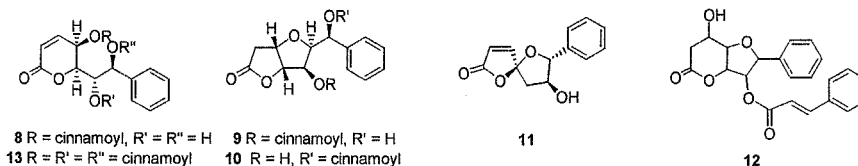


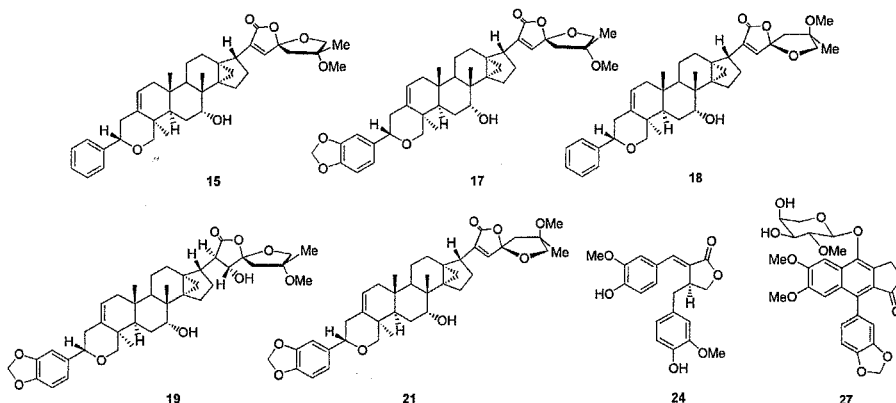
งานวิจัยในโครงการนี้ ได้มีการศึกษาพืช 2 สกุล ได้แก่ *Polyalthia* และ *Phyllanthus* กลุ่มวิจัยได้ทำการสกัดและทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และด้านเชื้อเอชไอวี-1 ในระดับที่เป็นสารสกัดหยาบ ส่วนแยกย่อย และสารบริสุทธิ์ กลุ่มวิจัยได้เลือกทำวิจัยทางเคมีในเชิงลึกของพืชใน 2 สกุลนี้ จำนวน 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Polyalthia crassa* *Phyllanthus acutissima* *Polyalthia glauca* *Polyalthia cinnamomea* และ *Polyalthia sclerophylla*

กลุ่มวิจัยสามารถแยกสารได้จากต้น *Polyalthia crassa* (วงศ์ Annonaceae) ทั้งหมด 12 เป็นสารใหม่ 5 สาร ได้แก่ crassalactones A-E (8-12) และสารที่มีผู้รายงานมาก่อนอีก 7 สาร พบว่าสารใหม่ 8, 9, 11 และ 13 ออกฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งในระดับดี แต่สาร 9, 10 รวมทั้งสาร known aristolactam และ goniopyrpyrone แสดงฤทธิ์ทางด้านเชื้อเอชไอวี-1 ในเกณฑ์ดีเช่นกัน ด้วยค่า selectivity index ประมาณ 2.1-5.1.



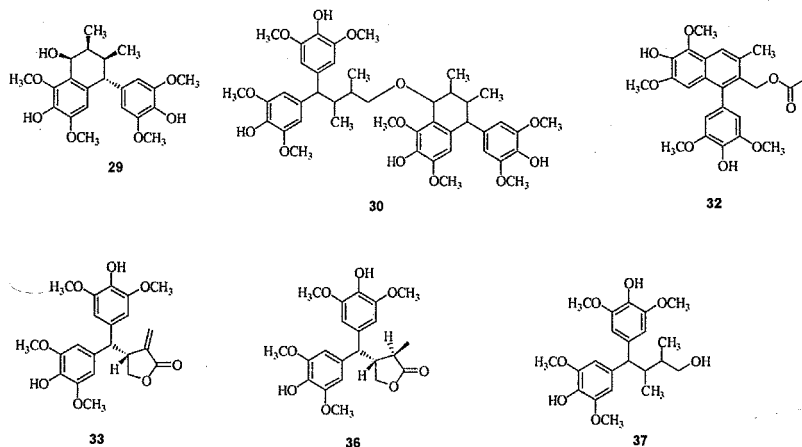
นักวิจัยได้วิเคราะห์โครงสร้าง โดยวิธีทาง spectroscopy, และ stereochemistry ของสาร 8-11 ได้ด้วยวิธี chemical conversion และ X-ray diffraction แต่ของสาร 12 ยังไม่สามารถพิสูจน์ stereochemistry ได้ ได้ทำการตัดแปลงโครงสร้างของสาร 8 เป็นสาร 13 เพื่อประโยชน์ในการศึกษา stereochemistry ของสาร 8

ส่วนการแยกสารจากต้น *Phyllanthus acutissima* ทำให้พบสารใหม่จำนวน 7 สาร ได้แก่ triterpenes 15, 17, 18, 19 และ 21 รวมทั้ง lignans 24 และ 27 นอกจากนี้ยังแยกได้สารที่มีผู้รายงานมาก่อนอีก 5 สาร และของผสมระหว่าง  $\beta$ -sitosterol/stigmasterol และ  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glucopyranoside/stigmasterol  $\beta$ -D-

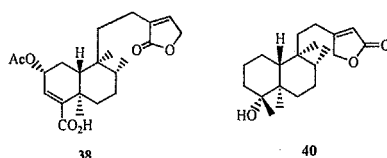


glucopyranoside พบว่าสาร 15, 17, 19 ออกฤทธิ์ด้านเซลล์มะเร็งในระดับดี ส่วนสาร 27 นั้นฤทธิ์อยู่ในระดับดีมาก ส่วนฤทธิ์ด้านเอชไอวี-1 นั้น มีอยู่หลายสารที่ออกฤทธิ์ ใน anti-synergy assay แต่ว่าสาร 19 จะให้ค่า selectivity index สูงสุด ( $IC_{50}$  31.6,  $EC_{50}$  <3.9 และ SI >8.1) สำหรับใน RT-assay ได้พบว่ามีสาร Taiwanin C ซึ่งเป็นสาร known มี % inhibition ที่ 200  $\mu$ g/mL สูงสุดคือเท่ากับ 88.2%

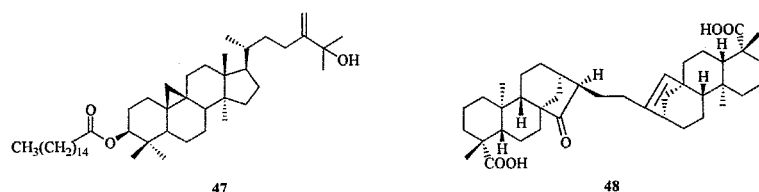
งานที่เกี่ยวข้องกับ *Polyalthia glauca* สามารถแยกสารใหม่ได้ 6 สาร สารใหม่ที่แยกได้ ได้แก่ สาร 29, 30, 32, 33, 36 และ 37 รวมกับสารที่มีผู้รายงานมาก่อนอีกหลายสาร แต่ยังไม่สามารถพิสูจน์ absolute configuration ของสาร 30 ได้ สาร 33 และสาร known 2,6-dimethoxybenzoquinone แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในระดับดี สาร 29 และสาร known 4-acetonyl-3,5-dimethoxy-*p*-quinol ออกฤทธิ์ต้านเชื้อเอชไอวี-1 ได้ (selectivity index 3.8 และ 1.9 ตามลำดับ)



งานที่เกี่ยวข้องกับ *Polyalthia cinnamomea* สามารถแยกสารใหม่ได้ 2 สาร ได้แก่ สาร 38 และ 40 รวมกับสารที่มีผู้รายงานมาก่อนอีก 2 สาร ปรากฏว่าสารทั้ง 4 ไม่แสดงฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเลย แต่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อเอชไอวีใน anti-synergy assay ด้วย selectivity index ในช่วง 2.0-3.3 สำหรับสาร 2 $\alpha$ -acetoxyhardwickii acid ที่เป็นสาร known นั้น พบว่าแสดงฤทธิ์ใน RT-assay ถึง 92.1% inhibition ที่ 200  $\mu\text{g/mL}$



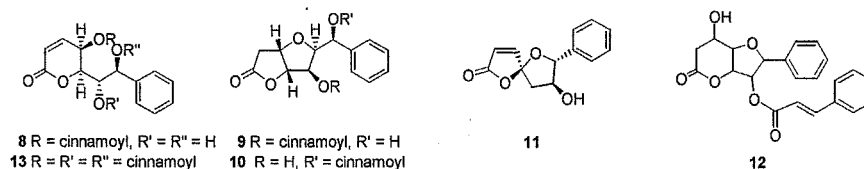
งานที่เกี่ยวข้องกับ *Polyalthia sclerophylla* สามารถแยกสารใหม่ได้ 2 สาร ได้แก่ สาร 47 และ 48 รวมกับสารที่มีผู้รายงานมาก่อนอีกหลายสาร สารส่วนใหญ่ไม่ค่อยแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีเพียง 15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid ที่เป็นสาร known แสดงฤทธิ์ต่อ P-388 cell line ด้วยค่า  $\text{ED}_{50}$  2.35  $\mu\text{g/mL}$  สารหลายตัวที่ known ออกฤทธิ์ใน anti-synergy assay แต่ 15 $\beta$ -acetoxy-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid (xylopic acid) ที่เป็นสาร known ออกฤทธิ์ดีที่สุดด้วยค่า  $\text{IC}_{50}$  189.1  $\mu\text{g/mL}$ ,  $\text{EC}_{50}$  30.8 mg/mL และ selectivity index = 6.1 ส่วนสาร known อีกตัวหนึ่งคือ *ent*-kaur-16-en-19-oic acid (*ent*-kaurenoic acid) ออกฤทธิ์ดีใน RT-assay (97.9% inhibition ที่ 200  $\mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  34.1  $\mu\text{g/mL}$ )



ด้วยการร่วมมือกับ รศ. ลักขณา หิมะคุณ จากภาควิชาพยาธิชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล จึงได้ทำการทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรม (genotoxic test) ของสารดัดแปลงคือ cleistanthoside A tetraacetate ซึ่งเตรียมจาก cleistanthoside A ที่แยกจากต้น *Phyllanthus taxodiifolius* (งานต่อยอดจากโครงการเก่า)

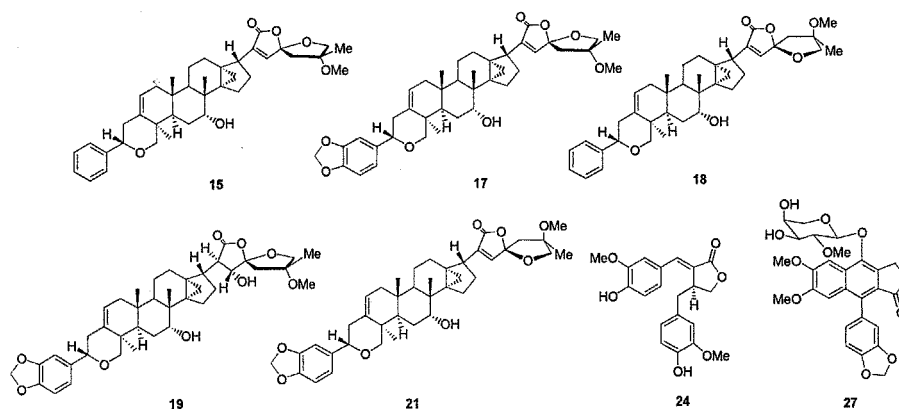
In this research project, several species of *Polyalthia* and *Phyllanthus* were investigated. The extracts, fractions and the pure isolated compounds from the plants of these two genera were evaluated for cytotoxic and anti-HIV-1 activities. Five species were selected for detailed studies, i. e. *Polyalthia crassa*, *Phyllanthus acutissima*, *Polyalthia glauca*, *Polyalthia cinnamomea* and *Polyalthia sclerophylla*.

Twelve compounds, including five new compounds crassalactone A-E (**8-12**) together with seven known compounds, were isolated in pure forms from *Polyalthia crassa* (family Annonaceae). The new compounds **8**, **9**, **11** and **13** exhibited significant cytotoxic activities against a panel of six mammalian cancer cell lines. Compounds **9**, **10** and the known aristolactam and goniopyrone showed anti-HIV-1 activities with selectivity index ranged from 2.1-5.1.



The chemical structures of all pure isolated compounds were determined by spectroscopic method and the stereochemistries of compounds **8-11** were confirmed by chemical conversion and X-ray diffraction. However, the stereochemistry of compound **12** has not been proved. Compound **13**, a modified compound, was prepared from **8** during the stereochemical study of **8**.

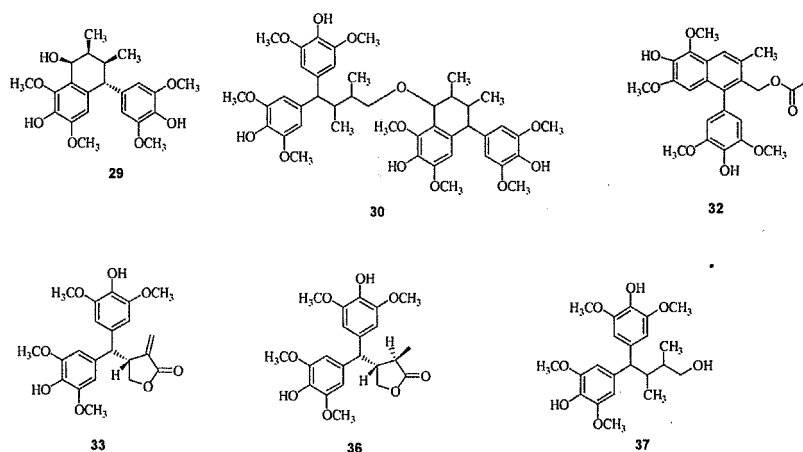
The investigation of *Phyllanthus acutissima* led to the isolation of seven new compounds, triterpenes **15**, **17**, **18**, **19** and **21**, together with lignans **24** and **27**. Apart from these new compounds, five known compounds, as well as the mixtures of  $\beta$ -sitosterol/stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glucopyranoside/stigmasterol  $\beta$ -D-glucopyranoside were also obtained from the same plants.



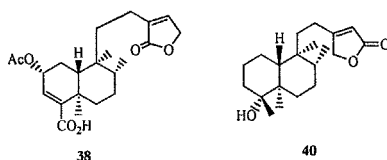
Compounds **15**, **17** and **19** showed significant cytotoxic activities against a panel of six mammalian cancer cell lines. Compound **27** exhibited potent cytotoxic activity. Many isolated compounds were found active in the anti-syncytium assay, but compound **19** provided highest selectivity index (SI >8.1,

IC<sub>50</sub> 31.6 and EC<sub>50</sub> <3.9). In the RT-assay, the known Taiwanin C was most active with 88.2 % inhibition at 200 µg/mL.

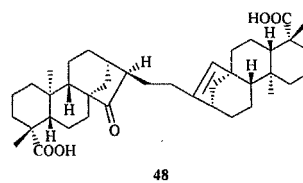
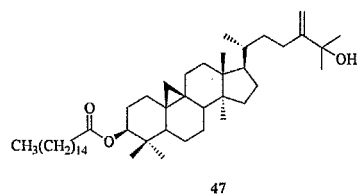
The isolation of *Polyalthia glauca* yielded six new compounds, **29**, **30**, **32**, **33**, **36** and **37** together with several known compounds. The absolute configuration of compound **30** has not been proved. Compound **33** and the known 2,6-dimethoxybenzoquinone showed significant cytotoxic activities against a panel of six mammalian cancer cell lines. Compound **29** and the known 4-acetonyl-3,5-dimethoxy-*p*-quinol were active against HIV-1 in the anti-syncytium assay with selectivity index 3.8 and 1.9, respectively.



Four compounds were isolated from *Polyalthia cinnamomea*. Two compounds (**38** and **40**) are new. All isolated compounds were found inactive in the cytotoxic testing against a panel of six mammalian cancer cell line. In case of anti-HIV-1 activity, all compound were active in the anti-syncytium assay with selectivity index in the range of 2.0-3.3, while only the known 2 $\alpha$ -acetoxyhardwickiic acid showed activity in the RT-assay (92.1% inhibition at 200 µg/mL).



The work on *Polyalthia sclerophylla* provided two new compounds, **47** and **48**, together with several known compounds. Most of the isolated compounds did not show cytotoxic activities, only the known 15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid exhibited the activity against P-388 cell line with ED<sub>50</sub> 2.35 µg/mL. Many known compounds were found active in the anti-syncytium assay, but 15 $\beta$ -acetoxy-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid (xylopic acid) showed highest activity (IC<sub>50</sub> 189.1 µg/mL, EC<sub>50</sub> 30.8 mg/mL and selectivity index = 6.1). Another known compound, *ent*-kaur-16-en-19-oic acid (*ent*-kaurenoic acid) was active in the RT-assay with 97.9% inhibition at 200 µg/mL, IC<sub>50</sub> 34.1 µg/mL.



In collaboration with Associate Professor Lakana Himakoun from Department of Pathobiology Mahidol university, the genotoxic study of a modified compound, cleistanthoside A tetraacetate (prepared from cleistanthoside A which was isolated from *Phyllanthus taxodiifolius*), was also performed.