

**Thesis Title** Isolation and Characterization of Brassinosteroids in Some Tropical Plants

**Author** Mr. Chalev Pachthong

**Degree** Doctor of Philosophy (Chemistry)

**Thesis Advisory Committee** Dr. Damrat Supyen CHAIRPERSON

Assoc. Prof. Dr. Duang Buddhasukh MEMBER

Assoc. Prof. Dr. Araya Jatisatienr MEMBER

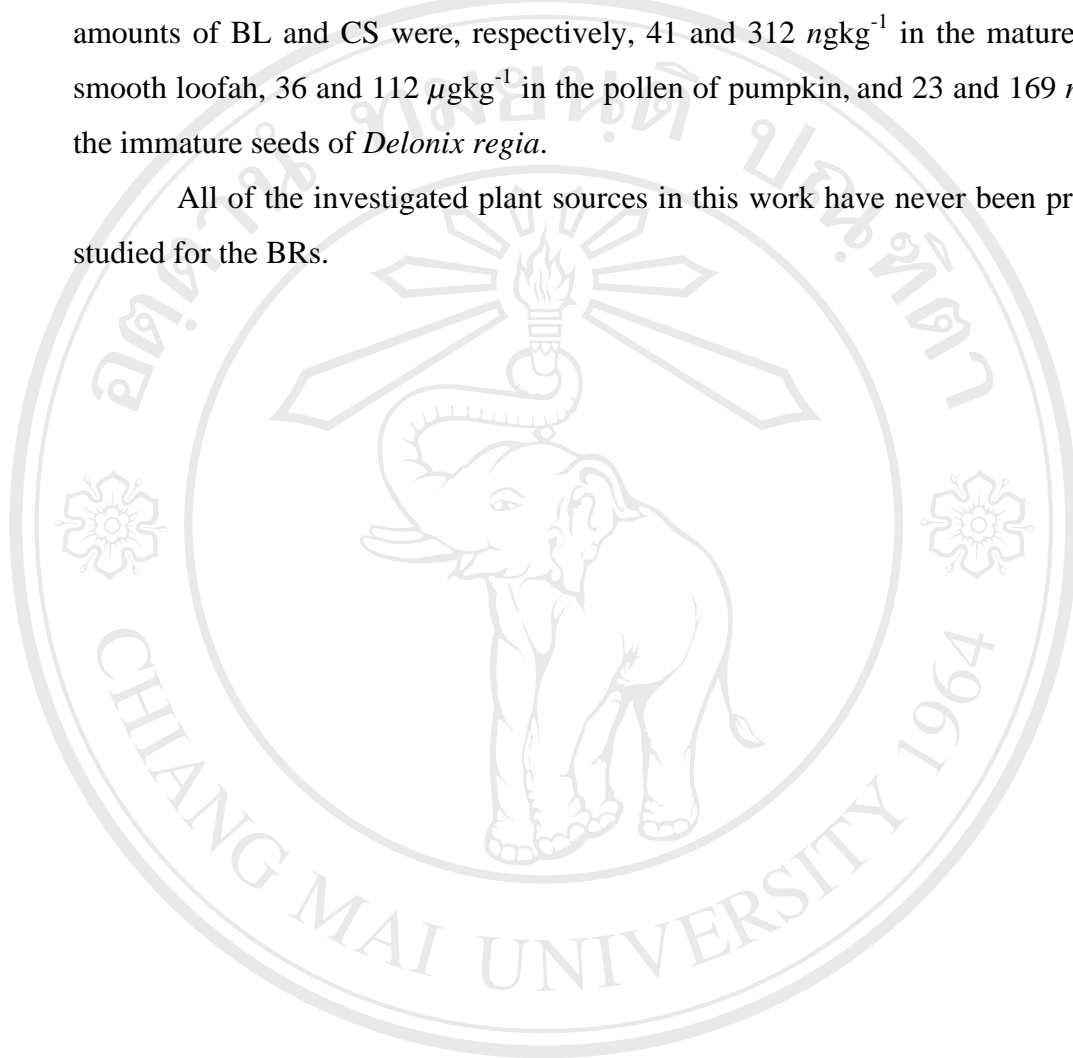
### ABSTRACT

In this research, brassinosteroids (BRs) a class of steroidal plant hormone were investigated. More than sixty species of tropical plants found in some parts of Thailand were examined for BRs. The bioassay of the BRs was performed using a modification of the standard method of rice lamina inclination by employing Thai rice cultivars in place of Japanese rice cultivars. Thai dwarf rice cultivar of RD 7 was very suitable for the quantitative analysis by the bioassay, since it was sensitive to the BRs and responded to its concentrations linearly in the range of 0.01-100  $ngmL^{-1}$ . This applied method using Thai dwarf rice cultivar has never been investigated before. The total BRs in the sixty species of tropical plants studied were quantitatively estimated to be in the range of below 0.01 up to 97.05  $ngkg^{-1}$  and 103.87  $\mu gkg^{-1}$  in the pollen of pumpkin.

However, BRs could be analyzed by gas liquid chromatography combined with mass spectrometry (GC-MS) by derivatizing them with methylboronic acid. The derived esters of vicinal hydroxyl groups in BRs and the acid (bismethaneboronate derivatives of the BRs; BMB) were analyzed by GC-MS. From the peak area of the GC chromatogram, the approximate amounts of the BRs as BMB were determined in partially purified extract of plant sources. This method was employed in the isolation and characterization of the BRs in three sources i.e. the mature seeds of smooth

loofah, the pollen of pumpkin and the immature seeds of *Delonix regia* were carried out. Brassionolide (BL) and castasterone (CS) were investigated. The approximate amounts of BL and CS were, respectively, 41 and 312  $\text{ngkg}^{-1}$  in the mature seed of smooth loofah, 36 and 112  $\mu\text{gkg}^{-1}$  in the pollen of pumpkin, and 23 and 169  $\text{ngkg}^{-1}$  in the immature seeds of *Delonix regia*.

All of the investigated plant sources in this work have never been previously studied for the BRs.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การคัดแยกและการหาลักษณะเฉพาะของบราสสิโนสเตียรอยด์ใน  
พืชเขตร้อนบางชนิด

**ผู้เขียน** นายเฉลียว เพชรทอง

**ปริญญา** วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต (เคมี)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** ดร.คำรัส ทรัพย์เย็น ประธานกรรมการ  
รองศาสตราจารย์ ดร.ด้วง พุทธศุภร์ กรรมการ  
รองศาสตราจารย์ ดร.อารยา จาติเสถียร กรรมการ

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสารบราสสิโนสเตียรอยด์ (BRs) ที่เป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารประเภทสเตียรอยด์ โดยได้ทำการทดสอบสารนี้ในพืชเขตร้อนที่พบในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทยมากกว่า 60 ชนิด ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบราสสิโนสเตียรอยด์ได้ใช้วิธีการมาตรฐานของการเกิด rice lamina inclination ที่ทำการดัดแปลงโดยใช้พันธุ์ข้าวของไทยทดแทนพันธุ์ข้าวของญี่ปุ่น ในการศึกษาพบว่าข้าวพันธุ์ กข 7 (RD 7) ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ต้นเตี้ยของไทย มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารบราสสิโนสเตียรอยด์ด้วยวิธีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพมาก เนื่องจากมีสภาพไว และสามารถตอบสนองต่อความเข้มข้นของสารบราสสิโนสเตียรอยด์ที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01-100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร การประยุกต์ใช้พันธุ์ข้าวต้นเตี้ยของไทยในวิธีการนี้ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ได้นำวิธีการดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณรวมโดยประมาณของสาร บราสสิโนสเตียรอยด์ในพืชเขตร้อนมากกว่า 60 ชนิด พบว่ามีปริมาณรวมอยู่ในช่วงต่ำกว่า 0.01 ถึง 97.05 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม และในละอองเกสรของดอกฟักทองมีประมาณ 103.87 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในการวิเคราะห์สารบราสสิโนสเตียรอยด์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีที่เชื่อมต่อกับแมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) สามารถทำได้ด้วยการเตรียมเป็นสารประกอบอนุพันธ์ โดยนำสารนั้นทำปฏิกิริยากับกรดเมทิลโบโรนิก จะได้สารประกอบเอสเทอร์ที่เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลชนิดวิชนัลของสารบราสสิโนสเตียรอยด์กับกรด (สารอนุพันธ์ที่เป็น

มีเทนโบโรเนตของสารบราสสิโนสเตียรอยด์, BMB) จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรีต่อไป ซึ่งพื้นที่ใต้พีคของโครมาโทแกรมที่ได้จากแก๊สโครมาโทกราฟี สามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารบราสสิโนสเตียรอยด์ที่ได้จากส่วนต่างๆของพืชจากการใช้วิธีดังกล่าวในการคัดแยก และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบราสสิโนสเตียรอยด์ในพืชจำนวนสามชนิด พบว่ามีปริมาณโดยประมาณของสารบราสสิโนไลด์(BL) และแคสตาสเทอโรน(CS) ในเมล็ดแก่ของบวบหอมเท่ากับ 41 และ 312 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม, ในละอองเกสรของดอกฟักทองเท่ากับ 36 และ 112 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และในเมล็ดอ่อนของหางนกยูงฝรั่งเท่ากับ 23 และ 169 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

โดยส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการศึกษาสารบราสสิโนสเตียรอยด์ในงานวิจัยครั้งนี้ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved