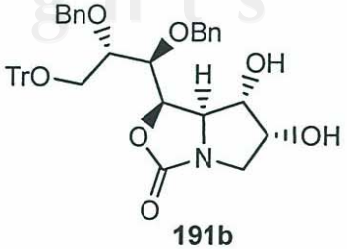
183



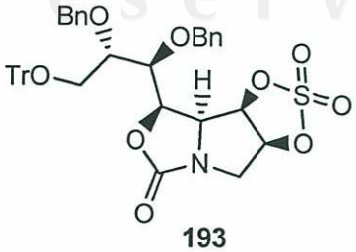
189



191a

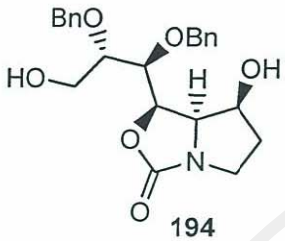


191b

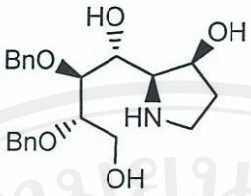


193

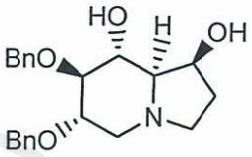
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



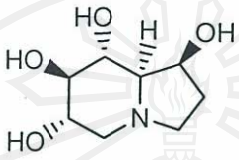
194



195



199



(+)-Castanospermine (1a)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved